

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**Aislamiento e identificación de flora microbiana contaminante de jugo de
tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)**

T E S I S

Por:

MARÍA ANGÉLICA LEÓN SÁNCHEZ

Presentada como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México.

Octubre del 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aislamiento e identificación de flora microbiana contaminante del jugo de
tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)

Por:

MARÍA ANGÉLICA LEÓN SÁNCHEZ

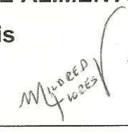
TESIS

Que se somete a consideración por H. Jurado Examinador Como Requisito
Parcial Para Obtener de Título de:

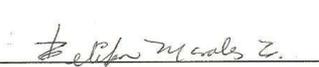
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

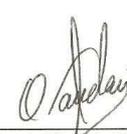
Aprobada por el comité de tesis


M.C. María Hernández González
Presidente


M.C. Mildred Flores Verastegui
Vocal


Lic. Laura Olivia Fuentes Lara
Vocal


M.C. Felipa Morales Luna
Vocal suplente


Ing. José Rodolfo Peña Oranday
Coordinador de la División de Ciencia Animal
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

OCTUBRE DEL 2010



COORDINACIÓN DE
CIENCIA ANIMAL

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme dado la oportunidad de ingresar a una Licenciatura y crecer como persona y salir adelante en la vida.

Al **Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, así como a todos los profesores que comprometidamente realizan su trabajo de formar a profesionistas.

A la **M.C. María Hernández González**, por haber dirigido este trabajo de investigación, por compartir sus conocimientos, tiempo y dedicación, pero sobre todo por actuar siempre con calidad en su profesión.

A la **M.C. Mildred Flores Verastegi** por haberme compartido sus conocimientos, su tiempo, dedicación y paciencia, y principalmente por haberme brindado su amistad.

A la **Lic. Laura Olivia Fuentes Lara**, por apoyarme para la realización de este trabajo de investigación, por brindarme su tiempo.

A la **M.C. Felipa Morales Luna**, por haber aceptado ser vocal en este trabajo de investigación.

A **mis amigos de la universidad**: Claus, Lidia, Arturo, Abel, Diego, Ale, Lupita, Memo y todos aquellos que considere más que compañeros. Los quiero, muchas gracias por su cariño y apoyo que siempre tuvieron conmigo. Los considero mi familia.

DECICATORIAS

A:

Dios

Por brindarme la oportunidad de terminar mi tesis, por permitirme estudiar y crecer a lo largo de mi estancia en la universidad, por brindarme todas las bendiciones que todos los días me da.

A mis padres:

Profra. Angélica Sánchez Castillo

Lic. Francisco Javier León Chama

Por apoyarme siempre lo largo de mi vida, por amarme incondicionalmente y estar presente en los momentos más importantes de mi vida, gracias por confiar en mí. Este trabajo es para ustedes.

A mi hermana:

Lic. Martha Eugenia León Sánchez

Por su amor, compañía y amistad, te amo hermanita.

A mi Esposo:

Lic. Benjamín Hernández González

El amor de mi vida, por su confianza y apoyo incondicional que siempre me ha demostrado, por permitirme recorrer la vida a su lado. Te amo.

A mi hijito:

Brunito Ernesto Hernández León

Por ser el milagro y regalo de Dios en nuestras vidas por que cada día es mas bello con su presencia.

A mi abuelita:

Sra. Catalina Castillo Gazca

Por su gran Fe, y amor para con todos sus seres queridos, por ser una mujer ejemplar. Te amo abuelita.

A mis tíos, primos y sobrinos:

Tíos: Lupita, Pepe, Chucho, Manolo. **Primos:** chucho (gordo), Caty, July, Vale, Conchita, Chuchito, Pepe, Manolo, Gloris, Cheche, Chaly, Carlitos, Betty, Arturo, Lupita. **Sobrinitos:** Mari jo, Diego, Nati, Pili y Miguelito.

Por su apoyo moral y cariño que siempre me han demostrado.

A la familia:

Hernández González

Por permitirme formar parte de su familia y quererme como una hija, a mis suegros: Don Beja y Doña Mode, a mis cuñadas: Claus, Chio, Eve y especialmente a Magito; a sus esposos: Jaime, Fer y especialmente a Porfis.

A la familia:

Carreón Pérez

Por su amistad y amor generoso que han demostrado a mi familia, gracias por las atenciones tan bellas que nos dieron, gracias al: Dr. Germán, Sra. Imelda, Sary, Paul.

A la familia:

Morales Tovar

Por su amistad, por todos los momentos que compartieron con nosotros y por considerarnos como su familia, gracias: Doña Estelita, Don Rubén, Memo, Blanquita y Carlos.

A la familia:

Del Bosque Villareal

Por ser mi familia, por su amistad, por su amor y por compartir su vida, los quiero mucho, gracias a: Don Peña, Licha, Arturo, Diego y Carlos.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos.....	3
1.1.1 Objetivo General.....	3
1.1.2 Objetivos específicos.....	3
1.2 Hipótesis.....	4
1.3 Justificación.....	5
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Descripción de la familia de la cactáceas.....	6
2.1.1 Descripción del genero <i>Opuntíae</i>	7
2.1.2 Producción de <i>Opuntia</i>	7
2.2 Descripción del genero <i>Opuntia streptacantha</i>.....	8
2.2.1 Composición fisicoquímica del fruto de tuna cardona <i>Opuntia streptacantha</i>	9
2.2.2 Distribución geográfica de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	10
2.2.3 Importancia de la producción de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	12
2.3 Usos de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	13
2.3.1 Fruta.....	13
2.3.2 Verdura.....	13
2.3.3 Forraje.....	13
2.4 Microorganismos corruptores de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	13
2.4.1 Descripción de los microorganismos fitopatógenos.....	14
2.4.1.1 <i>Fusarium spp.</i>	15
2.4.1.2 <i>Alternaria spp.</i>	15
2.4.1.3 <i>Cladosporium spp.</i>	15
2.4.1.4 <i>Ascochyta spp.</i>	16
2.5 Industrialización de tuna cardona (<i>Opuntia streptacantha</i>).....	17
2.5.1 Jugo de tuna.....	19
2.5.2 Jarabe.....	21

2.5.3 Mermelada.....	21
2.5.4 Melcocha.....	22
2.5.5 Queso de tuna.....	22
2.5.6 Miel de tuna.....	23
2.5.7 Pigmentos naturales.....	24
2.5.8 Bebidas Alcohólicas.....	24
2.5.8.1 Colonche.....	24
2.5.8.1.1 Descripción de la flora microbiana responsable de la fermentación del colonche.....	26
2.5.8.1.1.1 <i>Sacharomyces cereviseae</i>	26
2.5.8.1.1.1.1 Distribución.....	27
2.5.8.1.1.1.2 Sustrato.....	27
2.5.8.1.1.1.3 Importancia.....	27
2.5.8.1.1.2 <i>Candida colliculosa</i>	28
2.5.8.1.1.3 <i>Torulopsis</i>	28
2.5.8.1.1.4 <i>Candida valida</i>	28
2.5.8.1.1.5 Bacterias lácticas.....	28
2.5.8.1.1.5.1 <i>Pediococcus</i>	29
2.5.8.1.1.5.2 <i>Leuconostoc</i>	29
2.5.8.1.1.5.3 <i>Lactobacillus</i>	29
2.5.8.1.1.5.4 <i>Streptococcus</i>	30
2.5.8.1.1.6 <i>Aspergillus niger</i>	31
2.5.8.1.1.6.1 Sustrato.....	32
2.5.8.1.1.6.2 Distribución.....	32
2.5.8.1.1.6.3 Ruta metabólica de <i>Aspergillus niger</i>	32
2.5.8.1.1.6.4 Producción de ácido cítrico mediante <i>Aspergillus niger</i>	33
2.5.8.1.1.6.5 Importancia de producción de ácido cítrico.....	29
2.5.8.2 Aguardiente.....	34
2.5.8.3 Licor de tuna.....	34
2.6 Fermentación alcohólica.....	36
2.6.1 Controles de la fermentación.....	36
2.6.1.1 Valor de p"H".....	36
2.6.1.2 Fuentes de energía.....	36
2.6.1.3 Disponibilidad de oxígeno.....	37
2.6.1.4 Requerimientos de temperatura.....	37

3 MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1 ETAPA 1: Obtención y caracterización de la materia prima	38
3.1.1 Determinación de sólidos solubles totales.....	38
3.1.2 Determinación de potencial de hidrógeno.....	38
3.1.3 Obtención de rendimiento de tuna cardona (<i>Opuntia streptacantha</i>).....	38
3.2 ETAPA2: Fermentación espontánea de jugo de tuna cardona	39
3.2.1 Determinación de sólidos solubles totales de jugo fermentado.....	39
3.2.2 Determinación de ácido cítrico.....	39
3.2.3 Determinación de grado alcohólico.....	39
3.2.4 Determinación de potencial de hidrógeno.....	40
3.2.5 Pasteurización de jugo fermentado.....	40
3.3 ETAPA 3. Aislamiento e identificación de flora microbiana contaminante de Jugo de tuna cardona (<i>Opuntia streptacantha</i>)	40
3.4 ETAPA 4: Fermentación controlada	41
3.4.1 Chaptarización de jugo pasteurizado.....	41
3.4.2 Determinación de sólidos solubles totales.....	41
3.4.3 Determinación de incremento de grado alcohólico.....	41
3.4.4 Determinación de potencial de hidrógeno.....	42
3.4.5 Determinación de ácidos orgánicos.....	42
3.5 ETAPA 5: Caracterización del producto final	42
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 ETAPA 1: Obtención y caracterización de la materia prima	43
4.1.1 Determinación de sólidos solubles totales.....	43
4.1.2 Determinación de potencial de hidrógeno.....	43
4.1.3 Obtención de rendimiento de tuna cardona (<i>Opuntia streptacantha</i>).....	44
4.2 ETAPA2: Fermentación espontánea de jugo de tuna cardona	44
4.2.1 Determinación de sólidos solubles totales de jugo fermentado.....	44
4.2.3 Determinación de grado alcohólico.....	44
4.2.4 Determinación de potencial de hidrógeno.....	44
4.2.5 Pasteurización de jugo fermentado.....	45
4.3 ETAPA3: Aislamiento e identificación de flora microbiana contaminante de jugo de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>)	45
4.4 ETAPA 4: Fermentación controlada	45
4.4.1 Chaptarización de jugo pasteurizado.....	48

4.4.2 Determinación de sólidos solubles totales.....	49
4.4.3 Determinación de incremento de grado alcohólico.....	50
4.4.4 Determinación de potencial de hidrógeno.....	51
4.4.5 Determinación de ácidos orgánicos.....	52
4.5 ETAPA 5: Caracterización del producto final.....	53
4 CONCLUSIONES.....	54
5 LITERATURA CITADA.....	56
6 ANEXOS.....	62
6.1 Anexo 1. Resultados de consumo de azúcares durante la cinética de fermentación mediante t-Student ($P \leq 0.05$).....	62
6.2 Anexo 2. Resultados de medias de incremento de grado alcohólico por prueba t-Student ($P \leq 0.05$).....	63
6.3 Anexo 3. Resultados de comportamiento de potencial de hidrógeno por t-Student ($P \leq 0.05$).....	64
6.4 Anexo 4. Resultados de las medias de comportamiento de ácido málico por prueba t-Student ($P \leq 0.05$).....	65
6.5 Anexo 5. Resultados de comportamiento de ácido tartárico por t-Student ($P \leq 0.05$).....	66
6.6 Anexo 6. Resultados de comportamiento de ácido cítrico mediante t-Student ($P \leq 0.05$).....	67
6.7 Anexo 7. Técnica de microcultivo, Método de Pitt.....	68
6.8 Anexo 8. Preparación de Frotis y tinción, técnica descrita por Cortes (2001).....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales Estados de producción de tuna en el 2002.....	6
2	Análisis fisicoquímico de pulpa de tuna Cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	10
3	Principales microorganismos fitopatógenos.....	14
4	Determinación de azúcares en 100 ml del jugo de tuna (<i>O. streptacantha</i>).....	20
5	Análisis bromatológico de jugo de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	20
6	Análisis fisicoquímico de jarabe de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	21
7	Análisis Bromatológico de queso de tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	23
8	Resultados de análisis de caracterización la tuna cardona (<i>O. streptacantha</i>).....	43
9	Resultados en peso de rendimiento de cada porción de la tuna...	44
10	Resultados de análisis de jugo de tuna cardona.....	44
11	Análisis de jugo chaptarizado.....	48
12	Cinética de fermentación.....	49
13	Características de producto final.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Nopalera de <i>Opuntia streptacantha</i>	9
2	Esporas de <i>Sacharomyces sereviseae</i>	26
3	Conidióforo del genero <i>Aspergillus niger</i>	31
4	Ciclo de Krebs	33
5	Formula de fermentación alcohólica.....	35
6	<i>Aspegillus niger</i> : hifas, conidios y cabezuelas conidiales.....	46
7	<i>Aspegillus niger</i> : cabezas conidiales y conidios.....	46
8	<i>Aspergillus niger</i> : vesícula.....	47
9	<i>Sacharomyces cereviseae</i>	47
10	Esporas de <i>Sacharomyces cereviseae</i>	48
11	Grafica de comportamiento de azúcares.....	49
13	Grafica del incremento de grado alcohólico.....	50
14	Grafica del Comportamiento de p"H".....	52
15	Grafica de comportamiento de ácidos orgánicos.....	53
16	Técnica de microcultivo, por el método Pitt.....	68

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de tratar de reutilizar el jugo de tuna cardona (*O. streptacantha*) contaminado y considerado como pérdida, en una bebida fermentada apta para el consumo humano, así como aislar e identificar a la flora microbiana contaminante.

Se caracterizó el fruto *Opuntia streptacantha* llevando a cabo un análisis fisicoquímico, rendimientos y obtención de jugo de tuna, posterior a esto el jugo fermento espontáneamente, contaminado por flora microbiana.

Se aisló y caracterizó a los microorganismos que contaminaron el jugo de tuna, donde se obtuvo la presencia de *Aspergillus niger* y *Sacharomyces cerevisiae*, siendo este último microorganismo formador de la flora microbiana nativa causando la fermentación espontánea antes mencionada.

Se obtuvo un sistema fermentativo controlado a temperatura de 25 °C, agitación las primeras 24 horas con la finalidad de formar biomasa, posterior a esto se retiró la agitación, durante el proceso fermentativo se monitoreó azúcares y cuantificación de metabolitos por 168 horas. Posterior a la fermentación se realizó la caracterización del producto final.

PALABRAS CLAVE: *Opuntia streptacantha*, Fermentación, *Sacharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*.

INTRODUCCIÓN

En México se cultivan cerca de 45,000 hectáreas de nopal tunero, con más de 20,000 productores, concentrándose en los Estados de México, Zacatecas, San Luís Potosí, Hidalgo y Puebla (ASERCA, 1999) principalmente del área que comprende el desierto Chihuahuense en donde existen poblaciones importantes del fruto (*Opuntia streptacantha*) conocido como tuna cardona, la cual se encuentra dentro de su grupo *Albispinosae* quien además es la más importante.

Por tanto se considera un recurso importante de estabilidad económica y social para los habitantes del centro y norte del país. Sin embargo, se ha estimado que entre el 25% y el 80% de los frutos se pierden tras la recolección (Díaz, 2001) debido a un manejo y una manipulación defectuosa, además de otras causas.

Los principales factores que deterioran la evolución de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) tienen una grave repercusión en la producción total, reflejada en pérdidas. Estas repercusiones son debidas al deterioro que sufre la producción de la tuna, los principales factores son:

- Rápida descomposición causado por agentes bióticos y abióticos.
- No muy resistente al manejo.
- Rudimentaria industrialización de algunos productos como: mermeladas, queso, colonche, etc. quedándose sujeta a una fabricación casera y la cual ocupa una parte pequeña de total de tuna para su obtención.

Razón por la cual se llega a perder gran cantidad de esta fruta, considerada como inutilizada. Resulta por tanto indispensable abordar esta problemática dado que los lugares de producción de tuna cardona (*Opuntia*

streptacantha) son los pertenecientes a la zona central potosino-zacatecano, donde se siembra 38,000 Km cuadrados, de los cuales se explotan alrededor del 50% y el otro 50% se considera pérdida (Barrientos, 1965).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General

Identificar la flora microbiana contaminante instalada en el jugo de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*), así como los metabolitos producidos, para su posible tratamiento y aplicación en la industria alimentaria.

1.1.2 Específicos

- Aislar y caracterizar la flora microbiana contaminante de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*).
- Identificar y cuantificar los metabolitos producidos por la flora microbiana contaminante nativa de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*).
- Obtener y caracterizar una bebida a partir de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) en un estado primario de descomposición, aplicando un proceso fermentativo utilizando *Sacharomyces cerevisiae*.

1.2HIPÓTESIS

Es posible la obtención de una bebida alcohólica apta para el consumo humano, a partir de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) con un estado inicial de deterioro, previamente identificada la flora microbiana nativa y corruptora.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación tiene por objeto identificar y determinar los microorganismos causantes de la descomposición de la tuna cardona, así como los metabolitos, resultado del proceso fermentativo ejercido por la flora contaminante y su probable uso derivado del fruto *Opuntia streptacantha*.

Actualmente existen investigaciones realizadas por instituciones donde se localiza el cultivo de *Opuntia streptacantha* y otras fuera de este; estas investigaciones se dirigen principalmente a la industrialización de tuna cardona y la descripción de procesos productivos que se aplican para la transformación de la misma. (López, 2000).

En este mismo sentido esta investigación trata de exponer la reutilización de jugo de tuna que ha sido contaminada y es considerada pérdida, ya que hasta ahora por la falta de investigación no se ha podido llevar a cabo otro tipo de industrialización. (Díaz, 2001) Esto con el objetivo de llevarlo a un área de aplicación para la realización de nuevas bebidas fermentadas, y con ello un apoyo para los campesinos que cultivan este fruto, ya que menos de la mitad del total de la producción anual no se aprovecha (López, 1974).

2 REVISION DE LITERATURA

2.1 Descripción de la familia de las cactáceas

Las cactáceas son plantas perennes, suculentas, xerófitas, generalmente espinosas de los órganos llamados areolas: las espinas son variables en tamaño, forma, consistencia, color y disposición; presentan un fruto seco o jugoso con numerosas semillas, con jugo raramente lechoso y hojas ausentes. (Kearney y Puebles, 1951).

Crece en climas cálidos y templados o en terrenos secos y calizos, pero algunas de estas plantas llegan a crecer en ambientes húmedos, en terreno fértil o creciendo sobre los árboles (Blanco, 1999).

Su metabolismo fotosintético minimiza la pérdida del agua por transpiración que se realiza durante la noche, cuando el frío y la humedad les permiten abrir sus estomas. Por eso pueden conservar las sustancias nutritivas y evitar la deshidratación en periodos de sequía (Ramírez, 1992).

La familia de las cactáceas se subdivide entre tres subfamilias, las cuales son: *Pereskiae*, *Opuntiae* y *Cereae*.

La tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) pertenece a la subfamilia *Opuntiae*; dentro del grupo *Albisponosae*, siendo, además la más importante dentro de su grupo (Blanco, 1958).

2.1.1 Descripción del genero *Opuntiae*

Blanco (1958) argumenta que existen tres géneros en la subfamilia *Opuntiae*: *Periskiae*, *Opuntia* y *Nopalea*

El género *Opuntia* comprenden plantas bien definidas, que en caso del nopal pueden ser rastreros o frecuentes. Presentan espinas que por lo general son de dos tipos: gloquídos (pequeñas y agrupadas) y hojas modificadas (espinas grandes) (Granados y Castañeda, 2000).

El fruto del genero *Opuntia* es una baya polipérmica, carnosa, más o menos ovoide, desnuda o espinosa, normalmente es jugoso o comestible. Es un fruto de ciclo corto ya que su desarrollo es de aproximadamente 120 días a partir del amarre (Sosa, 1978). El fruto está formado de afuera hacia adentro por los siguientes tejidos: cortical, axial, carpelos, funículos y estructuras papilares. Estos dos últimos forman la pulpa y el fruto (López, 1974).

Existen trece variedades de tunas, de las cuales en México se localizan doce, entre ellos hay diez grupos que producen tunas comestibles, y que son: *Monocantae*, *Crinifare*, *Cilindraca*, *Clavatae*, *Pubescens*, *subinarmis* por ejemplo: *Opuntia robusta*, o tuna taponá; *Tunae*, *Cetispinae*, *albispinosae* por ejemplo: *Opuntia streptacantha* o tuna cardona; *Stenotalae* (Blanco, 1958).

2.1.2 Producción de *Opuntia*

De acuerdo con las estadísticas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), durante los últimos años los Estados que han participado en la producción nacional de tuna en el 2002 se muestran en el cuadro 1. Casi el 95% de la producción nacional la conforman cinco Estados.

Cuadro 1. Principales Estados de producción de tuna en el 2002

Entidades	Volumen: Ton	Porcentaje
Estado de México	147.735	42%
Zacatecas	92.203	26%
Puebla	41.672	12%
Hidalgo	33.141	8%
San Luis Potosí	22.136	6%

Fuente: Plan rector del sistema producto nopal tuna SIACOM (1982-2002).

2.2 Descripción de *Opuntia streptacantha*

Lemaire (1939) la describe como una planta ramificada y llega a medir hasta cinco metros de altura; sus cladodios son ovados u orbiculares, de veinticinco a treinta centímetros de largo y tienen un color verde oscuro; sus gloquídios son café rojizo, muy cortos; sus flores son de siete a nueve centímetros de ancho, amarillas o anaranjadas, los sépalos rojizos; sus filamentos son verdosos o rojizos; tiene de ocho a doce lóbulos en el estigma, siendo de color verde; su fruto es globular de cinco centímetros de diámetro y son de color rojo en ocasiones amarillento tanto por fuera como por dentro (Britton y Rose, 1937; López 1977). En la figura 1 se muestra la nopalera de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) perteneciente del Estado de Zacatecas. *Opuntia streptacantha* es un fruto de sabor agradable, utilizado en la elaboración de diferentes bebidas y preparaciones de dulcería, repostería y queso de tuna. Es una de las especies más económicas del Estado de Zacatecas, Durango, Aguascalientes y Querétaro, especialmente en San Luis Potosí (Lozano, 1958).



Figura 1. Nopalera de *Opuntia streptacantha*. Fuente: jardín mundial, (2003).

2.2.1 Composición fisicoquímica del fruto de tuna cardona (*O. streptacantha*)

La composición química de la tuna se encuentra influenciada por la época del año, zona productora, condiciones edafológicas, edad de la planta y cladodios de donde provienen los frutos; estos factores también determinan la época de cosecha y la calidad (Franco, 1997).

En el cuadro 2 se muestra el porcentaje en peso de los principales componentes fisicoquímicos de la pulpa de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*).

Cuadro 2. Análisis fisicoquímico de pulpa de tuna Cardona (*O. streptacantha*)

Componente.	Contenido (%)
Agua	90.0
Glucosa	6.0
Almidón y Dextrina	2.7
Proteína	1.0
Ceniza	0.3
Grasa	Trans.
Total	100 %

Fuente: Lozano (1958).

Como se puede observar en el cuadro 2, una mayor proporción de glucosa y proteínas en la pulpa comparándola con la corteza que solo contiene 0.15% y 0.35%, respectivamente (Lozano, 1958).

2.2.2 Distribución geográfica de tuna cardona (*O. streptacantha*)

El género *Opuntia* se encuentra distribuido desde la provincia de Alberta, en Canadá hasta la Patagonia, en Argentina; se les encuentra principalmente en las zonas desiertas del sur de Estados Unidos, de México y de América del Sur. En la altiplanicie mexicana, este género crece en los suelos pedregosos sujetos a temperaturas extremas y sequías prolongadas (Bravo, 1973; Flores y Aguirre, 1979).

En México, según Rzedowski (1959) del género *Opuntia*, se encuentra en las zonas áridas y semiáridas abarcando de 50% a 70% de su territorio.

Marroquín (1964) divide el territorio centro-norte del país en tres zonas nopaleras:

a) Zona nopalera Potosino-Zacatecano:

Con extensiones que incluyen partes territoriales de Aguascalientes, Jalisco, Durango y Guanajuato.

b) Zona nopalera del noreste de México:

Comprende la región norte de la planicie costera nororiental, es decir, norte de Tamaulipas y la parte nororiente de Nuevo León.

c) Zona Nopalera Difusa:

Es la región más amplia de las tres, aunque con menor densidad en individuos por hectárea, se extiende desde las partes calizas de San Luís Potosí, Zacatecas y Nuevo León hasta Coahuila y partes áridas de Durango y Chihuahua.

La zona de mayor concentración de nopal en nuestro país, la de mayor diversidad a nivel mundial y la más apta para su desarrollo, es la región comprendida por Zacatecas y San Luís Potosí. En la parte que corresponde al Estado de Zacatecas abarca unas 200 hectáreas de siembra. Comprende catorce municipios, sobre todo aquellos que se encuentran en el sureste del Estado y que manifiestan altos índices de marginación y migración (Gallegos, 1994).

Las especies productoras de fruto son principalmente: *Opuntia amyloea* (blanca), *O. megacantha* (amarilla), *O. streptacantha* (cardona), *O. ficus indica* (de castilla), *O. robusta* (tapón), *O. hiptiacantha* (memelo) *O. Camuesa* (camueso) en los Estados antes mencionados (Flores, 1979).

Barrientos (1965) considera que la *O. streptacantha* se localiza principalmente en la zona central Potosino-Zacatecana, delimitando un área de 38,000 Km. cuadrados de nopal cardón, de los cuales solo se explotan alrededor del 50% del total de la cosecha anual.

De acuerdo a los informes de Velásquez (1962) *O. streptacantha* concentra altas densidades en el municipio de Zaragoza, San Luis Potosí y al norte de la capital; al noreste de Bocas y sureste de Moctezuma. También *O. streptacantha* se encuentra con densidades de 200 a 600 individuos por hectárea, en las siguientes regiones: Municipio de Santa María del Río (límites de San Luis Potosí con Zacatecas), en los municipios de San Martín, Villa de Arriaga, Noria de los Ángeles, Ojo Caliente, Troncoso y Guadalupe, todos estos municipios pertenecientes al Estado de San Luis Potosí, esto para el año 1960.

Sin embargo, Granados y Castañeda (2000) mencionan que el matorral de *O. streptacantha*, en forma más o menos modificada, se extiende hacia el sur de la República Mexicana, a través de Guanajuato, Querétaro, e Hidalgo hasta llegar al Valle de México, además de desaparecer antes de los 24° de latitud.

2.2.3 Importancia de la producción de tuna cardona (*O. streptacantha*)

La gran superficie dedicada a la producción de tuna involucra a gran número de productores: 20,300, entre los cuales dominan ampliamente los productores ejidatarios, 17,863 y sólo 2,437 pequeños propietarios. Por lo tanto, la producción de nopal tunero en México ocupa un lugar significativo en la generación de empleos, ingresos, y divisas. Además, constituye un cultivo ideal para el uso alternativo de recursos no aptos para otras actividades, con un favorable impacto ecológico al conservar el suelo en áreas susceptibles de desertificación (Díaz, 2001).

La importancia social que se observa en la producción de nopal tunero del género *O. streptacantha* ha permitido que grupos marginados y de subsistencia obtengan empleo, se arraiguen en el campo, produzcan alimentos y generen ingresos para sus familias (Flores, 1993).

2.3 Usos de la tuna cardona (*O. streptacantha*)

El nopal cardón está considerado como la especie de mayor importancia en las regiones en las que se concentra, por tanto se utiliza de las siguientes maneras:

2.3.1 Fruta: la cual se consume en fresco. Tiene el problema de su rápida maduración, después del corte no resiste el empaque y traslado por lo cual se prefiere procesar en el campo en pequeñas agroindustrias conocidas como mieleras (López, 2000).

2.3.2 Verdura: utilizando los nopales tiernos cocinados ya que su demanda es muy alta por su sabor agradable (López, 2000).

2.3.3 Forraje: se utiliza principalmente en los pequeños establos lecheros y en los ranchos ganaderos como parte de la ración (Padilla, 2003).

2.4 Microorganismos fitopatógenos corruptores de tuna cardona (*O. streptacantha*)

La elevada perecibilidad de las tunas radica no en el metabolismo, sino en los daños fisiológicos, mecánicos causados durante la cosecha, el manejo posterior y daños patológicos (pudriciones fungosas) provocados en la zona pedúncular y en la epidermis (Corrales, 1998).

En el cuadro 3 se mencionan los diferentes microorganismos fitopatógenos corruptores del nopal cardón y el fruto.

Cuadro 3. Principales microorganismos fitopatógenos

Patógeno	Enfermedad
<i>Fusarium spp.</i>	Pudrición de la cicatriz del pedúnculo
<i>Alternaria spp.</i>	
<i>Cladosporium spp.</i>	Pudrición del cuerpo
<i>Ascochyta spp.</i>	

Fuente: Aragón, 1998; Ramírez (2006).

2.4.1 Descripción de los microorganismos fitopatógenos

Los microorganismos que dañan a *O. streptacantha*, son principalmente microorganismos de tipo Necrotrófico, que son hongos que matan las células del hospedante desde las epatas tempranas en el curso del parasitismo, por lo que viven y se alimentan como saprobios (a partir de tejidos muertos). El hospedante invadido por algún hongo puede ser o no completamente destruido dependiendo si la actividad del hongo es limitada en tiempo y espacio.

Las enfermedades son comúnmente pudriciones suaves de frutos y tubérculos aun adheridos a la planta o durante el manejo y almacenamiento posteriores a la cosecha (Ulloa y Herrera, 1990).

De entre los principales hongos corruptores se encuentran los siguientes:

2.4.1.1 *Fusarium spp.*

Características morfológicas

Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o esporoquios. Los microconidios son comúnmente unicelulares; elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos. Por lo general forman cabezuelas mucosas. Los conidióforos de micelio aéreo constan de una célula conidiogena y otros están ramificados o a veces en verticilos (Ulloa y Herrera, 1990).

Sustrato: crecen en casi todas las plantas superiores, granos, semillas y frutos.

2.4.1.2 *Alternaria spp*

Características morfológicas

Las esporas de color rojo oscuro con pico, obiclaviformes, aunque pueden ser notablemente polifórmicas, en cadenas, con pico, ramificado según la especie; los conidióforos son simples o ramificados, individuales o agrupados (Frazier, 1976).

Sustrato: deterioran frutos cítricos, principalmente.

2.4.1.3 *Cladosporium spp*

Características morfológicas

Conidióforos oscuros, ramificados cerca del ápice o parte media; conidios uní o bicelulares, de forma y tamaño variable, ovals o cilíndricos e irregulares; algunos típicamente en forma circular (Frazier, 1976).

Sustrato: plantas superiores, ocasionando manchas amarillas y pudriciones.

La temperatura y la humedad ejercen marcada influencia sobre la vida del hongo. Los conidios forman y desarrollan micelio cuando la humedad relativa es de 95% y la temperatura fluctúa entre los 4 y 32 °C (óptima de 19 a 21 °C).

Para el control de los microorganismos patógenos anteriormente mencionados que dañan la tuna cardona se recomienda el tratamiento de la semilla con agua caliente (50 °C por 25 minutos) o con asarón y ventilación adecuada (en invernadero) para evitar la humedad relativa y aspersion de fungicidas se utiliza Maneb, Captán, Dyrene y Daconil en las condiciones antes indicadas para la semilla.

2.4.1.4 *Ascochyta spp*

Características morfológicas

Picnidios oscuros, globosos y separados dentro del tejido hospedante tiene conidios hialinos bicelulares; son de forma ovoide.

Sustrato: crecen en plantas de diversas familias botánicas, como son: chícharo, frijol, haba, trébol, chile, berenjena, frutas, algodón, sorgo, maíz, varios pastos y crisantemo, causa pudriciones y manchas cafés.

Así como todos los hongos, también los del genero *Asochyta spp.* se ven favorecidos por la humedad y la alta temperatura, aunque en estados de extrema sequia sobreviven.

Control: siembra de semilla sana, selección de terreno con buen drenaje y caso extremo: rotación de cultivos por cuatro años o más. La destrucción de plantas enfermas y sus residuos ayudan a bajar la incidencia de la enfermedad (Romero, 1993).

2.5 Industrialización de tuna cardona (*O. streptacantha*)

Con la tuna se pueden elaborar una serie de diversos productos y subproductos que son diferenciados por sus características físicas y composición nutricional (Bravo, 1991).

El desarrollo de diversos productos derivados de la tuna roja es una alternativa que se encuentra en estudio (Sáenz, 1999).

En México no existe una industria procesadora de tuna. Los factores que han inhibido su desarrollo radican en buena medida en los problemas tecnológicos para la elaboración de néctares y jugos (en especial la eliminación de la semilla y la obtención de un producto homogéneo y estable) y en el escaso desarrollo del mercado para estos productos procesados (Díaz, 2001). En la actualidad se ha desarrollado a nivel de planta piloto, técnicas adecuadas para el aprovechamiento integral de la tuna cardona (*O. streptacantha*). Se aprovecha la cáscara y el jugo para obtener jugos, bebidas fermentadas, destiladas y jaleas que posteriormente se comercializan; la semilla también se ocupa para la obtención de aceite (Bravo, 1991).

Corrales y Flores (1998) clasifican los productos obtenidos del nopal y de la tuna del género *O. streptacantha* de acuerdo a su línea de producción. La clasificación es de la siguiente manera:

a) Productos de la industria extractiva y de la biotecnología

De la tuna se pueden obtener mucílagos, pectinas, celulosa, colorantes, aceite comestible de la semilla, y azúcares (glucosa y fructosa) que se pueden emplear para la producción de proteína unicelular, alcohol, aguardiente y jarabes fructosados (aditivos edulcorantes o espesantes) para la industria alimentaria (Corrales y Flores, 1998).

Para la obtención de mucílagos y pectinas se realiza una evaluación y optimización de algunos procesos de extracción de estas sustancias que pueden ser utilizadas como gelificantes y espesantes en la industria alimentaria. Sin embargo no existen empresas dedicadas a esta industria (López, 2000).

Entre las posibles fuentes de obtención de pigmentos rojos naturales se encuentra el betabel y los frutos de algunas especies de *Opuntia*, como son: "*O. streptacantha*", "*O. robusta*" y "*O. Ficus indica*". Referente a los aspectos técnico-científicos sobre la caracterización bioquímica y la optimización de los procesos de extracción de los pigmentos son referentes a su aplicación en algunos productos como: leche fermentada, gelatinas, leches pasteurizadas, confitería, bebidas en polvo, embutidos, panadería y productos farmacéuticos. (Corrales y Flores, 1998).

b) Productos de la industria alimentaria tradicional y tecnificada

El producto tradicional más importante y representativo es el queso de tuna, el cual se elabora con la tuna cardona (*O. streptacantha*) y la melcocha que se obtiene mediante la concentración de la pulpa y jugo de tuna (Díaz, 2001).

La demanda de los productos procesados de tuna es fundamentalmente local y regional y se manifiesta en los mercados tradicionales y folclóricos. No se trata de una demanda creciente ya que para algunos de estos productos es difícil establecer un mercado potencial por falta de conocimiento en la población (Flores, 1993).

Los productos que se obtienen y se comercializan de la tuna *O. streptacantha* son los que se mencionan a continuación:

2.5.1 Jugo de tuna

El jugo de tuna solo se preparaba en ciertos lugares para el consumo familiar, pero en años recientes, a partir del desarrollo de la tecnología para el aprovechamiento integral de la tuna, ya es posible envasarlo en latas para su comercialización (Bravo, 1991).

El jugo es el producto que queda al eliminar de la tuna su cáscara, semilla y pulpa. Se consume como tal en forma doméstica o bien luego de ser sometido a un tratamiento agroindustrial; debido a la rápida fermentación causada por la baja acidez y alto contenido de azúcares. Para evitar el deterioro se proporciona tratamiento térmico a 70° C con el propósito de desactivar levaduras y enzimas que forman parte de la flora nativa (Legaspi, 2005).

Aragón (1964) analizó químicamente el producto y encontró que el jugo de tuna cardona (*O. streptacantha*) contiene mayor cantidad de pectina permitiendo gran viscosidad; vitamina C, sólidos totales y carotenoides siendo los compuestos con mayor porcentaje de composición.

El jugo de tuna tiene un sabor fresco y agradable ya que es rico en azúcares (Bravo, 1991) de los cuales la mayoría están constituidos por glucosa y fructuosa.

En el cuadro 4 se muestran los datos proporcionados por los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial de determinación de azúcares del jugo de tuna *O. streptacantha*

Cuadro 4. Determinación de azúcares en 100 ml del jugo de tuna (*O. streptacantha*)

Azúcares	Contenido
Fructosa	5.68
Glucosa	6.03
Maltosa	0.11
Sacarosa	0.14
Azúcares superiores	0.00
Total	11.96

Fuente: Bravo (1991).

En el cuadro 5 se presenta un Análisis bromatológico realizado al jugo de tuna cardona (*O. streptacantha*)

Cuadro 5. Análisis bromatológico de jugo de tuna cardona (*O. streptacantha*)

Nutriente	Contenido (porcentaje de base humedad)
Humedad	88 %
Proteína	0.7 %
Fibra cruda	0.0 %
Cenizas	0.4 %
Extracto libre de nitrógeno	10.9 %
Tiamina	0.04 mg/100g
Riboflavina	0.03 mg/100g
Acido ascórbico	20.0 mg/100g
Niacina	0.21 mg/100g
Fosforo	20.55 mg/100g
Hierro	0.42 mg/100g
Calcio	18.0 mg/100g

Fuente: Granados (1991); Zamarrón (1999).

2.5.2 Jarabe

El jarabe es un producto nuevo obtenido de la tuna que se recomienda para la fabricación de néctares y mermeladas. Los jarabes de tuna se elaboran con una solución concentrada de sacarosa, preparada en frío o en caliente con zumo de la misma (Granados ,1997).

El proceso de elaboración consiste en mezclar el jarabe con jugo concentrado caliente hasta lograr concentraciones de más de 50 grados Brix. Legaspi (2005) para su estudio realizó un análisis fisicoquímico del jarabe, obteniendo los siguientes resultados mostrados en el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis fisicoquímico de jarabe de tuna cardona (*O. streptacantha*)

Componente	Base de humedad (%)
Azúcares reductores totales	58.00
Fibra cruda	2.60
Acidez (ácido cítrico)	0.28
p"H"	3.70
Brix	63.00
Humedad	37.00

Fuente: Legaspi (2005).

2.5.3 Mermelada

Sáenz (1999) argumenta que la preparación de mermeladas es otro medio para preservar la fruta, con un método antiguo pero seguro, ya que solamente el 40% de la tuna se comercializa; una opción de elaboración de productos de humedad intermedia tipo mermelada, aumentará su vida de anaquel (Higareda, 1994).

Se han elaborado mermeladas con semilla y sin semilla, presentando ambas buenas características organolépticas. A un año de mantener los productos almacenados, estos conservaron su calidad inicial y no presentaron problemas de cristalización, no obstante la mermelada sin semilla tuvo más preferencia por su aspecto (Santos, 2005).

2.5.4 Melcocha

La melcocha o mermelada rústica de tuna cardona es un producto de consistencia muy viscosa que se asemeja a la cajeta siendo de color café claro u oscuro, suele contener pequeñas semillas propias del fruto. Su tiempo de conservación es de aproximadamente dos años (Legaspi, 2005).

La melcocha se obtiene después de exprimir la pulpa de tuna que ha alcanzado su completa madurez, separándosela de la semilla. La pulpa que se obtiene se introduce en un cazo de cobre a fuego directo para concentrarse, agitando constante y lentamente con palas de madera. Se detecta el punto de melcocha a partir de que se logra una consistencia más espesa, entonces se retira del fuego, dejándose enfriar de 12 a 15 horas (Lozano, 1958).

Al enfriarse la pulpa queda convertida en melcocha, teniendo un contenido de humedad de 26% (Bravo, 1991).

2.5.5 Queso de tuna

Se trata de un gel de fruta de color café claro u oscuro, de consistencia firme, cuya presentación comercial es en formas rectangulares o cilíndricas (Díaz, 2001).

La pasta espesa y bien batida (melcocha fría) debe enfriarse rápidamente arrojándola con fuerza sobre una piedra o sobre una tabla de madera, ambas lisas y humedecidas con agua. Esta operación se debe repetir de 150 a 200 veces hasta que al levantarse a la pasta no quede adherida a la piedra. Durante el masajeado pierde humedad. Posteriormente la pasta se coloca en moldes rectangulares de madera humedecidos en los que permanece durante varias horas (de 12 a 15 horas) después el producto se envuelve y se conserva en papel especial. (Granados S, 1991; Zamarrón, 1999).

En el cuadro 7 se muestra el análisis bromatológico de queso de tuna cardona reportando su contenido en porcentaje de base de humedad.

Cuadro 7. Análisis Bromatológico de queso de tuna cardona (*O. streptacantha*)

Análisis	Contenido (%)
Agua	11.29
Grasa	0.23
Glucosa	73.53
Albuminoides	5.25
Cenizas	1.53
Gomas	2.49
Celulosa y otros materiales	5.68

Fuente: Lozano (1958).

2.5.6 Miel de tuna

Tradicionalmente este producto se obtiene de la ebullición de la pulpa de tunas desprovistas de su semilla. Hirviendo hasta que se obtenga la consistencia parecida a la de miel de abeja (Bravo, 1991) posteriormente la pulpa se coloca en cazos de barro o cobre y se pone a fuego lento, con mucho cuidado se cambia la miel a un recipiente provincial donde se continua evaporando. Constantemente se agregan mas tunas al cazo,

apartando la pulpa y semillas que se acumulan (Granados, 1991; Zamarrón, 1999) el proceso continúa hasta que las tunas y el jugo del caso se agotan. Cuando la miel alcanza cierto grado de evaporación se retira del fuego y se vierte en recipientes (Granados, 1991) de cierre hermético para evitar la cristalización de los azúcares como consecuencia de la evaporación de la humedad (Bravo, 1991). Ya en los recipientes se agita la miel lentamente mientras se enfría y el punto que se debe de alcanzar es de 32 a 35 °Baumé (Zamarrón, 1999).

2.5.7 Pigmentos naturales

Entre los metabolitos mayoritarios encontrados en los frutos de *Opuntia* se ha señalado que son las betalainas las cuales son responsables del color rojo (Pimienta, 1994) las betalainas confieren mayor estabilidad al compararse con otros pigmentos rojos naturales (Rodríguez, 2006).

Las especies de *Opuntia* que se utilizan para la obtención de pigmentos rojos son: *O. streptacantha*, *O. robusta*, y *O. ficus indica* (Rodríguez, 2006).

Lo que se tiene hasta el momento son informes técnico-científicos sobre la caracterización bioquímica y sobre la optimización de los procesos de extracción de estos pigmentos y algunas expectativas de su aplicación, basadas en que sus características, resultan técnicamente viables (Rodríguez, 2006).

2.5.8 Bebidas alcohólicas

2.5.8.1 Colonche

Es una bebida roja autóctona que se obtiene por la fermentación de jugo de tuna, especialmente de la tuna cardona (*O. streptacantha*) hay quienes utilizan pachona o incluso cascarona; también se puede utilizar una mezcla de las dos primeras (Bravo, 1991).

El colonche se define como bebida alcohólica de sabor agradable que resulta de la fermentación de las tunas rojas. Presenta sabor dulce debido a la presencia de azúcares sin fermentar (7 a 9 % de azúcares), con cierto grado de viscosidad y de baja graduación alcohólica (4-5 %), pero que con el tiempo adquiere un sabor agrio (Díaz, 2001).

No se ha desarrollado ningún proceso para la conservación de esta bebida que sufre alteraciones bacterianas rápidamente (Díaz, 2001) por ello hay que consumirlo en el punto exacto de fermentación antes de que se produzcan ácidos orgánicos y alcoholes superiores de sabor desagradable (Bravo, 1991).

Existe poca información científica y tecnológica sobre el procesamiento del colonche y sobre la flora microbiana que interviene en los procesos biotecnológicos respectivos. Se parte de la hipótesis de que se trata de una fermentación natural mixta donde intervienen tanto las levaduras como bacterias diversas algunas nocivas que provocan con frecuencia olores y gustos indeseables (Díaz, 2001).

Bravo (1991) logró aislar del colonche proveniente de el Estado de Zacatecas, tres distintas especies de levaduras, las cuales son: *Torulopsis*, *Sacharomyces cereviseae*, y *Candida valida*.

Ulloa y Herrera (1990) concuerdan con los estudios de Bravo (1991) en la intervención de una sola especie, que es: *S. cereviseae*. Además de encontrar otras dos especies responsables de la fermentación del colonche, las cuales son: *Candida colliculosa* y Bacterias lácticas.

2.5.8.1.1 Descripción de la flora microbiana responsable de la fermentación del colonche

2.5.8.1.1.1 *Sacharomyces cereviseae*

Comúnmente conocidas como levaduras, son células redondas y ovales, a menudo formando pseudomicelio; se reproducen por gemación multipolar; tienen conjunción isogámica o heterogámica que puede estar o no precedida de formación de asca; de una a cuatro esporas. Las dimensiones más comunes de las células varían entre dos y cuatro micras de ancho y dos a ocho micras de largo; sin embargo, se encuentran levaduras alargadas que tienen 10, 15 o 25 micras (Ulloa y Herrera, 1990). En la figura 2 se muestran las esporas del género *Sacharomyces cereviseae*



Figura 2. Esporas de *Sacharomyces cerevisiae*. Fuente: Di wine taste.

La mayoría de las levaduras son mesófilas, con una temperatura máxima de crecimiento entre 24 y 48 °C. Se encuentran en un rango amplio de p" H" el cual está comprendido entre 2.5 a 8. Son incapaces de moverse por lo que únicamente pueden ser arrastrados a través de corrientes de aire o en fluidos (Ulloa y Herrera, 1990).

2.5.8.1.1.1.1 Distribución

La levadura es probablemente el microorganismo más ampliamente distribuido en la tierra. Se encuentra en todos los climas húmedos y secos; en los cálidos, templados y fríos. Abundan en el aire, en el agua y en el suelo (Ulloa y Herrera, 1990).

2.5.8.1.1.1.2 Sustrato

Los organismos donde crece son muy variados, se pueden localizar en: raíces, tallos, hojas, flores (nectarios), frutos, semillas, granos, corteza de árboles y exudaciones vegetales; jugos de frutas, conservas, jaleas, jarabes, mieles diversas, la leche y sus derivados; cultivos de materias vegetales utilizados en la industria, como tabaco y cacao en fermentación; pero sobre todo son abundantes en jugos azucarados y en otros sustratos que están en fase fermentativa (Desrosier, 1963).

2.5.8.1.1.1.3 Importancia

Según Tanner, ninguna clase de microorganismo ha estado más íntimamente asociado con el proceso y el desarrollo de la raza humana como las levaduras. Y es muy cierto ya que es bien sabido que el hombre en tiempos remotos aprovecho las fermentaciones efectuadas por dichos microorganismos (Ulloa y Herrera, 1990).

La influencia de *S. cerevisiae* como fermentador de azúcares para la obtención de bebidas alcohólicas ha sido de enorme importancia en la economía y civilización de todos los pueblos. En la actualidad y de acuerdo a las investigaciones, se utiliza para diferentes fermentaciones de sustratos, como la de la cerveza, la especie *S. cerevisiae* var. *Ellipsoideus* por que son capaces de producir alcohol en grandes cantidades recuperables (Desrosier, 1963).

2.5.8.1.1.2 *Candida colliculosa*

Sus esporas tiene formas esférica., produce fermentaciones lentas, pudiendo fermentar grandes concentraciones de azúcar alcanzando entre los 8 y 14 °Brix. Estas levaduras crecen en frutos ácidos y ricos en carbohidratos (Frazier, 1976).

2.5.8.1.1.3 *Torulopsis*

Son levaduras pertenecientes a la clase Deuteromycetae, son redondas u ovals, fermentativas con formación multilateral, que son causa de numerosos problemas en las cervecerías y alteran diversos tipos de alimentos. Otras especies alteran concentrados de jugos de frutas y los alimentos ácidos (Frazier, 1976).

2.5.8.1.1.4 *Candida valida*

Forma hifas verdaderas o falsas con abundantes células en gemación. Forman películas en alimentos salados y muy ácidos (Frazier, 1976).

2.5.8.1.1.5 Las bacterias lácticas

Son un grupo de bacterias Gram-positivas que comparten una serie de características morfológicas, metabólicas y fisiológicas:

- Morfología: forma cocoíde o bacilar.
- Metabólicas: producción de ácido láctico como metabolito final y mayoritario de la fermentación de hidratos de carbono (al menos un 50%).
- Fisiológicas: incapacidad de esporular, el carácter anaeróbico facultativo.

Aunque los géneros incluidos en el grupo de las bacterias lácticas han estado sometidos a una gran controversia, se acepta que los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus* constituyen el núcleo central de este grupo.

2.5.8.1.1.5.1 *Pediococcus*

Fraizer (1976) describe a esta especie como cocos aislados, en parejas de cadenas cortas, o en tétradas; son Gram-positivos, y microaerófilos. Homofermentativos, produciendo a partir de los azúcares, de 0.5% a 0.9 % de ácido láctico principalmente. Crecen a temperaturas de 7 a 45 °C, pero su crecimiento óptimo tiene lugar entre 25 y 32 °C .

2.5.8.1.1.5.2 *Leuconostoc*

Comprende a los *Streptococcus* heterofermentativos que fermentan el azúcar produciendo ácido láctico y considerables cantidades de ácido acético, alcohol etílico y dióxido de carbono (Fraizer, 1976).

2.5.8.1.1.5.3 *Lactobacillus*

Son bacilos generalmente largos y delgados, formando en la mayoría de las especies cadenas e inmóviles. Son microaerófilos, Gram-positivos y tienen gran exigencia nutritiva. Fermentan azúcares dando como producto principal ácido láctico. Tienen una temperatura óptima de 28 a 32 °C y crece en un p" H" de 4.5 a 6.4 y se detiene en p" H" de 3.6 a 4.0 (Fraizer, 1976).

Esta especie perteneciente a las bacterias lácticas, además de producir ácido láctico como metabolito principal, también produce formiato etanol y acetato en determinadas condiciones. Esto ocurre cuando una parte del piruvato se transforma en CoA; sobreviene en condiciones de carencia de

nutrientes, un poco de piruvato es metabolizado en etanol y acetato (Bourgeois, 1995).

2.5.8.1.1.5.4 Streptococcus

Bourgeois (1995) argumenta que son las bacterias ácido lácticas menos sensibles al oxígeno. Estas bacterias tienen en general complejas necesidades de factores de crecimiento, toleran los p^H ácidos de 5 o incluso menos, pero conforme al medio se va acidificando, resultan inhibidas un mayor número de especies.

Esta especie se caracteriza por qué forma células en pares o en cadenas, son bacterias Homofermentativas y algunas especies son heterofermentativas; éstas últimas producen gas en presencia de citrato (Bridge y Sneath, 1983).

Las bacterias lácticas se encuentran presentes naturalmente en el mosto de algunos frutos; las bacterias lácticas pueden degradar ocasionalmente otras sustancias además del ácido málico, como pueden ser azúcares, ácidos orgánicos, glicerol y aminoácidos. Ocasionando defectos indeseables, tales como el incremento de acidez en los vinos. Este incremento de acidez también puede provenir de la degradación de ácidos orgánicos como el ácido cítrico (Larpent, 1995).

Un microorganismo contaminante común en la mayoría de frutos cítricos, alimentos ricos en glucosa, fructosa y almidón, mostos o fermentos de frutos, alimentos procesados, etc.; es *Aspegillus niger*, adquiere importancia por su capacidad de instalación y proliferación; por producir como metabolito principal ácido cítrico que en algunos casos es aceptable. Por ello resulta interesante el estudio de este microorganismo que a pesar de las investigaciones realizadas por los diferentes autores antes mencionados no se encontró a *Aspergillus niger* colonizando a la bebida autóctona de tuna cardona, pero no se descarta su aparición ya que el fruto *Opuntia*

puede ser fuente de energía importante para este hongo microcelular y además contener factores que favorecen su proliferación.

2.5.8.1.1.6 *Aspergillus niger*

Son microorganismos de cabezas conidiales de tonos negros a negro grisáceo, negro café, negro púrpura o negro carbón; son globosas radiadas o divididas; formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidas. Los conidióforos son de color hialino o café, típicamente lisos o en pocas especies ligeramente granulares. Vesículas globosas o casi globosas, hialinas o de color café claro a oscuro. Los conidios son globosos o subglobosos, elípticos o achatados, lisos, espinosos o con estriaciones. En la figura 3 se muestra la cabezuela de un conidióforo de *Aspergillus niger*.

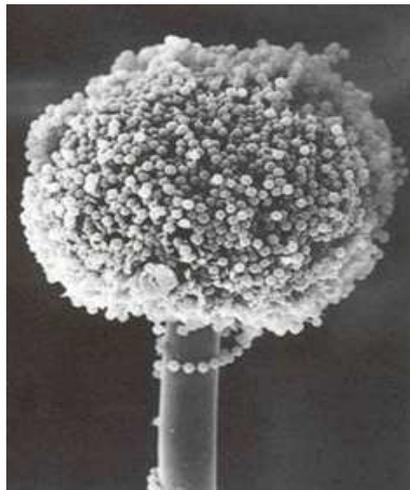


Figura 3. Conidióforo del género *Aspergillus niger*. Fuente: hongos de interés alimentario.

2.5.8.1.1.6.1 Sustrato

Son muy abundantes, muchos son responsables de ciertas alteraciones alimenticias y otros útiles en la preparación de algunos alimentos.

2.5.8.1.1.6.2 Distribución

La enorme capacidad de esporulación y facilidad con que se nutre de una gran facilidad de material orgánico, vegetal y animal, hacen de *Aspergillus* un grupo de hongos cosmopolita y sumamente perjudicial al hombre, aun cuando, como parásitos benignos, su ataque se limita a las semillas, frutos maduros y otros órganos que se aprovechan como alimento. Como hongo fitopatógeno produce una pudrición parcial o total del sustrato (Bravo, 1991).

2.5.8.1.1.6.3 Ruta metabólica de *Aspergillus niger*

La ruta metabólica que realiza *Aspergillus niger* para la obtención de ácido cítrico es la respiración aeróbica, que es el proceso de oxidación de las moléculas combustibles por oxígeno. Este proceso se le conoce como el ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico. El ciclo de Krebs, es la ruta central común para la degradación de los restos acetilo (de 2 átomos de C) que derivan de los glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos. Es una ruta universal, catalizada por un sistema multienzimático que acepta los grupos acetilo del acetyl-CoA como combustible, degradándolo hasta CO₂ y átomos de hidrógeno, que son conducidos hasta el O₂ que se reduce para formar H₂O (en la cadena de transporte de electrones). En la figura 4 se muestra las etapas del ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs

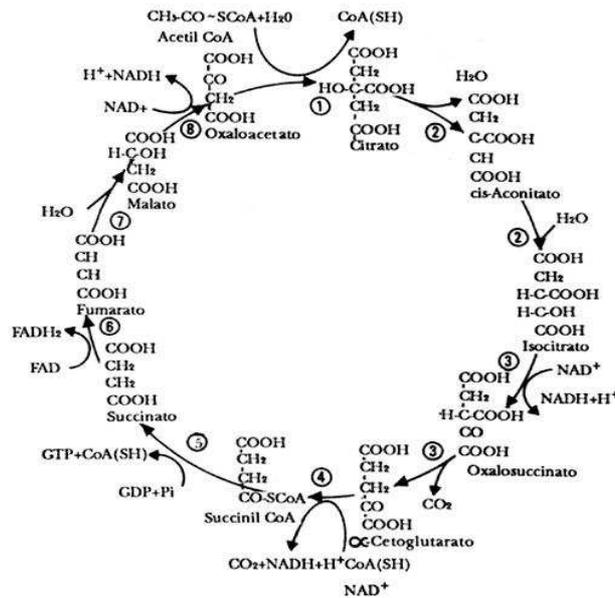


Figura 4. Ciclo de Krebs. Fuente: rutas metabólicas (2001)

2.5.8.1.1.6.4 Producción de ácido cítrico mediante *Aspergillus niger*

Existe una forma natural para la obtención del ácido cítrico, son en los frutos cítricos: piña, pera, limón, pera y otras frutas, pero en la actualidad se produce industrialmente por fermentación de soluciones de sacarosa, utilizando principalmente el hongo *Aspergillus niger*. Aunque existen varias especies de mohos capaces de producir ácido cítrico, tales como: *A. clavatus*, *Penicillium luteum*, *P. citrinum* y *Mucor piriformis*, solo las cepas seleccionadas de *A. niger* son de importancia industrial (Ulloa y Herrera, 1990).

En general los mayores rendimientos se obtienen fermentando la sacarosa o melazas de caña o de remolacha a 26-28° C durante siete a ocho días; también se realiza el cultivo sumergido con glucosa, jugo, jarabes o azúcar no refinada, complementando dichos medios con fuentes de nitrógeno, potasio, fósforo, azufre y magnesio. El p^h ácido favorece a la producción

de ácido cítrico, suprime la del oxálico, reduce al mínimo el riesgo de contaminaciones y facilita la esterilización (Ulloa y Herrera, 1990).

2.5.8.1.1.6.5 Importancia de la producción de ácido cítrico

En la actualidad el ácido cítrico se utiliza en cantidades de varios miles de toneladas por año. La mayor parte (65%) se emplea en drogas y medicinas de varias clases; algo más de 10% en alimentos, refrescos envasados, dulces, en la manufactura de bebidas alcohólicas, mermeladas y como aditivo general en la industria de la repostería; el resto en el plateado, grabado, teñido y estampado de telas y plásticos (Ulloa y Herrera, 1990).

Ciertos cultivos de *Aspergillus niger* podían ser productores eficientes de ácido cítrico (Currie 1917). Este comenzó la producción a escala industrial usando esta técnica dos años más tarde.

2.5.8.2 Aguardiente

Se han realizado algunos estudios a fin de obtener aguardiente a partir de jugo de tuna bajo condiciones controladas. Se ha utilizado el filtrado de la pulpa de la tuna cardona y el microorganismo *Sacharomyces cereviseae var champagne*. Se observó que el contenido de pectina en la cáscara de la tuna hace que ésta no se pueda utilizar en la elaboración de aguardiente ya que la fermentación de pectinas favorece la aparición de metanol en el producto final (Granados, 1991).

2.5.8.3 Licor de tuna

Es una bebida alcohólica aromática, no fermentada, producto de mezcla de alcohol, agua y azúcar, con trozos de tuna sin cáscara. Las tunas sin cáscara se incorporan enteras o fraccionadas a una solución azucarada y se adiciona el alcohol etílico potable de 96 grados GL y con agua en proporciones adecuadas (Legaspi, 2005). Para el caso de la tuna cardona

en su segunda etapa de madurez se requieren 4.58 Kg. De fruto para obtener un litro de licor de 11.16 °GL. (Granados, 1991).

2.6 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica consiste en la descomposición de los azúcares contenidos en el mosto: glucosa y fructuosa, en etanol o alcohol etílico y en anhídrido carbónico, también llamado gas carbónico. En 1820 el científico Gay-Lussac, expreso en términos químicos, la ecuación para la fermentación alcohólica, misma que es presentada en la figura 5.



Figura 5. Formula de fermentación alcohólica. Fuente: fermentaciones (2003).

Es decir, una molécula de glucosa produce 2 de etanol y 2 de anhídrido carbónico.

La reacción de la fermentación alcohólica fue demostrada por Pasteur estableciendo que la ecuación anterior es válida para el 90% del azúcar transformado. El resto lo forman gliceroles, ácido succínico, ácido acético y productos secundarios como: ácido láctico, butilenglicol, acetaldehído, ácido pirúvico alcoholes superiores y diversas sustancias.

Además de descubrir que ésta no era más que el resultante de un fenómeno bioquímico de la vida de un ser vivo unicelular, el cual, en lugar de tomar el oxígeno que precisa para su proceso respiratorio directamente del aire, lo toma de otra sustancia, en este caso la glucosa o la fructosa del mosto de algún fruto y las que descompone.

La fermentación alcohólica es el resultado de la acción de algunos microorganismos, tales como: bacterias, levaduras y mohos que actúan sobre un sustrato contenido de azúcar, en ausencia de oxígeno.

2.6.1 Controles de la fermentación

Los alimentos son contaminados naturalmente por microorganismos, que se desarrollan de acuerdo a las condiciones óptimas para su crecimiento, lo cual generará la obtención de nuevos productos mediante la fermentación (Desrosler, 1963).

2.6.1.1 Valor del p^H

El p^H influye en el crecimiento microbiano de la misma forma que lo hace en la actividad enzimática. La mayoría de los microorganismos crecen dentro de un rango comprendido entre 3 y 4 (Peynaud, 1976).

En vista de que las fermentaciones más importantes de los alimentos son la oxidante y la alcohólica, el crecimiento de los microorganismos será controlado por la acidez del medio, ya que la mayoría de los alimentos son ácidos. En los frutos y en los jugos de frutas las levaduras y mohos se establecerán rápidamente ellos mismos (Desrosier, 1963).

2.6.1.2 Fuente de energía

Los carbohidratos solubles de los alimentos son una fuente de energía inmediata para los microorganismos por lo que las fuentes de energía no son usualmente un factor limitante en ciertas excepciones (Desrosier, 1963).

2.6.1.3 Disponibilidad de oxígeno

El grado de anaerobiosis es un factor principal en el control de las fermentaciones. En las levaduras, cuando grandes cantidades de oxígeno están presentes, es promovida la producción celular de levaduras. Si se desea producir alcohol se requiere un suministro limitado de oxígeno.

2.6.1.4 Requerimientos de temperatura

Cada grupo de microorganismos tiene una temperatura óptima para el crecimiento; por lo tanto la temperatura del sustrato ejerce un control positivo sobre el crecimiento. Para obtener el máximo desempeño durante la fermentación, debe crearse la temperatura óptima para los organismos.

En el caso de la fermentación alcohólica por medio de levaduras la temperatura óptima es de 25 °C; si se realizan variaciones en las temperaturas se corre el riesgo de no obtener los resultados deseados el momento de analizar o que se realice otro tipo de fermentación.

La temperatura más adecuada para realizar la fermentación alcohólica se sitúa entre los 18 a 23° C. Las levaduras son microorganismos mesófilos que dan lugar a la fermentación en un rango de 13 a 35° C; cuanto mayor sea la temperatura mayor será la velocidad del proceso fermentativo y permitirá la obtención de productos secundarios. Sin embargo a menor temperatura es más fácil conseguir un grado alcohólico, debido a que las altas temperaturas hacen fermentar más rápido a las levaduras y llegan a agotarlas.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación se plantearon las siguientes etapas:

3.1 ETAPA 1: Obtención y caracterización de la materia prima

El fruto tuna cardona (*O. streptacantha*) fue recolectado en el Estado de Zacatecas, en el Municipio Pino Suárez, con un campesino del área.

Para la caracterización de la tuna cardona se determinaron los siguientes análisis:

3.1.1 Determinación de sólidos solubles totales

Utilizando el método de refractometría con escala de 0 a 32 °Brix, con un refractómetro manual ATAGO N-1E

3.1.2 Determinación de potencial de hidrógeno

Para la determinación de p" H" se utilizó el potenciómetro HANNA, modelo H1223.

3.1.3 Obtención de rendimiento de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*).

Para obtener el rendimiento de la tuna cardona se realizó el peso de la siguiente manera:

1. Tuna con cáscara.
2. Tuna sin cáscara.
3. Cáscara.
4. Jugo de tuna.
5. Semilla de tuna.

Para obtener el peso de cada porción sólida, se utilizó una báscula de reloj de 10 Kg JOGUA modelo DIN 10 Kg y para la porción líquida se utilizó una probeta de 500 ml.

El jugo que se extrajo, se almacenó en recipientes de plástico en dos porciones de tres litros en cada uno de los recipientes; se filtró por tres veces con un colador de acero inoxidable y se almacenó a temperatura de refrigeración (4 °C) por 4 días.

3.2 ETAPA 2: Fermentación espontánea del jugo de tuna cardona

La fermentación espontánea se permitió para el desarrollo de la flora nativa presente en la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) con el objetivo de ser caracterizada mediante comparación morfológica.

Al término de la fermentación se tomaron dos muestras de cada porción, a fin de realizar los siguientes análisis:

3.2.1 Determinación de sólidos solubles totales el jugo fermentado

Mediante el método de refractometría con escala de 0-32 °Brix, con un refractómetro manual ATAGO, modelo N-1E.

3.2.2 Determinación de Ácido cítrico

Este método se realizó de acuerdo a los lineamientos propuestos por Saffran-Densted (1983).

3.2.3 Determinación de grado alcohólico

Utilizando el método de refractometría, con un refractómetro manual con escala de 0-25% de alcohol probable ATAGO, modelo N-1E.

3.2.4 Determinación de potencial de hidrógeno

Con el uso del potenciómetro HANNA, modelo H1223, para la determinación de p^H.

3.2.5 Pasteurización del jugo fermentado

Este procedimiento se realizó a una temperatura de 70° C/15 min. para eliminar residuos contaminantes de jugo fermentado.

3.3 ETAPA 3: Aislamiento e identificación de la flora microbiana contaminante de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)

De las dos porciones almacenadas a temperatura de refrigeración se obtuvieron dos muestras de cada una de ellas, en las cuales se evidenciaba la presencia de hongos. Por lo tanto, las muestras fueron inoculadas en medio líquido Czapeck Dox y papa dextrosa e incubadas a fin de ser viabilizadas.

Para el aislamiento del microorganismo se realizó el método de microcultivo, de acuerdo a los lineamientos descritos por Pitt (1988). Se utilizó el microscopio CARL SEIZZ, modelo primo star.

Se realizó un frotis con azul de metileno, descrito en la técnica propuesta por Cortes (2001).

Para la caracterización de los microorganismos encontrados se realizó una comparación morfológica recurriendo a las publicaciones de Romero (1993), Ulloa (1990) e imágenes de Vega (2002).

3.4 ETAPA 4. Fermentación controlada

3.4.1 Chaptarización del jugo pasteurizado

La chaptarización consiste en añadir azúcar al jugo, cuando la fruta tiene un bajo contenido de carbohidratos, con el objetivo ajustar el contenido de azúcares para elevar el grado alcohólico y mejorar el sabor final del producto.

Posterior a esto se realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos a dos muestras de 400 ml de jugo chaptarizado con las siguientes características: 9.8 °Brix, p^H 4.107, 4.8 % de grado alcohólico.

Se almacenaron en dos matraces Elenmeyer y se añadió inóculo de levadura *Sacharomyces cereviseae* (5% del volumen total) a temperatura de 25 °C, con agitación en las primeras 24 horas a fin de permitir la formación de OH y se continuó la fermentación por 168 horas.

Durante este tiempo se monitorearon los siguientes análisis:

3.4.2 Determinación de sólidos solubles totales

Utilizando el método de refractometría con escala de 0 a 32 °Brix, con un refractómetro manual ATAGO N-1E.

3.4.3 Determinación del incremento de grado alcohólico

Utilizando el método de refractometría, con un refractómetro manual con escala de 0-25% de alcohol probable ATAGO, modelo N-1E.

3.4.4 Determinación de potencial de hidrógeno

Con el uso del potenciómetro HANNA, modelo H1223, para la determinación de potencial de hidrógeno.

3.4.5 Determinación de ácidos orgánicos

Obtenido por acidez titulable y alícuota valorada del ácido expresado.

3.5 ETAPA 5: Caracterización del producto final

Se realizó una prueba física de color, olor y sabor.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la metodología antes mencionada y con el seguimiento de las etapas se obtuvieron los siguientes resultados.

4.1 ETAPA 1: Obtención y caracterización de la materia prima

El fruto de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) que se adquirió, no fue obtenido bajo requerimientos específicos, como: peso, tamaño, color, entre otros. Solo se buscó obtener fruta en estado de madurez.

Posterior a su recolección se mantuvo en cajas de plástico a temperatura ambiente, después se conservó a temperatura de refrigeración (4° C) por 7 días. Al fruto no se le realizó un desespinado, se mantuvo de esta manera hasta extraer el jugo.

Los resultados de los dos primeros análisis para la caracterización de la tuna cardona se muestran en el cuadro 8.

Cuadro 8. Resultados de análisis para caracterizar la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)

Análisis	Resultados
Sólidos solubles totales	12.50 °Brix.
Potencial de hidrógeno	6.52

Granados y Castañeda (2003) reportan en el jugo de tuna 13.4 °Brix por el método de refractometría y p" H" de 5.25; estos valores coinciden con la presente investigación.

4.1.3 Obtención de rendimiento de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)

Los resultados del análisis de rendimiento del fruto *Opuntia streptacantha* se muestran en el cuadro 9.

Cuadro 9. Resultados en peso de rendimiento de cada porción de la tuna

Porción	Peso
Tuna con cáscara	18.45 Kg
Tuna sin cáscara	6.86 Kg
Cáscara	3.98 Kg
Jugo tuna	6.78 L
Semilla	0.83 g

Los resultados obtenidos en el rendimiento del fruto, muestran que el jugo de tuna cardona corresponde al 36%, el cual fue utilizado para el proceso de fermentación, mientras que los demás componentes no se utilizaron para los siguientes procesos de la investigación.

4.2 ETAPA 2: Fermentación espontánea del jugo de tuna cardona

Los resultados de los análisis realizados al jugo fermentado se muestran en el cuadro 10.

Cuadro 10. Resultados de análisis de jugo de tuna cardona

Análisis	Resultados
Sólidos solubles totales	4.20 °Brix
Grado alcohólico	5.30 °
Potencial de hidrógeno	3.92

Díaz (2000) menciona que la bebida alcohólica artesanal de *Opuntia streptacantha*, llamada colonche, contiene de 7 a 9 grados de azúcares, esto debido a la presencia de azúcares sin fermentar y contiene una graduación alcohólica de 4 a 5 grados. Los valores de la presente investigación coinciden con el grado alcohólico encontrándose ligeramente arriba del grado superior, mientras que para los sólidos solubles totales si se presentan diferencias, el nivel se encuentra por debajo de los rangos antes mencionados.

El decremento de los sólidos solubles totales se ve reflejado en la presencia de grado alcohólico producido por *Sacharomyces cereviseae* que forma parte de la flora nativa del jugo de tuna cardona.

4.2.4 Pasteurización del jugo fermentado

A fin de eliminar contaminantes en el jugo fermentado se realizó una pasteurización, donde se observó una formación de capa blanca en la superficie del líquido a los 40° C.

4.3 ETAPA 3: Identificación y aislamiento de la flora contaminante microbiana de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*)

La muestra que fue inoculada en medio líquido Czapeck Dox y puesta en microcultivo tuvo las siguientes características: conidios lisos, hialinos y globosos, con tintes de color café amarillento, conidióforo y vesícula globosa pequeña; cabezuela globosa, de color café oscuro e hifas septadas.

A continuación se presentan en las figuras 6,7 y 8 del lado izquierdo las imágenes obtenidas a partir de los microcultivos realizados al jugo de tuna cardona y del lado derecho imágenes comparativas de Vega (2002) donde es posible la similitud morfológica para ambas muestras.

En la figura 6 se muestran las siguientes características: hifas, conidióforos y cabezuelas conidiales. Las hifas están formando micelio de color hialino, los conidióforos también hialinos y en las cabezuelas se encuentran los conidios con cadenas irregulares de color café así como la cabeza conidial.

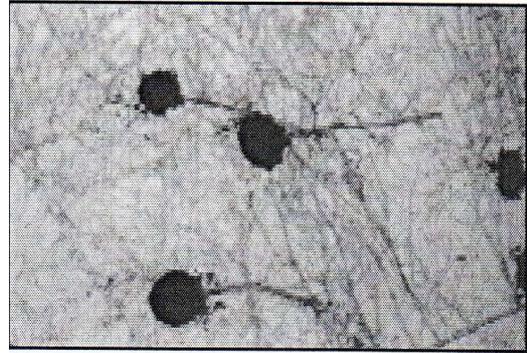


Figura 6. *Aspergillus niger*: hifas, conidios y cabezuelas conidiales a 10x. Fuente: foto derecha, Vega, 2002.

En la figura 7 se muestran las siguientes características: cabezas conidiales y conidios. Los conidios mostrados en la imagen de la izquierda se muestran en cadenas de forma irregular de color café oscuro.

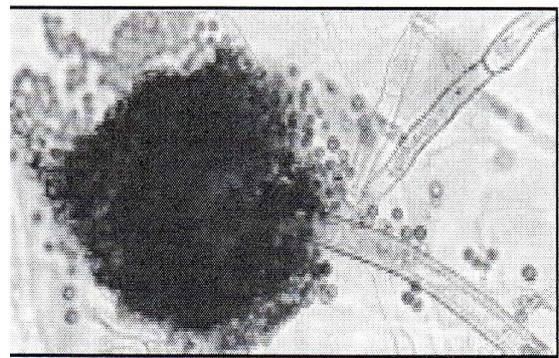
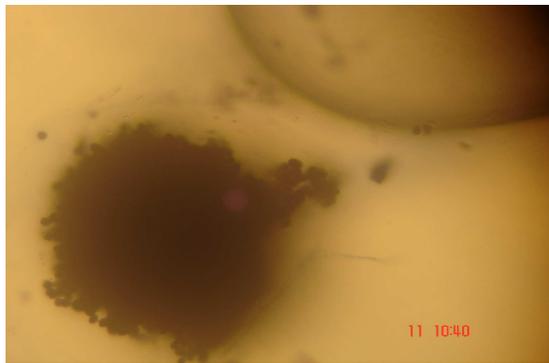


Figura 7. *Aspergillus niger*: cabezas conidiales y conidios a 40 x. fuente: foto derecha, Vega (2002)

En la figura 8 se muestra la siguiente característica: vesícula. Esta parte morfológica de *Aspergillus niger* forma parte de la cabeza conidial. En la figura de la izquierda es la obtenida de la presente investigación.

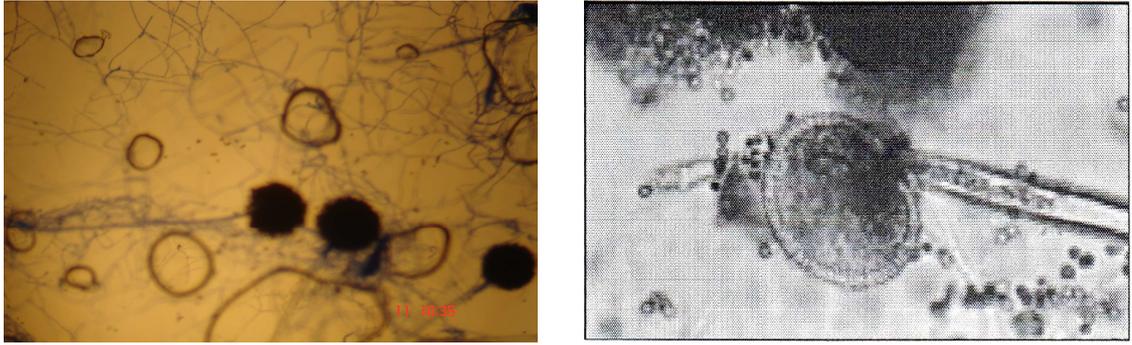


Figura 8. *Aspergillus niger*. vesícula a 10x. Fuente: foto derecha, Vega (2002).

Para la identificación y caracterización de otro microorganismo se inoculo en medio papa dextrosa y después se realizó un Frotis de azul de metileno, y se obtuvo mostrando las siguientes características: Células redondas, ovales, de color amarillo pálido. Estas características morfológicas son similares a *Sacharomyces cereviseae*.

La figura 9 se muestra la imagen encontrada en la presente investigación.

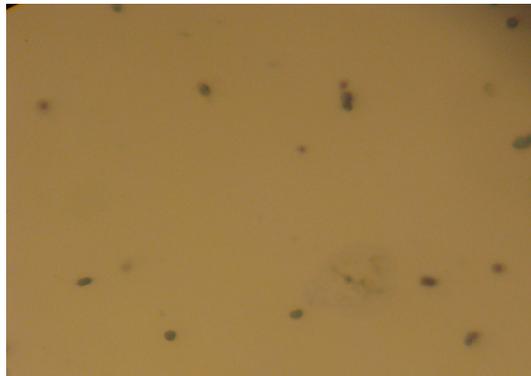


Figura 9. *Sacharomyces cereviseae* a 40x.

La figura 10 muestra características similares a la figura anterior.

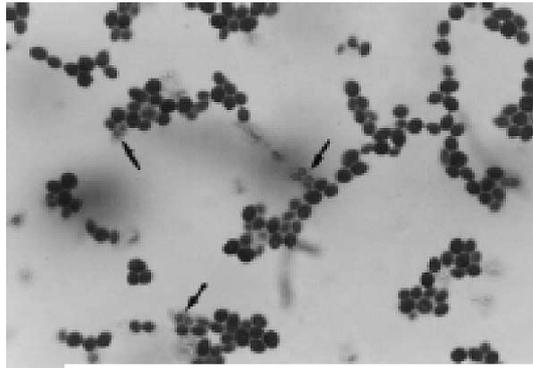


Figura 10: esporas de *Sacharomyces cerevisiae*. Fuente: Yegres (2003).

4.4 ETAPA 4. FERMENTACIÓN CONTROLADA

4.4.1 Chaptarización del jugo pasteurizado

Para obtener un nivel óptimo de azúcares presentes en el jugo se realizó una chaptarización, teniendo como resultado los siguientes valores que se muestran en el cuadro 11.

Cuadro 11. Análisis de jugo chaptarizado.

Análisis	Resultados
Sólidos solubles totales	9.80 °Brix
Ácido cítrico	1.03 g/L
Grado alcohólico	4.80 °
Potencial de hidrógeno	4.10

Padilla (2003) menciona que el mosto o el jugo fermentado deben tener un valor de 10° Brix para elevar grado alcohólico y mejorar el sabor del producto final, el valor obtenido del análisis del jugo chaptarizado coincide con el mencionado por el autor.

Posterior a la chaptarización se realizó un proceso fermentativo, en el cuadro 12 se presentan las medias obtenidas en base a la cinética de fermentación, donde es posible apreciar el consumo de sólidos solubles totales y el incremento del grado alcohólico. Con el fin de presentar estos fenómenos, las siguientes graficas muestran el comportamiento de cada uno de los parámetros.

Cuadro 12. Cinética de fermentación

Tiempo (Hrs).	Grados Brix	Incremento grado alcohólico	Acidez titulable g/100 ml			pH
			Ac. málico	Ac. tartárico	Ac. Cítrico	
0	9.80	0.00	1.005	1.4237	0.9600	3.890
24	9.65	0.00	0.9866	1.4262	0.9600	3.890
48	9.50	0.00	0.9648	1.0525	0.9086	3.884
72	9.42	0.10	0.9983	1.1512	0.9632	3.873
96	9.05	0.70	1.0251	1.2087	0.9918	3.859
120	9.05	1.00	1.0583	1.165	1.0336	3.844
144	9.00	1.00	1.0586	1.2225	1.0784	3.723
168	7.70	1.20	1.0586	1.0612	0.8829	3.759

4.4.2 Determinación de sólidos solubles totales

CONSUMO DE AZÚCARES DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO

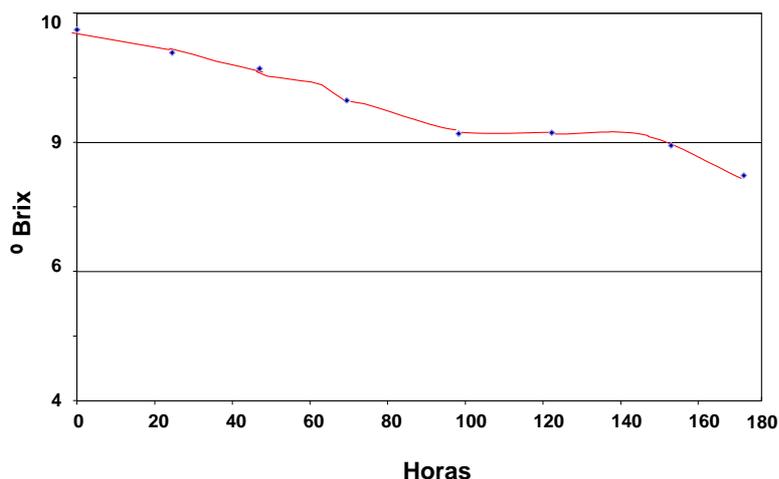


Figura 11. Grafica de comportamiento de azúcares

De acuerdo con el monitoreo de sólidos solubles totales se observa en la figura 11 el consumo de azúcares durante la cinética de fermentación. Las lecturas de los mismos revelan que a partir de las 72 horas hay un decremento continuo y significativo, llegando a la mínima concentración a las 168 horas de 7.7 °Brix, coincidiendo con Díaz (2001) quien menciona que el colonche tiene de 7 a 9 % de azúcares. El valor de la mínima concentración de azúcares es reportado en el anexo 1, de las medias analizadas por prueba t-Student ($P \leq 0.05$).

4.4.3 Determinación de incremento del Grado alcohólico

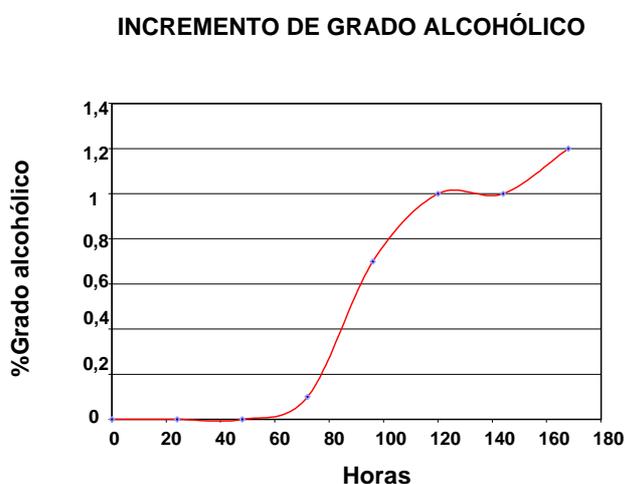


Figura 12. Grafica de incremento del grado alcohólico

Durante la fermentación espontánea se reporta un alto contenido de grado alcohólico de 5.3° producido por *Sacharomyces cereviseae* (microorganismo que forma parte de su flora nativa) misma que se inactivó al llegar a este valor, ya que las levaduras nativas toleran de 4 a 5 % de alcohol.

Se monitoreó el incremento de grado alcohólico representado en la figura 12, producido por *Sacharomyces cereviseae* comercial, donde se puede observar poco incremento en el grado alcohólico, reportando en su etapa final 1.2° más, obteniendo un grado alcohólico neto de 6% de etanol. Este fenómeno se puede explicar por la presencia de alcohol antes producido en la fermentación

espontánea, mismo que originó una disminución de la actividad enzimática de la levadura, ya que la tolerancia de etanol para este tipo de microorganismo es de 5 a 8% (Peynaud, 1976).

El análisis de varianza por prueba t-Student ($P \leq 0.05$) revela que a partir de las 72 horas hay incremento continuo hasta las 168 horas, reportando que las diferencias son estadísticamente significativas durante el análisis del proceso fermentativo.

4.4.4 Determinación de potencial de hidrógeno

En la figura 13 se reporta el comportamiento de potencial de hidrógeno durante la cinética de fermentación, donde se muestra poca variación con respecto al tiempo, manteniendo un rango de 3.88 a 3.700, Peynaud (1976) menciona que *Sacharomyces cerevisiae* crece en un rango de 3.5 a 5.5. Esto indica que la actividad microbiana se encontró desarrollándose en condiciones óptimas. Los valores obtenidos coinciden con los del autor antes mencionado.

Se realizó análisis de varianza ($P \leq 0.05$) por prueba t-Student ($P \leq 0.05$) con la finalidad de encontrar diferencia significativa entre los datos obtenidos mostrados en el anexo 3, donde se aprecia que el decremento de acidez entre las 0 horas hasta las 120 horas no existe diferencia significativa, sino hasta las 144 horas donde se observa que la variación en el decremento es significativa. Esto debido a que el microorganismo presente comenzó a consumir ácidos orgánicos en la fermentación.

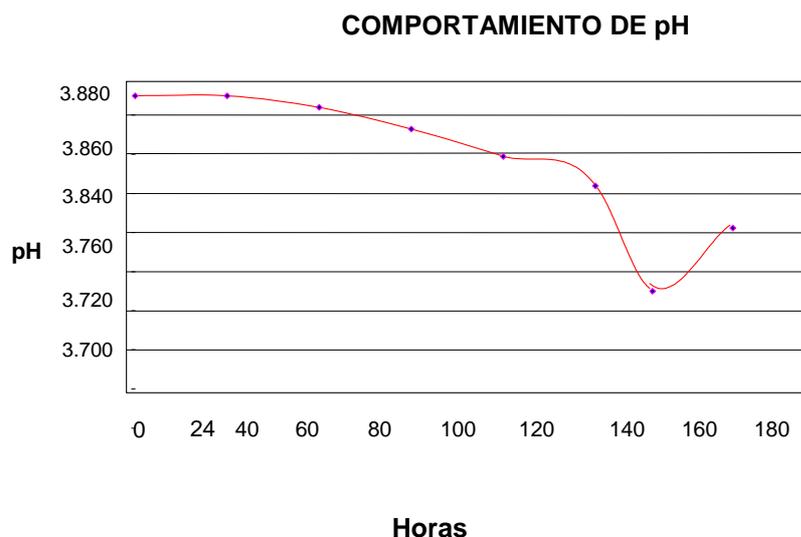


Figura 13. Grafica del Comportamiento de potencial de hidrógeno

4.4.5 Determinación de ácidos orgánicos durante la fermentación

El monitoreo de ácidos orgánicos se hizo con la finalidad de observar que durante el proceso fermentativo se llevará a cabo la ruta metabólica correcta y no otra ruta que produjera metabolitos indeseables causando déficit en la calidad del producto final, ya que el microorganismo que contaminó el jugo de tuna cardona, *Aspergillus niger*, produce la formación de ácido cítrico, como metabolito principal, pero que a pesar de ello, su presencia no actúa de forma negativa para las características organolépticas de la bebida obtenida, esto porque la actividad del microorganismo fue limitada en tiempo y espacio.

En la figura 14 se observa la gráfica del comportamiento de ácidos orgánicos reportados en el análisis de varianza ($P \leq 0.05$) por prueba t-Student ($P \leq 0.05$) en los anexos 4, 5, y 6 respectivamente, los cuales revelan que la formación de los mismos es de manera constante no habiendo diferencias significativas entre los valores, manteniéndose en niveles de 1.4 y 1.0 y decreciendo a las 168 horas. Este fenómeno ocurrió debido a la aplicación del tratamiento térmico ($70^\circ \text{C}/25\text{min}$) realizado antes de llevar a cabo la fermentación controlada, mismo que erradicó flora microbiana contaminante del jugo de tuna, permitiendo niveles favorables de ácidos orgánicos durante la fermentación.

COMPORTAMIENTO DE ÀCIDOS ORGÀNICOS

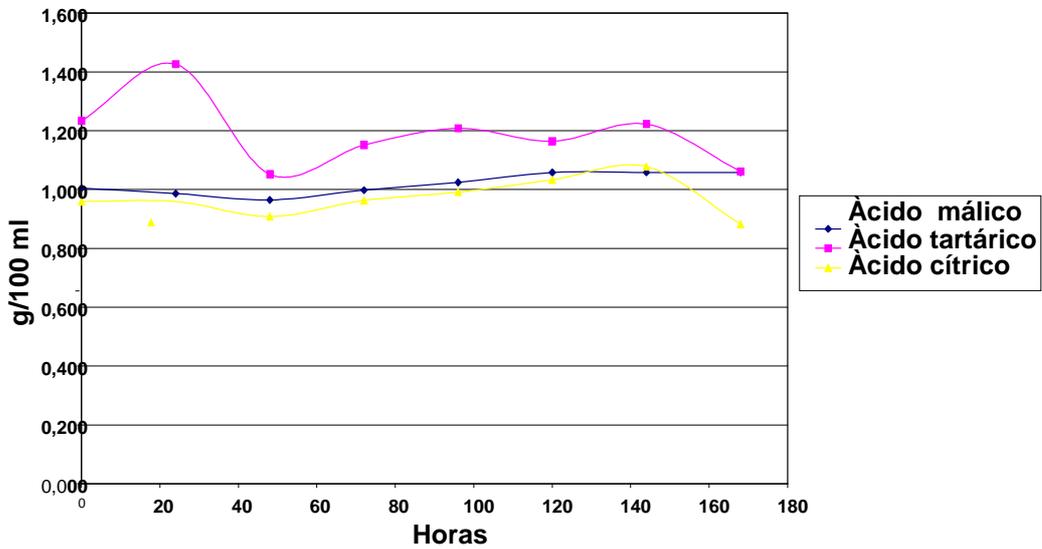


Figura 14. Grafica del comportamiento de ácidos orgánicos

4.5 ETAPA 5: Caracterización del producto final

En el cuadro 13 se muestra la prueba realizada al producto final de la fermentación, evaluando las siguientes características:

Cuadro 13. Características de producto final

características	Producto final
Color	Rojo opaco
Olor	Azúcar Alcohol
sabor	Agridulce Alcohol

5 CONCLUSIONES

Se caracterizó el fruto *Opuntia streptacantha* con los siguientes análisis: sólidos solubles totales y potencial de hidrógeno, obteniendo como resultado 12.5 °Brix y p"H" de 5.25. Lo que permitió que la flora microbiana se instalara rápidamente, causando una fermentación espontánea.

El rendimiento obtenido a partir de 18.45 Kilogramos de tuna cardona, se obtuvieron 6.78 litros de jugo, que equivale al 36 % del total del peso.

Se aisló y caracterizó la flora microbiana contaminante del jugo de tuna (*Opuntia streptacantha*), encontrando a *Aspergillus niger* y *Sacharomyces cerevisiae*.

Los metabolitos producidos por la flora microbiana contaminante, dieron como resultado un incremento de grado alcohólico de 5.8°, decremento de sólidos solubles totales de 4.20° Brix, ácido cítrico de 1.03 de y potencial de hidrógeno de 3.92.

Se realizó una pasteurización con la finalidad de eliminar contaminantes en el jugo de tuna, posterior a esto, se efectuó una chaptarización para obtener el nivel óptimo de azúcares necesarios en la siguiente etapa.

La bebida obtenida a partir de tuna cardona, aplicando *Sacharomyces cerevieae* a 25° C durante 168 horas, de las cuales, las primeras 24 horas se realizaron en condiciones de agitación para obtener biomasa, presenta bajo grado alcohólico de 1.2 %, 7.7 °Brix, ácidos orgánicos como: ácido málico, ácido tartárico y ácido cítrico, p"H" oscilando entre 3.800 y 3.700.

Al final del proceso fermentativo se obtuvo el porcentaje neto de grado alcohólico teniendo como resultado 6 % de grado alcohólico, con las siguientes características físicas: color rojo apoco, de sabor agridulce y a alcohol y olor agradable a azúcar y alcohol.

En base a lo anterior, se concluye que la bebida obtenida es apta para el consumo humano a partir de tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) presentando un estado primario de madurez.

6 LITERATURA CITADA

Aragón S., N., (1988). Problemas fisiológicos durante poscosecha y su control. Memorias del simposio Nacional de y tecnología poscosecha de productos hortícolas en México. Sonora, México. Pg. 51-56.

Aserca (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria) (1999). Producción mundial de tuna en: la tuna testigo de nuestra historia, de claridades agropecuarias No. 71. Pg. 31-34.

Bancomext (2000). SAGAR anuario estadístico.

Barrientos P., F., (1965). El nopal y su utilización en México, revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural Pg. 87-91.

Blanco M., G., (1958). El nopal como forraje en zonas áridas. Boletín Nacional de Comercio Exterior S.A. México DF.

Bourgeois M., C., V. (1995). Microbiología alimentaría Vol. 2 Fermentaciones alimentarias. Editorial Acribia.

Bravo H. (1937). Las cactáceas de México (reimpresión 1953 y1958). Instituto de Biología de la UNAM. México Pg. 5-12, 334.

Bravo H., H. (1991). Las cactáceas de México. Universidad Autónoma de México.

Bravo M., F. (1999). La producción del nopal para la verdura en microtunel en Zacatecas. Tesis de Licenciatura, Escuela de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

Bridge C. and Sneath P. (1983). Numerical taxonomy of Streptococcus. Journal of general Microbiology, No. 129.

Britton N., L. Y J. N. Rose (1937). The cactaceae (reimpresión 1963) (1) 184 y Dover Páb. Inc. New York.

Corrales G., J., (1992). Descripción y análisis de la cosecha y el manejo en fresco de nopalito y tuna. Tesis. CIESTAAM, Universidad Autónoma de Chapingo. Pg 125.

Corrales G., J., (1998). Poscosecha de la tuna y del nopal verdura. Memorias de VII congreso Nacional y V internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal. Monterrey, Nuevo León.

Currie J., N. (1917). The citric fermentattion of *Aspergillusniger*. J, Boil. Cherm. Pg. 15-17.

Desroiser N., W. (1963). Conservación de los alimentos. Editorial C.E.C.S.A., México.

Díaz C., I., M. (2001). Elaboración de colonche. 6ta jornada de investigación. Universidad Autónoma de Zacatecas. Pg 1-9.

Díaz C., I., M. (2000). Rescate y generación de tecnología para el aprovechamiento industrial de la tuna. Avances. 5ta jornada de investigación. Universidad Autónoma de Zacatecas. Pg 1-3.

Flores H., A., (1981). Industrialización integral de fruto *Opuntia streptacantha* (Lemaire) y *Opuntia robusta* (Wendiand in preiffer) en dos periodos de maduración. Tesis, ing. agrónomo fitotecnista. Pg 5-40.

Flores H., A. Murillo S., M., Borreg E. F. y Rodríguez O., J. I. (1990). Variación de la composición química en estratos de la planta de 20 variedades de nopal. In: E. pimienta, Barrios C. Neri luna A. Muñoz O. y F. Huerta M. (comp). Memorias del 6to Congreso Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento internacional del nopal en México.

Flores V., C. (1979). El nopal como forraje. Tesis. Esc. Superior Nacional de Chapingo, México.

Flores V., C., A. y Gallegos V., C. (1993). La producción de tuna en México en pimienta B. E. et al. 1995 conocimiento y aprovechamiento del nopal 6to congreso Nacional y 4to internacional. Memorias Universidad de Guadalajara Jalisco, México. Pg 274-278.

Franco M., F., (1997). Comportamiento fisiológico de diferentes variedades de tuna. Tesis de licenciatura, Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, México.

Frazier W. (1976). Microbiología de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia Zaragoza.

Gallegos V. (1994). Chapingo México. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH) (AUCH) (CIESTAAM). Pg 476.

Granados S. y D. Castañeda (1997). El nopal: historia, fisiología e importancia frutícola. México trilla. Pg 227.

Higareda R., A. (1994). Industrialización Integral del Nopal y de la Tuna. En Esparza

Méndez G. S. de J. (2000) Aportaciones Técnicas y experiencias de la producción de tuna en Zacatecas. Memorias Colegio Postgraduados, COCCAM, Morelos Zacatecas., México. Pg. 83-86

Kearney T.,H.,M. Puebles et al. (1951). Arizona Florida. University of California. Press.

Larpent J., P. (1995a). Las bacterias lácticas. En ICMSF, Microbiología alimentaria. Vol. 2, fermentaciones alimentarias. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España Pg. 3-17

Legaspi G., A. (2005). Programa de desarrollo rural. Proyecto: industrialización de la tuna cardona producida en el área forestal del ejido La Luz municipio de Guadalupe, Zacatecas, Zacatecas.

López j., j., (1997). Industrialización de la tuna cardona (extracto, 2000) Ecosistema *Opuntia streptacantha*. Vol. 3 Número 5 UAAAN. Pg 345-395.

López J., J., (1974) Industrialización de tuna cardona. Tesis de Licenciatura. Ecosistema de *Opuntia streptacantha*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Lozano G. M. (1958). Contribución al estudio de la industrialización del nopal (*Opuntia spp*) Tesis Ing. Agrónomo. Esc. Superior de Agronomía "Antonio Narro" Saltillo Coah. México.

Marroquín S., J., G. Borja L., R. Velásquez C. y S.A. de la Cruz (1964). Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Púb. Esp. 2. INIF-SAG México DF. Pg 133.

Padilla L., C. (2004). Obtención de licores y vinos a partir de tuna de duraznillo (*Opuntia leucotrica*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila México. Pg 21-25.

Peynaud E., B. (1976). Enología práctica y elaboración de vino. Ed. Acribia.

Pimienta B., E. (1995). Conocimiento y aprovechamiento del nopal, 6to Congreso nacional y 4to internacional, memorias. Universidad de Guadalajara. México. Pg 274-278.

Piña L., C., (1970). Región productora de tuna en le estado de Zacatecas. Cactáceas y suculentas mexicanas. Pg 54-70.

Ramírez V., A. (1992) caracterización del fruto del nopal tunero. Tesis de licenciatura, escuela de Agronomía, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas. México

Rzedowski J. (1957). Vegetación en las partes áridas de San Luís Potosí y Zacatecas. Revista de la sociedad Mexicana de Historia Natural. Pg 17, 76-100.

Sáenz Q. y Díaz C. (1990). Caracterización fisicoquímica de la tuna y 14 formas de nopal de selección CELAC. 11 congreso internacional sobre su conocimiento y aprovechamiento del nopal. Memorias.

Santos D., M., (2005). Producción de pigmentos por callos de *Mammillaria candida* Scheidweiler (cactáceae) agrociencia Vol. 39.

Sosa A., L. (1978). Fisiología y química del desarrollo del fruto del nopal tunero (*Opuntia amyaclea tenore*). Tesis MC. Universidad Autónoma de Chapingo.

Ulloa M., Herrera T., V. (1990). Pozal a fermented maize dough consumed in sootheastein. México simposium on indigenous fermented food, Bangkok, Tailandia.

Vega S., A. (2002) caracterización de una cepa nativa de *aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico. Universidad EAFIT, Medellín Colombia. Pg. 33-42.

Velásquez E. (1962). El nopal y su historia en México (reimpresión 1998). Clio libros y videos. Pg 62.

Zamarrón L., M. (1999). Exportación potencial de nopal tunero. Memoria del VIII congreso Nacional y VI internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento de la tuna y el nopal. San Luís Potosí, México. Pg. 115-116.

PÁGINAS WEBB

Biodiversidad 2006. [www.conabio.gob.mx/otros_biodiversitas_doctos_pdf_biodiv68 \(9\) pdf](http://www.conabio.gob.mx/otros_biodiversitas_doctos_pdf_biodiv68_9.pdf)

Aspergillus niger

<http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com/2010/03/teatro-de-los-microbios-3.html>

Ciclo de krebs

http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.elergonomista.com/biologia/krebs.JPG&imgrefurl=http://lambdacuanticos.blogspot.com/2010/01/feynman-explica-el-ciclo-de-krebs-o.html&usg=__O7VV60CbeVKY7daORydj

Sacharomyces cerevisiae

<http://www.diwinetaste.com/dwt/en2007010.php>

Sacharomyces cerevisiae

http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.scielo.org.ve/img/fbpe/rsv/m/v23n1/art12fig2.jpg&imgrefurl=http://www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3Ds1315-25562003000100012%26lng%3Dpt%26nrm%3Diso&usg=__i0LIITf_B69Z9Iq58vKiTYkluJQ=&h=409&w=594&sz=71&hl=es&start=24&sig2=ohfcE8JKV:&

7 ANEXOS

Anexo 1. Resultados de consumo de azúcares durante la cinética de fermentación mediante t-Student ($P \leq 0.05$).

TIEMPO (Hrs.)				PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
0	A			9.80
24	A	B		9.62
48	A	B		9.52
72	A	B		9.42
96		B		9.05
120		B		9.05
144			C	9.00
168			C	7.70

Anexo 2. Resultados de medias de incremento de grado alcohólico por prueba t-Student ($P \leq 0.05$)

TIEMPO (Hrs.)						PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
168	A					1.20
144		B				1.00
120		B				1.00
96			C			0.70
72				D		.015
48					E	0.00
24					E	0.00
0					E	0.00

Anexo 3. Resultados de comportamiento de acidez por t-Student ($P \leq 0.05$).

TIEMPO (Hrs.)			PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
0	A		3.891
24	A		3.981
48	A		3.88
72	A		3.87
96	A		3.85
120	A		3.84
144		B	3.72
168		B	3.68

Anexo 4. Resultados de las medias de comportamiento de ácido málico por prueba t-Student ($P \leq 0.05$)

TIEMPO (Hrs.)		PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
144	A	1.22
96	A	1.17
120	A	1.16
72	A	1.15
0	A	1.12
24	A	1.12
48	A	1.06
168	A	1.06

Anexo 5. Resultados de comportamiento de ácido tartárico por t-Student ($P \leq 0.05$)

TIEMPO (Hrs.)				PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
144	A			1.12
120	A	B		1.08
96	A	B	C	1.03
72	A	B	C	1.00
0	A	B	C	1.00
24		B	C	1.00
48		B	C	0.95
168			C	0.92

Anexo 6. Resultados de comportamiento de ácido cítrico mediante t-Student
($P \leq 0.05$)

TIEMPO (Hrs.)				PROMEDIOS ESTIMADOS MINIMOS CUADRADOS
144	A			1.07
120	A	B		1.03
96	A	B	C	0.99
72	A	B	C	0.96
0	A	B	C	0.96
24		B	C	0.90
48		B	C	0.90
168			C	0.88

Anexo 7. Técnica de microcultivo, Método de Pitt

Para identificación de *Aspergillus*, se deposita el inóculo en tres puntos equidistantes de cada placa del medio Czapek-Dox vaciado en sendas caja de Petri medianas, que se incuban a 25°C durante 7 días y si es necesario se prolonga hasta 14 ó 21 días (Pitt 1988, Klich & Pitt 1988, Pitt & Hocking 1997).

Microcultivo

Se deposita un cuadrado del medio Czapek-Dox sobre un portaobjetos previamente flameado y frío. Se siembra el hongo en sus bordes. Se coloca un cubreobjetos que también fue flameado y enfriado. Se apoya el conjunto sobre dos varillas de vidrio, dentro de una caja de Petri en cuyo fondo hay un papel absorbente estéril embebido en agua. Se incuba a temperatura ambiente con alternancia luz solar indirecta y oscuridad durante el tiempo necesario (Dade & Gunnell 1969). La figura 15 muestra un esquema de de la preparación de un microcultivo.

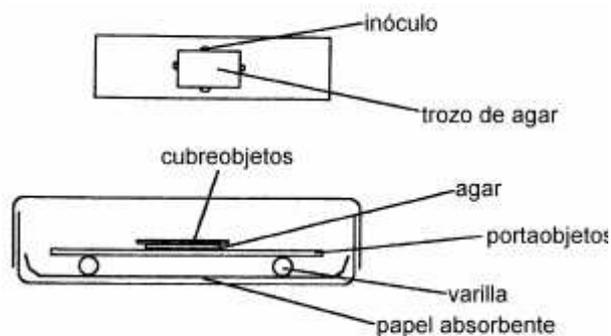


Figura 15. Técnica de microcultivo, por el método Pitt

Anexo 8. Preparación de Frotis y tinción, técnica descrita por Cortes (2001)

- Se deberán emplear portaobjetos perfectamente limpios y sin raspaduras para evitar interferencias en la observación.
 1. Flamear el portaobjetos para desengrasarlo.
 2. Si el cultivo es sólido, colocar una gota de agua en el centro del portaobjetos, y con el asa bacteriológica estéril, tomar una pequeña cantidad de material, emulsionar y extender uniformemente en una superficie aproximada de 1 c.
 3. Si la muestra es líquida, tomar directamente el material con el asa estéril y extenderlo uniformemente sobre la superficie indicada anteriormente.
 4. Dejar secar la extensión al aire.
 5. Una vez seca la extensión, fijarla al calor suave, pasando rápidamente el portaobjetos sobre la flama del mechero, sin calentar demasiado, unas 10 veces.
- Las extensiones deberán ser finas y uniformes para permitir el paso de la luz a través de ellas y facilitar su observación.

Preparar 2 extensiones a partir de cada cultivo

Tinción

1. Cubrir la extensión debidamente preparada con la solución colorante.
2. Dejar actuar el colorante por 1 minuto.
3. Lavar con agua corriente hasta eliminar exceso de colorante.
4. Dejar secar al aire o presionando el portaobjetos entre 2 capas de papel absorbente como papel filtro ó papel sanitario.
5. Una vez seca la extensión, colocar sobre ella una gota de aceite de inmersión y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.
6. Dibujar lo observado: