

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Evaluación de la aplicación de ácido kójico sobre las propiedades
nutricionales de germinados.**

Por:

MARITZA ANAHI ARMENTA DE LA CRUZ

TESIS

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Saltillo, Coahuila, México
junio 2025**

Evaluación de la aplicación de ácido kójico sobre las propiedades
nutricionales de germinados.

Por:

MARITZA ANAHI ARMENTA DE LA CRUZ

TESIS

Que se somete a la consideración del H. jurado examinador como
requisito para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprobada por:



Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor principal



Dra. Ana Verónica Charles

Rodríguez

Coasesor

M.C. Juan Fernando Soberón

Nakasima Cerda

Coasesor

Dr. Pedro Carrillo López

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Saltillo Coahuila.

junio de 2025

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

La suscrita **Maritza Anahi Armenta De la Cruz**, alumna del programa docente de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, con número de matrícula **41205832** y autora de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el "copiado y pegado" de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE

Maritza Anahi Armenta DLC.

Maritza Anahi Armenta De la Cruz

Tesista

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por brindarme la salud, la fortaleza y la sabiduría que hicieron posible la realización de esta investigación

Agradezco a mis padres Francisco Armenta Hernández, Agustina De La Cruz De Los Santos, por su apoyo incondicional, su amor y paciencia, por ser mi ejemplo de esfuerzo y perseverancia. A pesar de la distancia sus palabras de aliento y su confianza en mí han sido mi mayor inspiración, recordándome siempre que los sueños siempre se alcanzan con dedicación y esfuerzo.

Agradezco a mis hermanos Francisco Javier Armenta De La Cruz, Erick Rafael Armenta De La Cruz y hermana Noelia Armenta De La Cruz por ser mi apoyo e mi inspiración constante, por su compañía a pesar de la distancia y por creer en mí.

Agradezco a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por ser mi segundo hogar y por brindarme las herramientas necesarias para formarme como profesionalista.

Agradezco al Dr. Armando Robledo Olivo, por brindarme la oportunidad de desarrollar este proyecto de investigación bajo su asesoría. Su orientación y disposición para aclarar mis dudas, fueron fundamentales para la realización de este proyecto.

Agradezco al M.C. Juan Fernando Soberón-Nakasima Cerda, por su valiosa disposición para apoyarme en cada momento. Su orientación constante, su paciencia y conocimientos fueron de gran apoyo desde el inicio de este proyecto.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a mi padre Francisco Armenta Hernández, quien ha sido mi mayor apoyo durante esta investigación y toda mi carrera, por ser mi guía y fuente de inspiración. Sin su amor incondicional, su sabiduría y sobre todo su sacrificio, no estaría donde estoy hoy. Esta tesis es un reflejo de su esfuerzo y dedicación y este logro es tan suyo como mío.

RESUMEN

La creciente demanda de alimentos funcionales ha impulsado el estudio de germinados comestibles por su alto contenido de compuestos bioactivos con efectos antioxidantes. En la presente investigación, se evaluó el efecto del ácido kójico (AK) sobre la germinación, el desarrollo inicial, y la capacidad antioxidante de germinados de alfalfa, tomate y chile jalapeño. Las semillas fueron tratadas con tres concentraciones de AK (0.125, 0.250 y 0.500 g/L) y un tratamiento control en condiciones de luz y oscuridad. Se midieron variables fisiológicas y bioquímicas, como el índice de germinación, el contenido de proteína soluble, fibra cruda y la capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH. Los resultados mostraron que el AK tuvo efectos especie-dependientes. En tomate, la dosis media bajo oscuridad incrementó la actividad antioxidante. En alfalfa, se observaron niveles altos con dosis media en luz. En chile, la germinación y el vigor fueron favorecidos por dosis bajas en luz. Además, el AK aumentó el contenido de fibra cruda en chile y alfalfa, sin afectar significativamente la proteína soluble en alfalfa y tomate. Se concluye que el ácido kójico tiene potencial como bioestimulante para mejorar el perfil funcional y antioxidante de germinados comestibles, dependiendo de la especie, dosis y condiciones lumínicas aplicadas.

Palabras clave: Germinados comestibles, Ácido kójico, Capacidad antioxidante, Bioestimulante.

ABSTRACT

The growing demand for functional foods has driven the study of edible sprouts due to their high content of bioactive compounds with antioxidant effects. In the present investigation, the effect of kojic acid (KA), a phenolic compound, on the germination, early development, and antioxidant capacity of alfalfa, tomato, and jalapeño pepper sprouts was evaluated. Seeds were treated with three concentrations of KA (0.125, 0.250, and 0.500 g/L) and a control treatment under light and dark conditions. Physiological and biochemical variables, such as germination index, soluble protein content, crude fiber, and antioxidant capacity, were measured using the ABTS and DPPH methods. The results showed that KA had species-dependent effects. In tomato, the medium dose under darkness increased antioxidant activity. In alfalfa, high levels were observed with the medium dose under light. In chili, germination and vigor were favored by low light doses. Furthermore, KA increased the crude fiber content of chili peppers and alfalfa, without significantly affecting soluble protein in alfalfa and tomato. It is concluded that kojic acid has potential as a biostimulant to improve the functional and antioxidant profile of edible sprouts, depending on the species, dose, and light conditions applied.

Keywords: Edible sprouts, Kojic acid, Antioxidant capacity, Biostimulant

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. HIPÓTESIS.....	13
III. OBJETIVOS.....	13
3.1 Objetivo general.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
IV. ANTECEDENTES.....	14
4.1 Germinación.....	14
4.2 Desarrollo del área de los alimentos germinados en el tiempo.....	14
4.3 Compuesto antioxidante.....	18
4.4 Antioxidantes en los alimentos.....	19
4.5 Radicales libres.....	19
4.6 Ácido kójico.....	21
4.6.1 Propiedades físicas y químicas del ácido kójico.....	24
4.6.2 Actividades biológicas del ácido kójico.....	25
4.6.3 Mecanismo de acción del ácido kójico.....	26
4.6.4 Caracterización química y aplicaciones del KA en diversas industrias.....	27
V. METODOLOGÍA.....	29
5.1 Selección de semillas.....	29
5.2 Descripción del material experimental.....	29
5.3 Desinfección de semillas.....	29
5.4 Preparación de soluciones con diferentes concentraciones de ácido kójico.....	29
5.5 Descripción de los tratamientos.....	30
5.6 Estructuración del experimento en etapas.....	30
5.6.1 Etapa 1. Evaluación de semillas de chile jalapeño.....	31
5.6.2 Etapa 2. Evaluación de semillas de alfalfa y tomate saladette.....	31
5.7 Exposición de semillas a diferentes concentraciones.....	31
5.8 Ensayos de germinación de semillas.....	31
5.9 Influencia de la luz en la germinación de las semillas.....	32
5.10 Evaluación del pH de cada solución de ácido kójico.....	32
5.11 Homogenización de muestras para análisis.....	32
5.12 Determinación de fibra cruda.....	33

5.13	Determinación de proteína Bradford	34
5.14	Actividad antioxidante por ABTS Hidrofilico	35
5.15	Actividad antioxidante por DPPH.....	36
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
6.1	Análisis de potencial de hidrógeno	38
6.2	Capacidad antioxidante y contenido nutricional de germinados	39
6.2.1	Actividad antioxidante ABTS	39
6.2.2	Actividad antioxidante DPPH.....	42
6.2.3	Fibra cruda	48
6.2.4	Contenido de Proteína Soluble (Método de Bradford).....	50
6.3	Resultados y análisis de los bioensayos de germinación.....	52
VII.	CONCLUSIONES	58
VIII.	BIBLIOGRAFIA.....	60

I. INTRODUCCIÓN

A medida que las personas toman más conciencia sobre el vínculo entre la alimentación y la salud, la atención se está desplazando hacia la evaluación de mejores métodos para aumentar la funcionalidad de los alimentos. Recientemente, las semillas comestibles germinadas han ganado popularidad en las dietas humanas. Hoy en día, hay una mayor acumulación de una vasta reserva de conocimiento relacionado con las propiedades terapéuticas de los alimentos germinados. Según la Universidad Nacional de La Plata (2021), las semillas de leguminosas germinadas eran el principal tipo de brotes consumidos en la dieta humana, mientras que los granos de cereales germinados se han utilizado principalmente como forraje para animales. Sin embargo, actualmente, una gama diversa de alimentos germinados que se originan a partir de semillas como alfalfa, trigo sarraceno, repollo morado y brotes de brócoli se han vuelto populares y se consumen ampliamente en todo el mundo (Smith & López, 2020). La creciente popularidad de los germinados se explica por su alta concentración de compuestos bioactivos, tales como polifenoles, flavonoides y vitaminas, que han demostrado tener efectos antioxidantes significativos, capaces de neutralizar radicales libres y reducir el estrés oxidativo en el organismo. Además, investigaciones recientes indican que estos brotes poseen propiedades antivirales y pueden modular la respuesta inmunitaria, aumentando la producción de células inmunes clave. También se ha observado un potencial efecto antidiabético. Estas propiedades hacen que los germinados sean un alimento funcional relevante para la prevención y manejo de diversas enfermedades metabólicas y autoinmunes (Aloo, S. O., Ofosu, F. K., et. Al., 2021).

En las últimas décadas, la producción y el estudio de germinados comestibles han experimentado un notable crecimiento, impulsado por el reconocimiento de sus beneficios para la salud. Aloo et al. (2021) destacan que los germinados contienen diversos compuestos bioactivos, incluyendo antioxidantes, vitaminas y minerales, que contribuyen a mejorar la función inmunológica y a reducir el estrés oxidativo en

el organismo. El artículo también señala que, aunque se han realizado avances importantes en la comprensión de las propiedades funcionales de los brotes, persisten desafíos clave que requieren una mayor profundización. Entre estos aspectos específicos se incluyen la estandarización de los métodos de producción para garantizar la calidad y uniformidad del producto; la evaluación de la estabilidad de los compuestos bioactivos durante el almacenamiento y procesamiento; la necesidad de estudios clínicos a largo plazo que evalúen los efectos sobre la salud humana; y el control microbiológico para asegurar la inocuidad del producto final. Estos factores son esenciales para optimizar el uso de los germinados como alimentos funcionales y maximizar sus beneficios potenciales para la salud.

La industria ha lanzado cada vez más productos que contienen o están hechos de semillas germinadas. Durante la germinación de las semillas, se producen numerosos cambios, desde estructuras moleculares hasta macroscópicas. La germinación, reactiva el metabolismo de las semillas, lo que conduce al catabolismo y la degradación de macronutrientes y compuestos antinutricionales, así como a la biosíntesis de metabolitos secundarios con posibles beneficios para la salud. Estos cambios inciden en el valor nutricional y el potencial beneficioso para la salud de las semillas comestibles. Numerosos investigadores de todo el mundo han propuesto estrategias exitosas, como la elicitación, para encontrar las condiciones ambientales óptimas durante el crecimiento de los brotes, capaces de promover los resultados deseados (Penás, E., & Martínez-Villaluenga, C., 2020).

La producción y comercialización de germinados no solo ha ganado popularidad por su valor nutricional y su aporte a una alimentación más saludable, sino también por los beneficios económicos que puede generar, especialmente a nivel local y regional. Un ejemplo interesante es el de Sprout Food Hub en Minnesota, donde se documentó una aportación directa de 220,989 en la economía local en 2015, generando cuatro empleos y apoyando a productores locales. Para 2017, se esperaba un crecimiento aún mayor, con más de \$590,000 de impacto económico, cinco empleos directos y la participación de más de 75 productores locales. Este tipo de proyectos demuestra cómo la compra de productos locales puede

desencadenar un efecto positivo en otros sectores, ya que los productores también invierten en servicios como electricidad, transporte o contabilidad, y los salarios pagados se reintegran a la economía local. Por lo tanto, el cultivo y comercialización de germinados puede verse no solo como una actividad agrícola, sino también como una oportunidad para fortalecer las economías locales y regionales (Lazarus, 2016).

Durante la germinación, los polisacáridos se degradan en oligosacáridos y monosacáridos, las grasas en ácidos grasos libres, mientras que las proteínas en oligopéptidos y aminoácidos libres, procesos que contribuyen a los mecanismos bioquímicos de nuestro organismo. Mejoran la eficiencia de las enzimas que descomponen las proteínas y los carbohidratos y ácidos grasos, por lo que la germinación puede considerarse un tipo de predigestión que ayuda a descomponer los materiales complejos de alto peso molecular en sus componentes básicos; Durante la germinación, la cantidad de sustancias antinutricionales (inhibidor de tripsina, ácido fítico, pentosano, tanino) disminuye y, tras la germinación, también se detectan compuestos con efectos beneficiosos para la salud y propiedades fitoquímicas (glucosinolatos, antioxidantes naturales), que pueden desempeñar un papel importante. Por lo tanto, la germinación puede conducir al desarrollo de alimentos funcionales que tienen un efecto positivo en el organismo humano y contribuyen al mantenimiento de la salud (Márton, M., Mándoki, Z., et al., 2010).

En el presente estudio se evalúa la capacidad antioxidante de germinados de alfalfa, tomate, y chile sometidos a distintas concentraciones de ácido kójico. Se busca analizar el efecto de este compuesto sobre el potencial antioxidante de los germinados, considerando su relevancia en la industria alimentaria. La evaluación se llevó a cabo mediante ensayos espectrofotométricos para determinar la variación en la actividad antioxidante de los germinados en función de la concentración de ácido kójico aplicada.

II. HIPÓTESIS

Una concentración adecuada de ácido kójico en solución, permitirá incrementar la actividad antioxidante en germinados de consumo.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante que presenten los germinados de alfalfa, tomate, y chile, al someterse a diversas concentraciones de soluciones con ácido kójico comercial.

3.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar en cuanto a su potencial de hidrógeno, diversas soluciones con diferentes concentraciones de ácido kójico comercial.
2. Evaluar el efecto de las diversas soluciones de ácido kójico sobre la germinación de semillas de alfalfa, tomate, y chile jalapeño.
3. Valorar la capacidad antioxidante y contenido nutricional de los germinados de semillas de alfalfa, tomate, y chile jalapeño.

IV. ANTECEDENTES

4.1 Germinación

La germinación de semillas puede definirse como el proceso fundamental por el cual las especies vegetales crecen desde una sola semilla hasta convertirse en una planta. Influye tanto en el rendimiento como en la calidad de los cultivos y determina el uso eficiente de los nutrientes y los recursos hídricos. El ejemplo más común de germinación es el brote de una plántula a partir de una semilla de una angiosperma o gimnosperma. Durante la etapa inicial de la germinación, llamada imbibición, las semillas absorben agua rápidamente, lo que produce hinchazón y ablandamiento de la cubierta de la semilla a una temperatura óptima. La ruptura de las cubiertas de la semilla permite que emerjan la radícula y la plúmula. La semilla entonces activa su fisiología interna y comienza a respirar. Esta es una fase de retraso en la germinación de las semillas. El agua, la temperatura y el oxígeno son factores necesarios para la germinación de las semillas. Otros factores, incluidas las fitohormonas, el azúcar, los nutrientes e incluso el magnetismo, influyen en la germinación (Xue, X., Du, S., et al., 2021).

Los brotes son el crecimiento inmaduro que se produce a partir de una semilla germinada. Dependiendo del tipo de semilla, el brote generalmente se cosecha de 1 a 8 días después de la germinación. En el momento de la cosecha, el brote tendrá un tallo (de 2.5 a 7.5 cm de largo) y dos hojas pequeñas. Las variedades de brotes que se consumen más comúnmente son la alfalfa, el frijol mungo, el trébol rojo, el rábano, el brócoli y el pasto de trigo. Los brotes se consumen más comúnmente crudos o ligeramente cocidos, ya que proporcionan una textura crujiente a sándwiches, ensaladas y salteados (Baker, K., et al., 2016)

4.2 Desarrollo del área de los alimentos germinados en el tiempo

El desarrollo de alimentos germinados tiene una rica historia que abarca miles de años, evolucionando desde prácticas ancestrales hasta una tendencia moderna en alimentación saludable.

De acuerdo con Miyahira & Antunes, (2021) los brotes son de interés como alimento debido a varios factores, incluyendo su cultivo rápido y sencillo, incluyendo una producción más sostenible, una percepción del consumidor de valores como la frescura y la salud, además de la alta concentración de compuestos bioactivos (Reed et al., 2018). Los brotes son un alimento histórico, especialmente en países asiáticos, donde las plántulas se consumen tradicionalmente como un componente importante de la cocina (Benincasa et al., 2019). El consumo de brotes también ha aumentado en popularidad en otros países como resultado de la demanda del consumidor de alimentos más saludables y exóticos (Benincasa et al., 2019). Además, el consumo de brotes se ha popularizado en todo el mundo en las últimas décadas, debido a las preferencias del consumidor por alimentos con alto contenido de nutrientes y menos procesados (Peñas y Martínez-Villaluenga, 2020).

En los últimos años, la germinación se ha identificado como una estrategia prometedora para mejorar el valor nutricional de las semillas (Peñas y Martínez-Villaluenga, 2020). La germinación activa el metabolismo de las semillas, lo que conduce al catabolismo y la degradación de macronutrientes y compuestos antinutricionales, así como a la biosíntesis de metabolitos secundarios con posibles beneficios para la salud (Peñas y Martínez-Villaluenga, 2020).

De acuerdo con la investigación de (Aylen, A. M. 2021) los consumidores occidentales redescubrieron los germinados, hace 25 años, sin embargo, es el alimento “vivo” más antiguo que se conoce, en donde los germinados por su valor nutricional y terapéutico se consumen desde épocas muy remotas (calderón, 2015).

Aunque la idea de consumir germinados viene desde hace mucho tiempo, con personajes como Hipócrates y Ann Wigmore que promovieron sus beneficios, los estudios científicos recientes han confirmado sus beneficios nutricionales y terapéuticos. Investigaciones contemporáneas destacan que los germinados son fuentes concentradas en vitaminas, antioxidantes y otros compuestos bioactivos que ayudan a prevenir enfermedades como la diabetes, problemas del corazón y algunos tipos de cáncer (González et al., 2024; Al-Taher & Nemzer, 2023).

Por ejemplo, un estudio sobre el trigo germinado encontró que, al germinarse, el trigo aumenta sus antioxidantes y otras sustancias saludables, y además disminuye algunas cosas que pueden ser dañinas (González et al., 2024). También se ha visto que la germinación mejora el balance de grasas buenas, lo que es beneficioso para el corazón (Al-Taher & Nemzer, 2023).

Además, los germinados tienen mucha fibra, que es buena para el intestino y ayuda a mantener una microbiota saludable, lo que contribuye a una mejor digestión (Müller & Ziegler, 2025).

Por todo esto, aunque los germinados llevan siglos usándose, ahora la ciencia moderna nos confirma que son un alimento muy completo y beneficioso para nuestra salud.

Los germinados de brócoli son conocidos por su capacidad para estimular enzimas protectoras en el cuerpo, ayudando a prevenir el desarrollo de diversas enfermedades, incluido el cáncer. Esto se debe a la presencia de compuestos como el sulforafano, que se forma a partir de la glucorafanina en el brócoli, especialmente en sus brotes tiernos. Este compuesto natural actúa como un potente estimulador de las enzimas detoxificadoras de Fase II y de las enzimas hepáticas de Fase I, sirviendo como una línea de defensa frente a algunas enfermedades, como el cáncer (Racines, 2011).

Investigaciones recientes han confirmado que los germinados de brócoli contienen niveles significativamente más altos de sulforafano en comparación con el brócoli maduro. Investigaciones recientes, como la de Kasamatsu et al. (2023), han confirmado que los germinados de brócoli contienen niveles mucho más altos de sulforafano en comparación con el brócoli maduro. De hecho, encontraron que los brotes tienen una concentración de compuestos beneficiosos aproximadamente 20 veces mayor que las semillas, lo que sugiere que pueden ofrecer efectos antioxidantes y antiinflamatorios más potentes.

Además, otro estudio realizado por Zhang et al. (2023) mostró que una dieta que incluía brotes de brócoli cocidos al vapor ayudó a reducir la inflamación intestinal en modelos animales, gracias a los efectos positivos que estos germinados tienen sobre la microbiota intestinal.

Los brotes son un alimento rico en nutrientes que aporta diversas vitaminas y minerales. Según Cleveland Clinic Health Essentials, son bajos en calorías y ricos en fibra, lo que ayuda a regular los niveles de azúcar en sangre. También son una buena fuente de vitamina C, fósforo y magnesio. Además, aportan otros nutrientes como vitaminas del complejo B y minerales como calcio y potasio. Los brotes son una fuente natural potencial de diversos compuestos bioactivos con varios efectos beneficiosos para la salud en la prevención y el tratamiento de enfermedades Su contenido varía según el brote.

Por ejemplo, los microcomponentes de los brotes de alfalfa que incluyen oligoelementos como el cobre (Cu), el manganeso (K) y el selenio (Se) desempeñan papeles fundamentales en el control del estrés oxidativo y el equilibrio de radicales libres en varios procesos fisiológicos. El Mn, un componente de la superóxido dismutasa de manganeso (Mn-SOD), es una enzima que evita los efectos de los radicales libres en las mitocondrias. La alta concentración de Mn en los brotes de alfalfa puede ayudar a estimular la secreción de insulina y mejorar la función de la insulina en pacientes diabéticos. Por otro lado, el Cu es un componente de la citocromo oxidasa y desempeña un papel crítico como eliminador de oxígeno libre. Se forma una parte estructural de varias enzimas glutatión peroxidasa que actúan como reguladores en el estado redox de varias biomoléculas. Los brotes de alfalfa también son ricos en vitaminas como el complejo de vitamina B, vitaminas C y E. Además, un número diverso de compuestos fenólicos (ácidos gálico y cafeico), flavonoides (apigenina, kaempferol, miricetina, naringina quercetina, rutina, daidzeína y genisteína) se pueden encontrar en una cantidad sustancial en los brotes de alfalfa. Estos compuestos son responsables de antidiabético, antiobesidad, antioxidante, así como muchas otras actividades biológicas. Otros no fenoles como el componente saponina de la alfalfa juegan funciones biológicas

clave en el cuerpo. Se ha informado que las saponinas y sus derivados como las prosapogeninas y sapogeninas ejercen una alta actividad antimicrobiana contra levaduras y cepas bacterianas. Los estudios también revelan que las saponinas pueden inhibir las enzimas colesterol esterasa, acetil coenzima y carboxilasa, previniendo así la síntesis de ácidos grasos en el cuerpo. La función inhibidora de las saponinas sobre la síntesis de ácidos grasos ayuda a equilibrar la relación entre el colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) y el colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL) (Aloo, S. O., Ofosu, F. K., et. Al.,2021).

4.3 Compuesto antioxidante

Un antioxidante puede definirse como cualquier sustancia que puede retrasar o prevenir la oxidación de un sustrato cuando está presente en pequeñas cantidades en relación con la cantidad de sustrato.

Los compuestos antioxidantes son sustancias que protegen al cuerpo del daño causado por los radicales libres, que son moléculas inestables que pueden dañar las células y contribuir al desarrollo de enfermedades. Estos antioxidantes actúan en distintas etapas para detener el proceso de daño oxidativo, especialmente en la peroxidación lipídica, que es cuando las grasas de las células se dañan por estos radicales. Los antioxidantes funcionan de varias maneras: reducen la cantidad de oxígeno que puede iniciar el daño, eliminan los radicales libres que empiezan la reacción, bloquean metales que facilitan la formación de radicales, descomponen peróxidos antes de que formen más radicales, y rompen la cadena de reacciones para frenar el daño continuo (Lottenberg & Lavrador, 2018; Kumar et al., 2020).

El sistema antioxidante del cuerpo opera en tres niveles principales. El primero es enzimático y depende de minerales como manganeso, cobre, zinc y selenio, que ayudan a controlar la formación de radicales libres primarios. El segundo nivel incluye vitaminas como la C y la E, que evitan que los radicales secundarios continúen dañando las células. El tercer nivel ayuda a prevenir la formación de nuevos radicales y a eliminar moléculas dañinas para evitar más estrés oxidativo (Sies, 2017; Lobo et al., 2010).

Para que estas defensas funcionen bien, es importante mantener una dieta rica en estos minerales y vitaminas antioxidantes. La deficiencia en alguno de ellos puede debilitar la capacidad del cuerpo para protegerse del daño oxidativo, aunque en general, estos minerales se conservan bien en el organismo y las deficiencias graves son poco comunes en adultos sanos (Sies, 2017).

4.4 Antioxidantes en los alimentos.

Los compuestos antioxidantes están presentes de forma natural en una amplia variedad de alimentos, especialmente en los de origen vegetal. Estos compuestos incluyen ciertas vitaminas (como la C y la E), minerales (como el selenio y el zinc) y un grupo diverso de sustancias químicas vegetales conocidas como fitoquímicos, que incluye carotenoides, flavonoides, polifenoles y más.

4.5 Radicales libres

Los radicales libres son productos del metabolismo celular normal. Los radicales libres son átomos o moléculas que poseen uno o más electrones desapareados en su capa más externa, lo que les permite existir de manera independiente. Esta estructura los hace inestables, de vida corta y sumamente reactivos. Su elevada reactividad les permite sustraer electrones de otras moléculas para alcanzar una mayor estabilidad, lo que provoca que la molécula afectada también se transforme en un radical libre. Este proceso desencadena una reacción en cadena que puede ocasionar daños a las células vivas. (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Los radicales libres son moléculas que tienen electrones sin pareja, lo que las hace muy reactivas y que pueden dañar nuestras células, proteínas o incluso el ADN. Dos tipos muy importantes de estas moléculas son las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) y las Especies Reactivas de Nitrógeno (RNS).

Las ROS incluyen cosas como el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y el superóxido. Estas moléculas se forman normalmente en nuestro cuerpo durante procesos como la respiración, y tienen funciones útiles, como ayudar a las células a comunicarse o defenderse de gérmenes. Pero si se producen en exceso, pueden causar lo que llamamos estrés oxidativo, que es dañino para las células (Sies, 2017; Zhang et al., 2020).

Por otro lado, las RNS son moléculas que contienen nitrógeno, como el óxido nítrico y el peroxinitrito. También son importantes en el cuerpo para regular cosas como la presión arterial y la respuesta inmune, pero un exceso puede dañar las células y contribuir a enfermedades (Radi, 2018; Pacher et al., 2022).

En resumen, tanto las ROS como las RNS pueden ser buenas o malas, dependiendo de cuánto haya y cómo nuestro cuerpo las controle con antioxidantes (Liguori et al., 2018).

Tanto las ROS como las RNS, constituyen colectivamente los radicales libres y otras especies reactivas no radicales. Pero a mayor concentración, tanto ROS como RNS generan estrés oxidativo y estrés nitrosativo, respectivamente, causando daño potencial a las biomoléculas. El estrés oxidativo y el estrés nitrosativo se desarrollan cuando hay un exceso de producción de ROS/RNS por un lado y una deficiencia de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos por el otro. Más importante aún, el exceso de ROS puede dañar la integridad de varias biomoléculas, incluyendo lípidos, proteínas y ADN, llevando a un aumento del estrés oxidativo en varias enfermedades humanas tales como diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas, artritis reumatoide, cataratas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, así como en el proceso de envejecimiento (Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. 2015).

Entre las especies reactivas de oxígeno más relevantes en diversos procesos patológicos se encuentran el radical hidroxilo, el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete, el hipoclorito, el óxido nítrico y el peroxinitrito. Estas moléculas presentan una alta reactividad y pueden interactuar tanto con el núcleo como con las membranas celulares, ocasionando daños en componentes

esenciales como el ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. Al atacar estas macromoléculas, los radicales libres contribuyen al deterioro celular y a la pérdida del equilibrio funcional del organismo. Sus blancos pueden ser múltiples, aunque los lípidos, los ácidos nucleicos y las proteínas destacan como los más afectados (Lobo et al., 2010). Los radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno (ROS) se generan de manera continua en el organismo humano como resultado de funciones metabólicas normales, pero también pueden producirse por exposición a agentes externos como la radiación, la contaminación ambiental, el humo del tabaco y ciertos compuestos industriales. En el interior celular, estos radicales se forman tanto por vías enzimáticas, como las implicadas en la cadena respiratoria, la síntesis de prostaglandinas, la fagocitosis y el sistema del citocromo P-450, como por mecanismos no enzimáticos. Estos procesos, si bien son parte de la fisiología normal, pueden desencadenar un exceso de radicales libres que daña biomoléculas esenciales, afectando la salud celular y generando estrés oxidativo (Lobo et al., 2010).

4.6 Ácido kójico

El Ácido Kójico fue descubierto en 1907 por Saito en cultivos de *Aspergillus oryzae*. Este ácido es secretado principalmente por más de 58 cepas de hongos del género *Aspergillus*. Algunas de las especies que forman este ácido incluyen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acetobacter* y otras. Entre las especies de *Aspergillus*, sus principales productores son *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* (Tabla 1). Se utiliza en las industrias alimentaria y cosmecéutica para conservar o cambiar el color de las sustancias (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

Tabla 1. Producción de AK. Adaptado de Chaudhary, 2014.

Hongo	Toxinas	Características	Rendimiento de producción
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxinas, Aflatrem, Ácido aspergílico, Ácido ciclopiazónico, Ácido β -nitropiónico y Serigmatocictina	Patogenicidad: Generalmente es un contaminante pero también se sabe que causa enfermedades; comúnmente asociado con aflatoxinas Morfología macroscópica: Aterciopelado, de amarillo a verde o marrón, dorado inverso a marrón rojizo Morfología macroscópica de los conidióforos: Longitud variable, rugoso, picado, espinoso Morfología macroscópica de los conidióforos: Uniseriado y biseriado, cubre toda la vesícula, apunta en todas las direcciones	Alto
<i>Aspergillus oryzae</i>	Ácido de <i>Aspergillus</i> , ácido ciclopiazónico, ácido β -nitropropiónico de matoryzina, octotoxinas		Medio a alto
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxinas, ácido aspergílico y esterigmatocictina		Alto
<i>Aspergillus Tamaris</i>	Aflatoxinas		Bajo

El ácido kójico (el nombre «ácido kójico» deriva de «koji») es un producto químico que se obtiene de diversos tipos de hongos, como *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. tamaris* y *A. parasiticus* (Tabla 2). También se produce a partir de la fermentación de algunos alimentos asiáticos (por ejemplo, salsa de soja y vino de arroz), que actúa como cebador para el hongo o inóculo. El ácido kójico se comercializó por primera vez en 1955. Charles Pfizer and Company, EE. UU., fue la primera empresa en intentar desarrollar este producto. En los últimos años, entre las empresas productoras de ácido kójico se incluyen dos en China y tres en Japón, Suiza y EE. UU. El rápido crecimiento de las industrias y el descubrimiento de los usos potenciales del ácido kójico y sus derivados, generaron una gran demanda de este producto. El AK se clasifica dentro del grupo de los ácidos orgánicos, que se obtienen de diferentes tipos de hongos durante la fermentación aeróbica (Saeedi, M., Eslamifar, et al. 2019).

Tabla 2. Fuentes naturales de ácido kójico procedentes de diferentes aislados pertenecientes a diversas especies de hongos. Adaptada de El-Kady et al., (2014)

Familia	Género	Especie	
<i>Pleosporaceae</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	P.
	<i>Pleospora</i>	<i>herbarum</i>	<i>Pleospora</i>
	<i>Pleospora</i>	<i>allii</i>	
<i>Chaetomiaceae</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Chaetomium globosum</i>	
<i>Microascaceae</i>	<i>Microascus</i>	<i>Microascus brevicaulis</i>	
<i>Stachybotryaceae</i>	<i>Stachybotrys</i>	<i>Stachybotrys chartarum</i>	
	<i>Stachybotrys</i>	<i>Stachybotrys theobromae</i>	

<i>Torulaceae</i>	<i>Torula</i>	<i>Torula herbarum</i>
<i>Hypocreaceae</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma hamatum</i> , <i>Trichoderma koningii</i> , <i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. polysporum</i>
<i>Nectriaceae</i>	<i>Acremonium</i> <i>Fusarium</i>	<i>Acremonium strictum</i> <i>Fusarium aquaeductuum</i> , <i>F. chlamydosporum</i> <i>F. equiseti</i> , <i>F. lateritium</i> <i>F. moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i> <i>F. proliferatum</i> , <i>F. solani</i> <i>F. subglutinans</i> , <i>F. tricinctum</i>
<i>Cunninghamellaceae</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella echinulata</i>
<i>Mucoraceae</i>	<i>Mucor</i>	<i>Mucor circinelloides</i> , <i>Mucor. Fuscus</i>
<i>Syncephalastraceae</i>	<i>Syncephalastrum</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
<i>Trichocomaceae</i>	<i>Penicillium</i>	<i>P. Capsulatum</i> , <i>P. lividum</i> , <i>P. spinulosum</i> <i>P. funiculosum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. rugulosum</i> , <i>P. albidum</i> , <i>P.</i> <i>atramentosum</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> <i>P. janthinellum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. coryophilum</i> , <i>P. camemberti</i> <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. cyaneofulvum</i> <i>P. cyclopium</i> , <i>P. digitatum</i> , <i>P. expansum</i> <i>P. frequentans</i> , <i>P. godlewski</i> , <i>P. nigricans</i> , <i>P. somniferum</i> , <i>P. viridicatum</i>
<i>Trichocomaceae</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A. Candidus</i> , <i>A. phoenicis</i> , <i>A. melleus</i> <i>A. Ochraceus</i> , <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. Sulphureus</i> , <i>A. fumigatus</i> <i>A. flavus</i> , <i>A. flavus var. columnaris</i> <i>A. Oryzae</i> , <i>A. Parasiticus</i> <i>A. tamarii</i> , <i>A. wentii</i> , <i>A. aculeatus</i> <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavipes</i> <i>A. Janus</i> , <i>A. sydowii</i> <i>A. versicolor</i> , <i>A. nidulans</i>

Se sugieren varios métodos para el análisis de AK en diversas industrias, incluyendo voltamperometría, espectrofotometría, cromatografía en columna con detección ultravioleta, cromatografía en capa fina, cromatografía de gases con o sin ionización de llama, detección por espectrometría de masas, cromatografía en columna de biogel P-2 y cromatografía líquida de alta resolución con matriz de fotodiodos o detección ultravioleta (Saeedi, M., Eslamifar, et al. 2019).

4.6.1 Propiedades físicas y químicas del ácido kójico

El ácido kójico, cuyo nombre químico es 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona y tiene la fórmula molecular $C_6H_6O_4$, posee una estructura en forma de anillo. Esta configuración le otorga varias propiedades importantes, como baja acidez, la capacidad de unirse a metales como el cobre y el hierro (acción quelante), además de tener efectos antimicrobianos. Estas características hacen que su demanda crezca especialmente en la industria de la salud (Soberón-Nakasima-Cerda et al., 2025) El AK es un compuesto heterocíclico con una estructura como se muestra en la Figura 1 (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

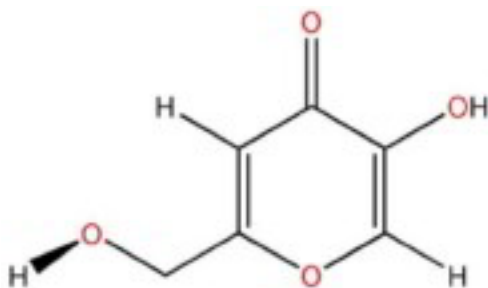


Figura 1. Estructura química del ácido kójico, adaptada de Hasil et al., 2020.

Los cristales de Ácido Kójico son aciculares e incoloros, y subliman en el vacío sin variaciones. El Ácido Kójico es soluble en algunos disolventes orgánicos, como acetato de etilo, agua y etanol. Es poco probable que se disuelva en éter, mezclas de alcohol y éter, cloroformo y piridina. El punto de fusión del Ácido Kójico se encuentra entre 151 y 154 grados Celsius ($^{\circ}C$). Según la técnica de crioscopia, el peso molecular del Ácido Kójico es 142.1 y su pico máximo del espectro de absorción UV está entre 260 y 284 nanómetros (nm) (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

El Ácido Kójico es un ácido débil con usos multidimensionales. Reacciona en todas las posiciones del anillo, formando así varios productos, como éteres, piridinas, quelatos metálicos, colorantes azoicos, base de Manich, piridinas y productos de cianoetilación. Se han estudiado varias reacciones químicas del Ácido Kójico a lo

largo de los años desde su aislamiento. En la posición de carbono-5 de este compuesto, el hidroxilo se convierte en un ácido débil, formando así sales cuando reacciona con metales como cadmio, níquel, cobre, zinc y sodio debido a sus propiedades débilmente ácidas. La introducción de nuevos grupos funcionales en el esqueleto del Ácido Kójico a través de la hidroxiketona o el hidroxialquilo permite mejorar la solubilidad de los complejos posteriores (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022). Los nombres comunes del AK se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Diagrama esquemático de Nombres Comerciales, Nombres Técnicos y Nombre Comercial de AK. Adaptado de Saeedi, et al, (2019)

A	B	C
<ul style="list-style-type: none"> • KA • KASL • Melanobleach-K • OriStar KA • Rita KA • Tonelite KA • AEC KA 	<ul style="list-style-type: none"> • 5-hydroxy-2-hydroxymethyl-4 pyrone • 5-hydroxy-2-hydroxymethyl -4H-pyran-4-One 	<ul style="list-style-type: none"> • Dermawhite HS • Melarrest A • Melarrest L • Vegewhite • Botacenta 175

4.6.2 Actividades biológicas del ácido kójico

La literatura disponible indica que este ingrediente tiene diversas actividades biológicas, las cuales se enumeran a continuación.

El AK tiene propiedades antifúngicas y antibacterianas. Ensayos previos de actividad antimicrobiana mostraron que el AK era más activo contra bacterias gramnegativas que contra bacterias grampositivas. Sin embargo, algunos de sus derivados han mostrado efectos contradictorios distintos de la actividad antibacteriana del AK. El AK y sus derivados poseen una potente actividad contra bacterias como *Staphylococcus aureus* (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

Estudios de Zhang et al., (2017) demostraron que el AK mejoró la respuesta al estrés oxidativo en hongos, mostrando así la capacidad antioxidante de este metabolito. Otros estudios de bioactividad anteriores sobre el AK revelaron que tiene propiedades antioxidantes. Lajis et al., 2012 investigaron la correlación entre la actividad antimelanogénica con los efectos oxidativos del AK y los ésteres de AK.

Los resultados del estudio mostraron que tanto el AK como sus ésteres tenían actividades leves de eliminación de radicales libres en concentraciones que oscilaban entre 1.95 y 1000 µg/mL (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

El AK puede ejercer ligeros efectos antiinflamatorios que pueden mejorar favorablemente mediante la derivación posterior de derivados de AK seleccionados. En un estudio reciente para desarrollar un compuesto antiinflamatorio seguro, se sintetizó un derivado de AK y ácido p-cumárico, ya que se sabe que tienen propiedades antiinflamatorias. (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

El AK se considera uno de los mejores agentes aclaradores de la piel en la industria de la belleza. Ejerce una inhibición reversible lenta y efectiva de la tirosinasa, previniendo así la formación de melanina, y también juega un papel importante en la formación de melanina celular. Según los datos disponibles de varios estudios, se puede utilizar como monoterapia o combinado con otros agentes. (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

4.6.3 Mecanismo de acción del ácido kójico

La AK es un tipo de metabolito secundario, cuya vía de biosíntesis continúa siendo incierta hasta la fecha. Sin embargo, se afirma que quela iones divalentes y actúa como inhibidor de la tirosinasa y eliminador de radicales libres. Funciona quelando el cobre (Cu^+) en el sitio activo de la enzima tirosinasa. La enzima tirosinasa, también conocida como polifenol oxidasa, limita la tasa de síntesis de melanina y es responsable de convertir la L-tirosina en L-3,4-dihidroxifenilalanina. Pertenece a la familia de proteínas que contienen cobre tipo 3, con dos iones de cobre (CuA y CuB) en el sitio activo. CuA y CuB catalizan la conversión de monofenoles (por ejemplo, tirosina) en o-difenoles (actividad monofenolasa), seguida de la oxidación de los o-difenoles a los derivados de o-quinona resultantes (actividad difenolasa) (Figura 2). (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

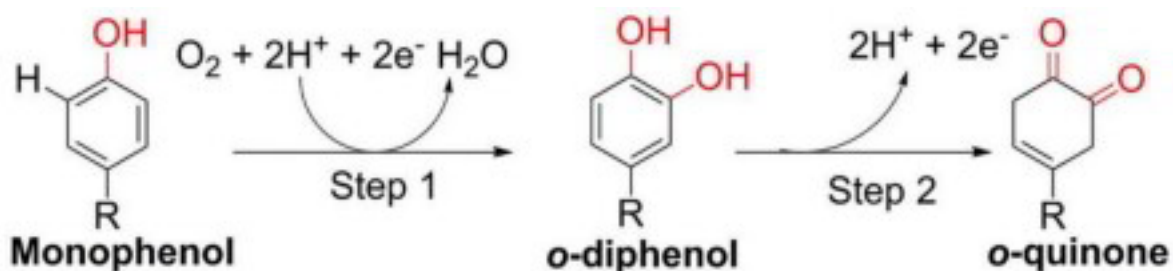


Figura 2. Reacción catalizada por la tirosinasa. Adaptado de Lai et al., (2018)

Los agentes de baja pigmentación se pueden clasificar generalmente según la etapa de la producción de melanina que se interrumpe. Esto depende de si los agentes pueden actuar antes, durante o después de la producción de melanina. El AK actúa durante la síntesis de melanina, mostrando un efecto inhibitor suficiente sobre la actividad de la monofenolasa y un efecto inhibitor variable sobre la actividad de la difenolasa de la tirosinasa de hongos. (Phasha, V., Senabe, J., et al 2022).

4.6.4 Caracterización química y aplicaciones del KA en diversas industrias

El AK es una molécula multiagente con un anillo gamma-pirona reactivo y baja acidez. El AK es reactivo en su propio anillo en cualquier situación, por lo que podría utilizarse en la producción de algunos productos con valor industrial, como quelatos metálicos, piridonas, piridinas, éteres, colorantes azoicos, base de Manich y productos de cianoetilación. (Saeedi, M., Eslamifar, et al. 2019).

Desde su separación, se han investigado numerosas reacciones químicas funcionales del AK durante varias décadas. El grupo hidroxilo en el carbono 5 del anillo gamma-pireno confiere a la molécula de AK una propiedad ácida débil, lo que conduce a la formación de sales por parte de algunos metales como el sodio, el zinc, el cobre, el calcio, el níquel y el cadmio. (Saeedi, M., Eslamifar, et al. 2019).

El ácido kójico es conocido por su amplia aplicación en diversas industrias, como la alimentaria, la farmacéutica, la cosmética, la agrícola y la medioambiental. Se distribuye de forma natural en la comida tradicional asiática. Además, el beneficio

más notable del ácido kójico y sus derivados se encuentra en medicamentos para uso humano y veterinario como compuestos biológicos activos. (Saeedi, M., Eslamifar, et al. 2019).

V. METODOLOGÍA

El proceso de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas dentro del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

5.1 Selección de semillas

El proceso de investigación comenzó con la selección de semillas que se evaluaron, que incluyeron chile jalapeño (*Capsicum annuum*), alfalfa (*Medicago sativa*), tomate saladette (*Solanum lycopersicum*). Para el proceso de investigación, se utilizaron 400 semillas de cada tipo.

5.2 Descripción del material experimental

Las semillas utilizadas en el proceso de investigación fueron adquiridas en presentación comercial en sobres, disponibles en establecimientos especializados en la venta de semillas para cultivo.

5.3 Desinfección de semillas

El primer paso consistió en desinfectar las semillas para eliminar cualquier posible contaminante. Para ello, se sumergieron las semillas en etanol al 75% durante 60 segundos y luego se enjuagaron con agua destilada. El etanol utilizado fue preparado previamente a partir de una solución al 99.5%, utilizando una simple regla del tres para calcular la cantidad necesaria y obtener la concentración deseada.

5.4 Preparación de soluciones con diferentes concentraciones de ácido kójico

La solución madre de ácido kójico 12.3 g/L

Para obtener la concentración de 0.125 g/L de ácido kójico se preparó una disolución de 247.45 ml de H₂O agregándole 2.55 g/L de AK.

Después para obtener la concentración de 0.250 g/L de AK se diluyeron 244.925 ml de H₂O agregándole 5.075 de AK.

Y para obtener la concentración de 0.500 g/L de AK se diluyeron 239.825 ml de H₂O agregándole 10.17 de AK.

Teniendo las concentraciones requeridas se agregó cada solución a un matraz Erlenmeyer y se etiquetaron de acuerdo con la concentración correspondiente, también se etiquetó un matraz denominado “control” al cual solo se le agregó agua destilada. (Tabla 4).

5.5 Descripción de los tratamientos

Se aplicaron 3 tratamientos y un control (sin aplicación de ácido kójico), obteniendo 4 tratamientos con 5 repeticiones por cada tratamiento sumando un total de 120 unidades experimentales. La relación de tratamientos y sus respectivas concentraciones se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Relación de tratamientos y dosis utilizadas de ácido kójico.

Tratamientos	Concentración
T0	Agua destilada (control)
DB	0.125 g/L
DM	0.250 g/L
DA	0.500 g/L

5.6 Estructuración del experimento en etapas.

El experimento se dividió en dos etapas debido a que se contaba con un total de 120 unidades experimentales. Esta división permitió facilitar su evaluación, asegurando un mejor control y seguimiento de las variables en estudio.

5.6.1 Etapa 1. Evaluación de semillas de chile jalapeño

En esta primera etapa, se evaluaron un total de 40 unidades experimentales, correspondientes a chile jalapeño.

5.6.2 Etapa 2. Evaluación de semillas de alfalfa y tomate saladette.

En esta etapa, se evaluaron un total de 80 unidades experimentales, distribuidas equitativamente entre alfalfa y tomate saladette.

5.7 Exposición de semillas a diferentes concentraciones

Las semillas fueron sometidas a diferentes concentraciones de tratamiento para evaluar su efecto en el proceso de germinación. De las 400 semillas de cada tipo se utilizaron 100 semillas por concentración (tabla 4). estas fueron sumergidas en las soluciones correspondientes previamente preparadas y etiquetadas en los matraces Erlenmeyer por 24 horas, asegurando una adecuada absorción del tratamiento.

5.8 Ensayos de germinación de semillas

Los bioensayos de germinación se realizaron de acuerdo con Paredes-Camacho y col., 2024.

Posteriormente, pasadas las 24 horas utilizando la campana de flujo laminar y para llevar a cabo la investigación en un ambiente estéril. Las semillas fueron colocadas (sembradas) en papel filtro de poro fino en placas Petri estéril de 90 mm.

Se colocaron 10 semillas por placa y 5 placas por tratamiento (T0, 0.125, 0.250, 0.500 g/L) esto por duplicado ya que se tomó en cuenta el colocar las semillas en condiciones de luz y oscuridad. Una vez colocadas las semillas sobre el papel filtro en las cajas Petri, se humedecieron con suficiente agua destilada estéril. Finalmente, las cajas fueron selladas con parafilm para mantener condiciones adecuadas de humedad y evitar la contaminación.

5.9 Influencia de la luz en la germinación de las semillas

Durante el proceso de observación en la germinación, se evaluó el efecto de la exposición a la luz y la obscuridad en el desarrollo de las semillas. Se establecieron condiciones controladas para cada tratamiento, permitiendo analizar como la disponibilidad de luz influía en la germinación.

5.10 Evaluación del pH de cada solución de ácido kójico

El análisis del potencial de hidrógeno (pH) se realizó directamente sobre las soluciones previamente preparadas de ácido kójico correspondientes a los tratamientos: dosis baja (0.125 g/L), dosis media (0.250 g/L), dosis alta (0.500 g/L) y a la solución madre de ácido kójico.

Las mediciones se llevaron a cabo utilizando un potenciómetro digital de bolsillo marca OHAUS, modelo ST20, previamente calibrado con soluciones buffer estándar de pH 4.00 y 7.00. A temperatura ambiente (~23°C), se midió directamente el pH de cada solución en un vaso de precipitados, realizando cada lectura y registrando el valor inmediato.

5.11 Homogenización de muestras para análisis

Las muestras utilizadas para los análisis se prepararon a partir de los germinados frescos. Se tomaron 10 gramos de biomasa fresca por tratamiento, los cuales fueron triturados manualmente en un mortero hasta obtener una masa homogénea. Posteriormente, el material molido fue transferido a tubos tipo Eppendorf previamente etiquetados, donde se les añadió agua destilada en una proporción 1:4 (masa/volumen), es decir, 40 mL por cada 10 g de muestra.

Cada tubo fue agitado durante unos segundos utilizando un agitador vortex, para asegurar la homogeneidad de la mezcla antes. Luego, las muestras fueron centrifugadas para separar la fracción líquida del sedimento sólido. La muestra líquida obtenida tras la centrifugación fue el extracto utilizado en los análisis de capacidad antioxidante, contenido de fibra cruda y proteína soluble.

Las muestras fueron conservadas en congelación durante el periodo en que se realizaron los análisis, con el fin de preservar su estabilidad fisicoquímica y evitar la degradación de los compuestos bioactivos.

5.12 Determinación de fibra cruda

El procedimiento específico empleado para la medición de fibra cruda en los tratamientos evaluados:

El contenido de fibra cruda en la muestra se obtuvo a través de un proceso de digestión con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio, seguido por la calcinación del residuo sólido. Para ello, se pesaron 1 gramos de la muestra, la cual se colocó en un vaso de precipitado de 400 mL y se le añadieron 100 ml de solución de ácido sulfúrico 0.255 N. Se instaló una parrilla de calentamiento ajustada a 90°C-100°C y se llevó a ebullición durante 30 minutos, moviendo periódicamente el vaso de precipitado para evitar que las partículas se adhirieran a las paredes. Posteriormente, se filtró la mezcla utilizando un embudo de plástico y tela de lino como filtro, y se lavó el residuo con agua desionizada caliente. A continuación, se transfirió el residuo a un vaso de precipitado con 100 ml de solución de NaOH 0.313 N, y se dejó hervir por 30 minutos de igual manera en la parrilla de calentamiento ajustada 90°C-100°C. Después del tiempo de ebullición, se filtró nuevamente el hidrolizado, y el residuo se lavó con agua desionizada caliente. Los residuos de las muestras se pasaron a crisoles previamente tratados y secos para meterlos a la estufa de secado en la parrilla de calentamiento a 100°C-105°C hasta eliminar la humedad presente en las muestras y luego se pesó en una balanza analítica rápidamente tras enfriar por un periodo de 15 minutos en un desecador. Posteriormente, el crisol se sometió a calcinación en una mufla a 600 °C durante dos horas, se enfrió en el desecador y se pesó en la balanza analítica para obtener el contenido de ceniza. La fórmula para obtener el porcentaje de fibra total fue la siguiente:

Fórmula 1. Cálculo del porcentaje de fibra total

$$\%FC = \frac{(\text{Peso crisol con fibra Seca} - \text{peso crisol mas ceniza mas fibra})}{\text{gramos de muestra desengrazada}} * 100$$

5.13 Determinación de proteína Bradford

Esta es una técnica espectrofotométrica, basada en el complejo entre las proteínas solubles con el colorante azul de Comassie. El colorante azul de Comassie G-250 existe en dos diferentes formas: rojo y azul. La forma roja se convierte en azul mediante la unión del pigmento a las proteínas. El complejo proteína-pigmento tiene un alto coeficiente de extinción lo cual resulta en una alta sensibilidad para la medición de proteína. La unión del pigmento a la proteína es un proceso rápido (alrededor de 2 minutos) y el complejo proteína-pigmento permanece disperso en la solución durante un tiempo relativamente largo (1 hora, aproximadamente), esto hace de la técnica un procedimiento rápido y no requiere de un control estricto del tiempo de reacción. (Bradford, M. M., 1976).

Preparación del reactivo de Bradford: se disuelven 100 mg del colorante Azul de Comassie G-250 en 50 mL de etanol al 95 %. Se agregan 100 mL de ácido fosfórico 85 % (p/v). La solución se diluye en agua destilada y se afora a 1 L. El reactivo debe protegerse de la luz y filtrarse antes de su uso. Se puede sustituir la filtración por centrifugación a 2000 rpm durante 10 min, desechando el precipitado. . (Bradford, M. M., 1976).

Se realizó un micro-ensayo para determinar la concentración de proteína. En un tubo de ensayo, se colocaron 0.040 mL de la muestra con una concentración de 10 a 100 ppm de proteína. A continuación, se adicionaron 0.15 mL del reactivo de Bradford, se agitó la mezcla y se dejó reposar a temperatura ambiente. Simultáneamente, se preparó un tubo blanco con 0.040 mL de agua (o el buffer apropiado) y 0.15 mL del reactivo de Bradford. La absorbancia a 595 nm del tubo con la muestra se midió entre 2 minutos y 1 hora después de realizada la reacción, utilizando el tubo blanco como referencia. Para calcular la concentración de proteína

en la muestra, se elaboró una curva patrón utilizando Albúmina de huevo como estándar (1000 ppm).

5.14 Actividad antioxidante por ABTS Hidrofilico

Determinar la actividad antioxidante de un alimento mediante el método ABTS es importante porque permite cuantificar la capacidad de los antioxidantes del alimento para neutralizar los radicales libres. Esto es crucial para comprender el potencial de un alimento para proteger contra el daño celular causado por el estrés oxidativo y para evaluar la calidad y durabilidad del alimento.

La generación del catión radical ABTS [ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] es la base de uno de los métodos espectrofotométricos empleados para evaluar la capacidad antioxidante total en soluciones de sustancias puras, mezclas acuosas y bebidas. La versión optimizada de esta técnica permite generar directamente el cromóforo azul verdoso $ABTS^{\bullet+}$ mediante la reacción entre ABTS y persulfato de potasio. Este radical presenta picos de absorción a 645 nm, 734 nm y 815 nm, además de un máximo frecuentemente utilizado en 415 nm, según lo reportado previamente. La adición de antioxidantes al catión radical preformado reduce su ABTS, en una extensión y en una escala de tiempo que depende de la actividad antioxidante, la concentración del antioxidante y la duración de la reacción. Por lo tanto, el grado de decoloración como inhibición porcentual del catión radical $ABTS^{\bullet+}$ se determina como una función de la concentración y el tiempo y se calcula en relación con la reactividad de Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones. El método es aplicable al estudio de antioxidantes tanto hidrosolubles como liposolubles, compuestos puros y extractos de alimentos. (Re, R., Pellegrini, N., et al. 1999).

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó de acuerdo con el método descrito por Guía-García et al. 2021, utilizando el radical libre ABTS. Para el ensayo se emplearon tubos Eppendorf, micropipetas (de 100 y 200 μ L), puntillas y placas de 96 pocillos. Los reactivos utilizados fueron la solución de trabajo de ABTS, agua destilada y una solución de agua:etanol (50:50).

Para la preparación del reactivo ABTS, en un matraz de aforación de capacidad de 10 mL. se disolvieron 38.4 mg de ABTS en 10 mL de agua destilada, para obtener una concentración de 7 mM, Después, se pesaron 6.62 mg de persulfato de potasio en otros 10 mL de agua destilada, para obtener una concentración de 2.45 mM. Ambas soluciones se mezclaron y se dejaron reaccionar durante 16 horas a 4°C, protegidas de la luz. El día del análisis, la solución de trabajo se diluyó con etanol al 20% hasta obtener una absorbancia de 0.700 ± 0.01 a 750 nm.

Para el procedimiento se colocaron 10 μ L de la muestra diluida en una microplaca de 96 pocillos, y se mezclaron con 200 μ L de la solución de trabajo de ABTS. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante 10 minutos, protegida de la luz. Posteriormente, se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un lector de microplacas. Los resultados se expresaron como el porcentaje de actividad neutralizante del radical ABTS (%RSA) mediante la siguiente fórmula:

Fórmula 2. Cálculo del porcentaje de actividad neutralizante del radical ABTS (%RSA).

$$\%RSA = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{muestra}}{Abs_{control}} \right) * 100$$

5.15 Actividad antioxidante por DPPH

Evaluar la actividad antioxidante mediante el método DPPH en alimentos es importante porque permite cuantificar la capacidad de los alimentos para neutralizar radicales libres, lo que ayuda a entender su impacto en la salud y a determinar su calidad.

El radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) es un compuesto utilizado principalmente para medir la capacidad antioxidante de diversas sustancias. Fue descubierto en 1922 por Goldschmidt y Renn, y más tarde empleado por Blois en 1958 para evaluar la actividad antioxidante. Este radical se caracteriza por su color violeta intenso y estable, lo que lo hace adecuado para pruebas espectrofotométricas. Su estructura química se estabiliza gracias a la

deslocalización de un electrón sobrante, lo que le permite mantenerse en estado monomérico y absorber luz a 517 nm. Cuando el DPPH interactúa con un antioxidante, el radical se reduce a la forma de hidracina (DPPH-H), lo que provoca la desaparición del color violeta. Esta reacción se puede cuantificar fácilmente mediante espectrofotometría UV-Vis, permitiendo evaluar la actividad antioxidante de compuestos como extractos de hierbas o productos farmacéuticos. El DPPH es soluble en solventes orgánicos polares, como metanol y etanol, pero prácticamente insoluble en agua, y es ampliamente utilizado por su simplicidad, rapidez y la facilidad para medir la capacidad de donación de hidrógenos de los antioxidantes. (Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. 2023).

La actividad antioxidante de los germinados tratados con ácido kójico fue determinada utilizando el método del libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), conforme a la metodología descrita por Charles-Rodríguez et al. (2020), con adecuaciones pertinentes al presente estudio.

Para la preparación de la solución de DPPH se pesaron 1.18 mg de DPPH y se disolvieron en 20 mL de etanol absoluto. La solución fue mantenida en agitación, protegida de la luz durante al menos 2 horas antes de su uso, para asegurar su correcta disolución.

Para el procedimiento se tomaron 25 µL de extracto de germinados (tratados o no con ácido kójico), y se mezclaron con 200 µL de la solución de DPPH en cada pocillo de la placa. La mezcla fue agitada suavemente y se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos, protegida de la luz. Posteriormente, se midió la absorbancia a 520 nm en un lector de microplacas. La capacidad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición del radical DPPH (%RSA), calculado mediante la siguiente fórmula:

Fórmula 3. Cálculo del porcentaje de inhibición del radical DPPH (%RSA).

$$\%RSA = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{muestra}}{Abs_{control}} \right) * 100$$

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis de potencial de hidrógeno

El potencial de hidrógeno (pH) es una medida de la acidez o basicidad de una solución. El pH es la concentración de iones o cationes hidrógeno [H⁺] presentes en determinada sustancia (Quimica.es). A las diferentes soluciones de AK comercial, se les determinó el potencial de hidrógeno (pH), los resultados de muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Cuantificación de pH a las diferentes soluciones de AK.

Concentración	pH
DB (0.125)	3.05
DM (0.250)	2.95
DA (0.500)	2.69
AK	2.16

Se observó una disminución del pH conforme aumenta la concentración del AK.

Esta disminución del pH es coherente con el comportamiento esperado de un ácido, ya que al aumentar su concentración, se incrementa también la cantidad de iones hidrógeno [H⁺] presentes en la solución, lo que provoca un descenso en el valor del pH. Esto concuerda con la definición teórica del potencial de hidrógeno, que se describe como el logaritmo negativo de la concentración de dichos iones (Quimica.es)

Los resultados indican que el AK tiene un carácter ácido moderado a fuerte, y que su acidez aumenta con la concentración.

6.2 Capacidad antioxidante y contenido nutricional de germinados

6.2.1 Actividad antioxidante ABTS

El análisis de la actividad antioxidante en alimentos fue de gran relevancia, ya que los compuestos antioxidantes pueden ayudar a prevenir el daño oxidativo en el organismo, lo cual se ha relacionado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas. En el caso de los germinados, su consumo representó una fuente potencial de compuestos bioactivos con beneficios para la salud humana (Lobo et al., 2010; Dutta et al., 2014).

Para determinar la actividad antioxidante en los germinados, se aplicó el método del radical ABTS, siguiendo la metodología descrita por Guía-García et al. (2021). Los resultados se expresaron como porcentaje de actividad neutralizante del radical ABTS (%RSA) y se analizaron mediante ANOVA, y posteriormente se aplicó la prueba de Fisher para comparar las medias ($p < 0.05$).

Chile: el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.001$), lo que indicó que la aplicación de ácido kójico influyó en la capacidad antioxidante de los germinados. Los valores más altos de %RSA se observaron en los tratamientos DA_OBS (236.3 %), DB_LUZ (230.2 %), DA_LUZ (210.0 %) y DB_OBS (207.3 %), los cuales no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí (grupo A). En contraste, los tratamientos DM_OBS (149.8 %) y DM_LUZ (131.0 %) mostraron los valores más bajos, siendo este último significativamente inferior (grupo C) (Figura 3).

Estos resultados sugieren que las dosis altas y bajas de ácido kójico favorecieron una mayor actividad antioxidante en los germinados de chile, especialmente bajo condiciones de oscuridad. Se ha reportado que estas condiciones pueden inducir un estrés moderado que estimula la síntesis de compuestos fenólicos, los cuales contribuyen a la capacidad antioxidante (Xu et al., 2005; Sestili et al., 2007).

Por el contrario, la dosis media (0.250 g/L) mostró un efecto menos favorable, posiblemente por un umbral intermedio que no activó suficientemente las rutas de defensa antioxidante. Esto coincide con estudios previos que mencionan que ciertas concentraciones de compuestos fenólicos pueden modular de manera diferencial la

expresión de enzimas relacionadas con la actividad antioxidante (Pérez-Balibrea et al., 2011).

Tomate: en los germinados de tomate, los valores de %RSA variaron entre tratamientos. Los tratamientos que presentaron mayores promedios fueron DB_OBS (370.0 %) y DB_LUZ (292.4 %), seguidos por DM_OBS (337.6 %) y DM_LUZ (321.1 %). El tratamiento T0_OBS presentó un valor intermedio (240.0 %), mientras que los tratamientos con DA, tanto en condiciones de luz como de oscuridad, registraron los valores más bajos (alrededor de 220.0 %RSA) (figura 4).

El análisis estadístico ANOVA mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, y la prueba de Fisher indicó que DB_OBS y DM_OBS se agruparon en la categoría con mayor actividad antioxidante, mientras que DA_OBS, DA_LUZ y T0_LUZ conformaron el grupo con menor actividad. Estos resultados sugirieron que las dosis bajas y moderadas de ácido kójico mejoraron la capacidad antioxidante de los germinados de tomate, particularmente en condiciones de oscuridad.

Alfalfa: en los germinados de alfalfa, los mayores valores de %RSA se registraron en DA_OBS (382.3 %), DM_LUZ (383.8 %) y T0_OBS (326.0 %). Los tratamientos con DB mostraron valores ligeramente menores, aunque aún elevados (entre 313.9 a 324.4 %). Los valores más bajos se observaron en T0_LUZ y DA_LUZ, con promedios entre 240.0 y 256.0 %RSA (figura 5)

La prueba de comparación de medias reveló que DM_LUZ y DA_OBS se ubicaron en el grupo con mayor actividad antioxidante, siendo significativamente diferentes del grupo con menor respuesta. Esto indicó que, a diferencia de lo observado en tomate, en alfalfa las dosis altas y medias, bajo ciertas condiciones (luz u oscuridad), favorecieron una mayor actividad antioxidante.

Estos resultados refuerzan la importancia de evaluar el efecto de antioxidantes naturales, como el ácido kójico, sobre cultivos destinados al consumo humano, ya que pudieron incrementar su valor nutricional mediante el aumento de compuestos

antioxidantes, los cuales son fundamentales para la prevención de enfermedades crónico-degenerativas (Pisoschi & Pop, 2015; Liu, 2013).

La Figura 6. muestra cómo la efectividad del ácido kójico varió según el tipo de germinado. La dosis baja (DB) resultó ser la más efectiva en germinados de tomate, mientras que la dosis media (DM) destacó especialmente en alfalfa. Por el contrario, en chile, fue la dosis alta (DA) bajo oscuridad la que presentó la mayor actividad antioxidante. Estas diferencias sugieren que la respuesta a los tratamientos fue dependiente tanto de la especie vegetal como de la dosis y las condiciones de luz u oscuridad.

Figura 3. Actividad antioxidante (ABTS, %RSA) en germinados de chile

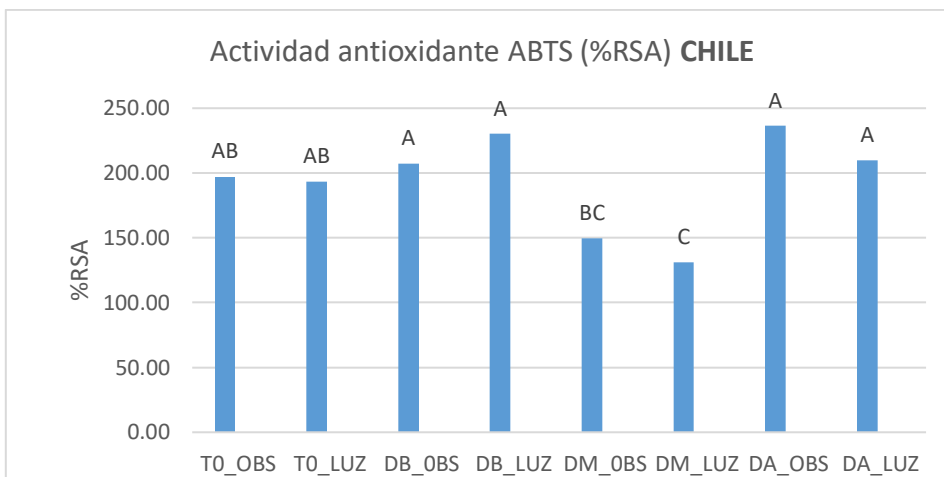


Figura 4. Actividad antioxidante (ABTS, %RSA) en germinados de tomate

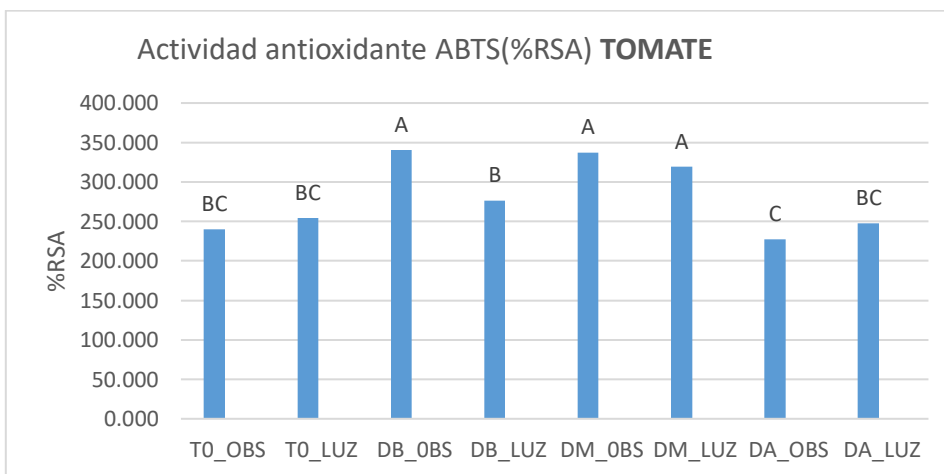


Figura 5. Actividad antioxidante (ABTS, %RSA) en germinados de alfalfa

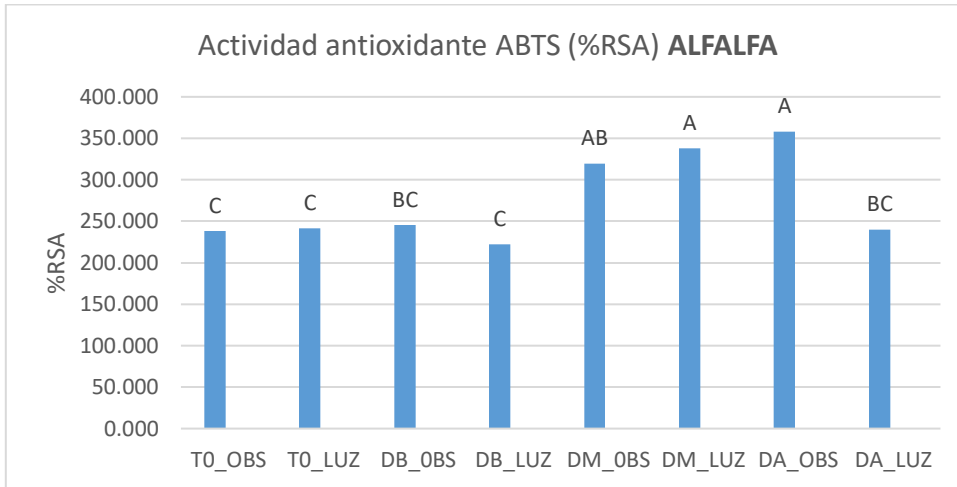
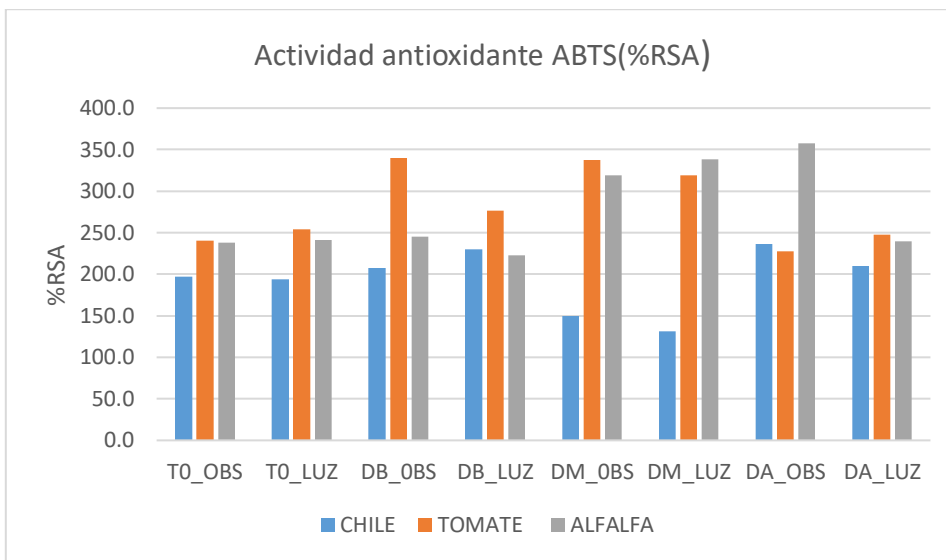


Figura 6. Comparación general de la actividad antioxidante (ABTS,%RSA)



6.2.2 Actividad antioxidante DPPH

La evaluación de la actividad antioxidante en alimentos, incluidos los germinados, es fundamental debido al papel que desempeñan los compuestos antioxidantes en la neutralización de radicales libres, los cuales están implicados en procesos como el envejecimiento celular y el desarrollo de enfermedades crónicas, entre ellas el cáncer, afecciones cardiovasculares y trastornos neurodegenerativos. En particular, se ha documentado que la germinación puede incrementar notablemente el

contenido de compuestos bioactivos como polifenoles y flavonoides, lo que mejora el valor nutracéutico y funcional de los germinados (Cortés-Marín et al., 2023). Para cuantificar esta capacidad, uno de los métodos más utilizados es el método DPPH, por su simplicidad, rapidez y reproducibilidad al evaluar extractos vegetales (Zamora Guevara et al., 2022).

La actividad antioxidante de los germinados se determinó mediante el método del radical DPPH, siguiendo la metodología de acuerdo con Charles-Rodríguez et al. (2020). Los resultados se expresaron como porcentaje de actividad neutralizante del radical DPPH (%RSA) y fueron analizados mediante ANOVA, seguido de la prueba de comparación de medias de Fisher ($p < 0.05$).

En general, los tratamientos no generaron efectos uniformes entre especies lo que sugiere una respuesta dependiente de cada especie, posiblemente influenciada por su fisiología, metabolismo secundario y sensibilidad al ácido kójico.

En los germinados de **chile**, no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad antioxidante ($p = 0.162$), de acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA). Los valores promedio oscilaron entre 48.92% (DM_OBS) y 63.33% (DB_LUZ). El tratamiento DB_LUZ presentó el valor más alto, mientras que DM_OBS fue el más bajo (Figura 7).

Según el análisis de comparaciones múltiples de Fisher, agrupó los tratamientos en dos principales categorías: un grupo con mayor actividad antioxidante (grupo A), que incluyó DB_LUZ, DA_LUZ, DA_OBS, DB_OBS y DM_LUZ; y otro con menor actividad (grupo B), conformado por DM_OBS y T0_LUZ. El T0_OBS se ubicó entre ambos grupos (AB). Esto sugiere que la combinación de luz con dosis bajas de ácido kójico podría haber tenido un efecto sinérgico favorable sobre la actividad antioxidante.

Esto podría indicar que, en chile, el ácido kójico no actúa directamente como inductor antioxidante bajo estas condiciones, aunque la exposición a la luz pudo favorecer respuestas fisiológicas relacionadas con la síntesis de compuestos fenólicos, como se ha descrito en otras solanáceas (Sharma et al., 2019).

En el caso de los germinados de **tomate**, el ANOVA sí reveló diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p = 0.000$). El tratamiento DM_OBS presentó el valor más alto de actividad antioxidante (85.60%), mientras que DA_OBS fue el más bajo (64.90%) (figura 8).

El análisis comparaciones de Fisher agrupó los tratamientos en cinco categorías (A a D). DM_OBS se ubicó en el grupo A, siendo significativamente diferente del control (T0_OBS) y de las dosis altas (DA_OBS y DA_LUZ), que se agruparon en el grupo D. se observó que tratamientos con luz y dosis bajas o medias, como DB_LUZ y DM_LUZ, mostraron actividad elevada, ubicándose en grupos intermedios (AB y BCD).

Estos resultados indican que tanto la dosis como la condición de oscuridad influyeron notablemente, siendo más favorable la combinación de oscuridad con dosis medias de ácido kójico.

Una posible explicación es la interacción entre la concentración intermedia del ácido y la ausencia de luz, lo cual coincide con lo reportado por Cabanes et al. (1994), quienes señalaron que el ácido kójico actúa como inhibidor de enzimas prooxidantes como la tirosinasa, especialmente en condiciones donde no hay generación de radicales libres por fotooxidación. Además, en oscuridad, podría reducirse la oxidación espontánea de metabolitos sensibles, facilitando una mayor disponibilidad de compuestos antioxidantes.

En los germinados de **alfalfa**, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p = 0.475$). El tratamiento con mayor actividad antioxidante fue DB_OBS (66.1%), y el de menor actividad fue T0_OBS (53.80%) (figura 9).

La comparación de Fisher agrupó la mayoría de los tratamientos en el grupo AB, con excepción del tratamiento DB_OBS, que se posicionó en el grupo A, y T0_OBS en el grupo B. indicando que, aunque no hubo diferencias globales significativas, se notó una tendencia hacia una mayor actividad antioxidante con dosis bajas en oscuridad.

Este comportamiento puede deberse a una menor sensibilidad de esta leguminosa al ácido kójico o a una respuesta antioxidante más estable, menos influenciada por factores externos. Estudios anteriores han indicado que, en especies como la alfalfa, la capacidad antioxidante está más relacionada con factores genéticos que con tratamientos de corta duración (Prior et al., 2005).

Los resultados obtenidos evidencian que la respuesta de la actividad antioxidante al tratamiento con ácido kójico varía de forma considerable entre especies y según la condición de luz. En chile y alfalfa no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, lo que sugiere que el ácido kójico no tuvo un impacto claro en estas especies bajo las condiciones evaluadas. En cambio, en tomate sí se observó un efecto positivo, particularmente en el tratamiento con dosis media en oscuridad, lo que indica una posible interacción favorable entre la concentración del ácido y la ausencia de luz.

Este comportamiento podría explicarse, en parte, por la naturaleza del ácido kójico como un quelante de iones metálicos y un inhibidor de procesos oxidativos mediados por enzimas como la tirosinasa (Cabanés et al., 1994). También se ha reportado que puede actuar como antioxidante indirecto al disminuir la presencia de especies reactivas de oxígeno, especialmente en ambientes con baja iluminación donde la generación de radicales por foto activación es menor (Kim et al., 2008). Esto podría explicar por qué los tratamientos en oscuridad, especialmente en tomate, presentaron mayor actividad antioxidante.

En resumen, la actividad antioxidante inducida por ácido kójico fue dependiente de la especie y modulada por la condición lumínica. La combinación de dosis media y oscuridad resultó ser la más efectiva en tomate, mientras que en chile y alfalfa no se observaron efectos relevantes. Estos hallazgos podrían ser útiles para considerar el uso del ácido kójico como inductor de mecanismos antioxidantes en cultivos hortícolas, particularmente bajo condiciones controladas de luz.

En la figura 10. se observa que, aunque el patrón de respuesta varía por especie, en general las dosis bajas bajo condiciones de luz tienden a mostrar mayor actividad antioxidante.

Figura 7. Actividad antioxidante (DPPH, %RSA) en germinados de chile tratados con diferentes concentraciones de ácido kójico bajo condiciones de luz y oscuridad.

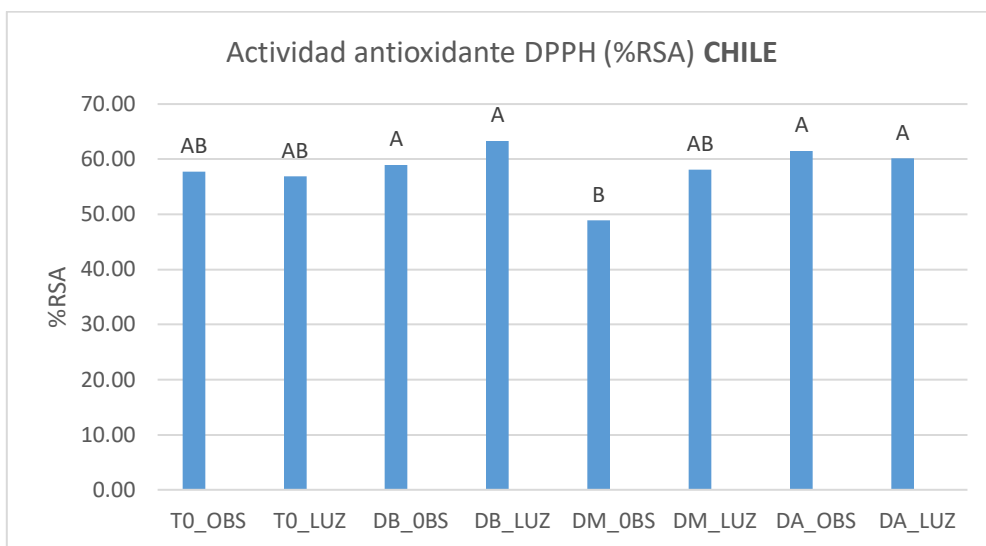


Figura 8. Actividad antioxidante (DPPH, %RSA) en germinados de tomate tratados con diferentes concentraciones de ácido kójico bajo condiciones de luz y oscuridad.

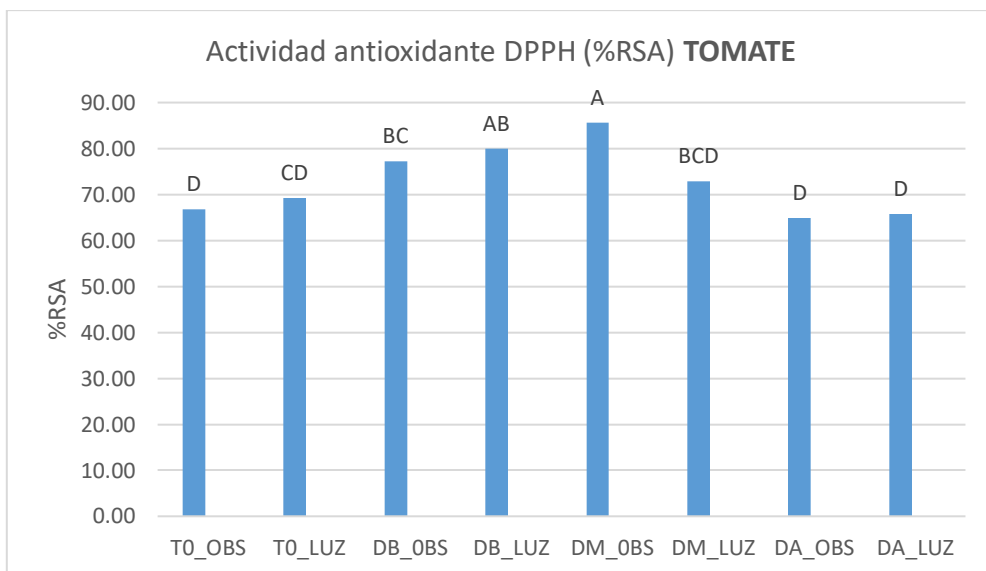


Figura 9. Actividad antioxidante (DPPH, %RSA) en germinados de alfalfa tratados con ácido kójico en distintas condiciones lumínicas.

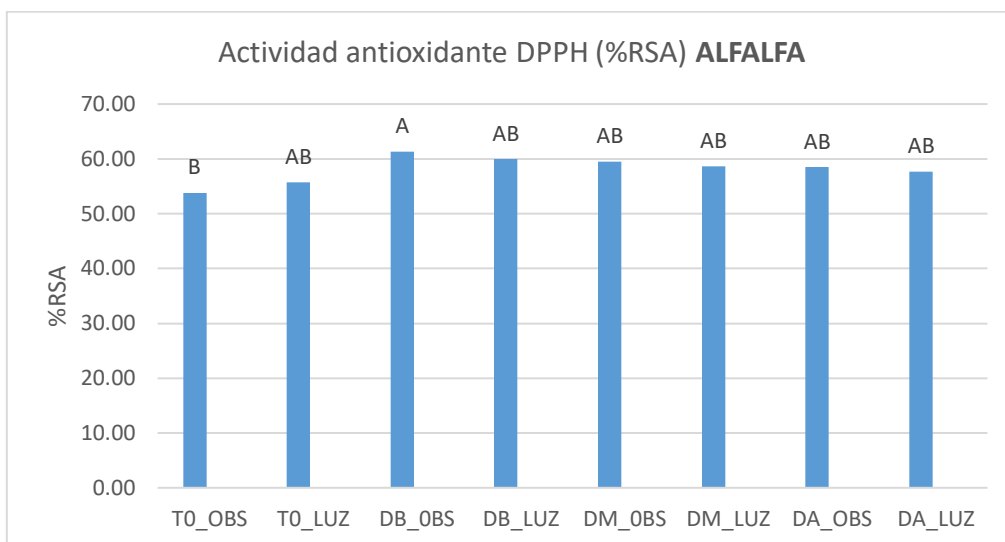
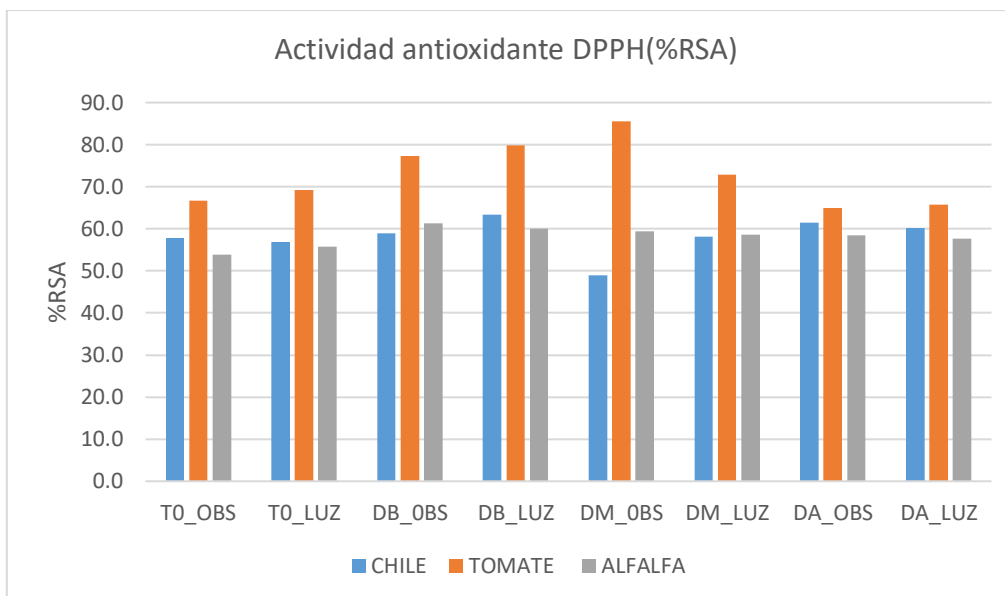


Figura 10. Comparación general de la actividad antioxidante (DPPH, %RSA) en germinados de chile, tomate y alfalfa



6.2.3 Fibra cruda

La evaluación del contenido de fibra cruda, aunque no es la medida más precisa de la fibra dietética total, proporciona una estimación de la celulosa y la lignina en los germinados, que son componentes de la fibra insoluble. Al conocer el contenido de fibra cruda, se puede comparar la cantidad de fibra insoluble en los germinados con la de otros alimentos, lo que puede ayudar a entender su valor nutricional en comparación con otros productos.

En total se analizaron 24 muestras, correspondientes a cuatro tratamientos (T0 control, y tres concentraciones crecientes de ácido kójico DB, DM y DA), cada uno por duplicado, diferenciando entre condiciones lumínicas.

Los resultados obtenidos muestran que el contenido de fibra cruda en germinados varía significativamente en función del tipo de semilla, el tratamiento con ácido kójico y la condición lumínica.

En el caso de **chile**, el tratamiento DM (OBS) presentó el mayor contenido de fibra cruda (5.53%), superando incluso al tratamiento control T0 (4.45% bajo luz). Este incremento podría estar relacionado con el potencial del ácido kójico para inducir estrés moderado, lo cual ha sido reportado como un factor que estimula la síntesis de compuestos estructurales como celulosa y hemicelulosa en plántulas (Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

Para el **tomate**, se observaron bajos niveles de fibra en todos los tratamientos, sin una tendencia clara de respuesta al ácido kójico. Esto podría deberse a que el tomate, en etapas tempranas de germinación, prioriza la formación de tejidos blandos y no lignificados, como lo sugieren estudios de Martínez-Flores et al. (2016), quienes reportaron baja acumulación de fibra en brotes de solanáceas.

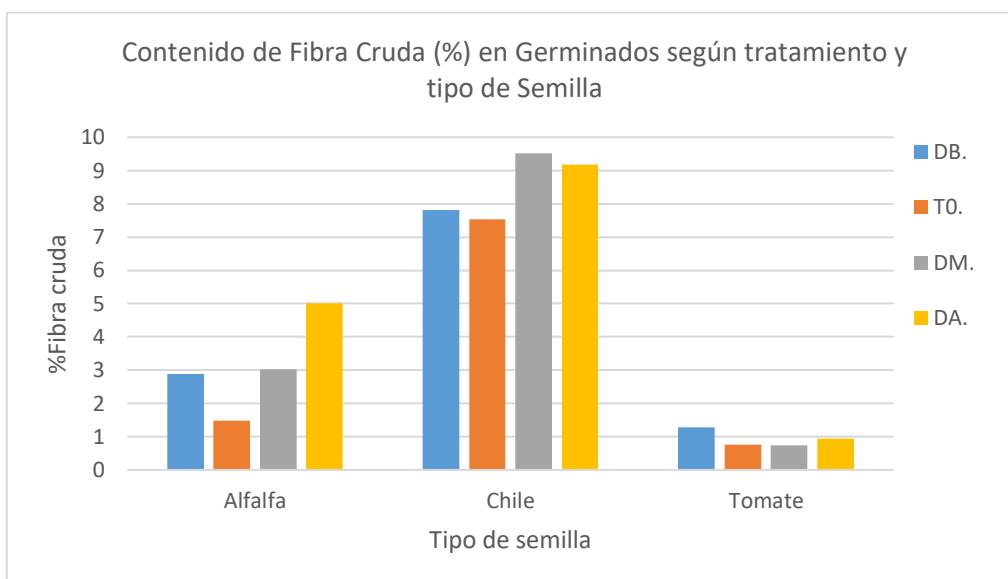
En **alfalfa**, se evidenció una respuesta positiva al tratamiento con ácido kójico. El contenido de fibra cruda fue mayor en los tratamientos DM y DA, particularmente bajo luz 2.41% y 2.60% respectivamente. Esto coincide con lo reportado por Chen et al. (2020), donde la exposición de germinados de alfalfa a condiciones

controladas de estrés incrementó los niveles de fibra insoluble como mecanismo de protección estructural.

En cuanto a la condición lumínica, se puede inferir que la oscuridad tuvo un efecto más notorio en chile y alfalfa. Esto podría atribuirse a la activación de rutas metabólicas alternativas durante la germinación en ausencia de luz, que favorecen la síntesis de compuestos de la pared celular (Moreno et al., 2015).

Los resultados se ilustran en la Figura 11, donde se observa un incremento significativo de la fibra cruda en chile bajo el tratamiento DM, comparado con el control T0. En contraste, el tomate mostró poca variación entre tratamientos, mientras que la alfalfa presentó mayor contenido de fibra en los tratamientos DM y DA.

Figura 11. Contenido de fibra cruda (% Fc) en germinados de chile, tomate y alfalfa bajo diferentes tratamientos con ácido kójico.



6.2.4 Contenido de Proteína Soluble (Método de Bradford)

El análisis del contenido de proteína soluble, determinado con el método de Bradford, mostró diferencias significativas únicamente en la especie chile. Mientras que, en tomate y alfalfa, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

En chile, el análisis de varianza (ANOVA) indicó una diferencia altamente significativa entre tratamientos ($p = 0.000$). El tratamiento T0_OBS presentó el mayor contenido promedio de proteína soluble ($1779.0 \mu\text{g/ml}$), mientras que el tratamiento con la dosis alta de ácido kójico DA_OBS mostró la menor concentración ($807.0 \mu\text{g/ml}$) (Figura 12). Esta disminución sugiere que tanto la aplicación de ácido kójico como la ausencia de luz podrían estar afectando negativamente la producción o estabilidad de proteínas solubles en esta especie.

Este posible efecto del ácido kójico sobre las proteínas ya ha sido documentado en estudios previos, donde se ha observado que puede interactuar con residuos aminoacídicos, provocando cambios en su estructura y disminuyendo su funcionalidad (Chen et al., 2024). Aunque este estudio se enfocó en proteínas animales, los mecanismos descritos podrían aplicarse también a plantas, especialmente en condiciones de estrés abiótico.

Además, se ha reportado que la luz es un factor ambiental crucial que regula la expresión de genes involucrados en la síntesis de proteínas y mecanismos antioxidantes. Por ello, los tratamientos bajo condiciones de luz mostraron valores intermedios de proteína soluble en comparación con los de oscuridad, lo cual indica que la luz podría atenuar el efecto negativo del ácido kójico, posiblemente al activar respuestas fotomorfogénicas protectoras (Wang et al., 2023).

En cuanto al **tomate** y la **alfalfa**, los análisis no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.589$ y $p = 0.445$, respectivamente) lo cual sugiere una mayor estabilidad del contenido de proteína soluble frente al ácido kójico y a las condiciones lumínicas evaluadas. Aunque hubo ligeras variaciones numéricas entre promedios, no fueron estadísticamente relevantes según la prueba de comparación múltiple de Fisher (figura 13 y 14). Esto indica que en estas especies el contenido

de proteína soluble se mantuvo relativamente estable frente a los cambios en luz y la aplicación de ácido kójico.

Estos resultados nos permiten concluir que el efecto del ácido kójico sobre la proteína soluble parece depender de la especie, siendo el chile más sensible a este tipo de estrés, sobre todo en ausencia de luz. Esta sensibilidad podría deberse a diferencias fisiológicas como el perfil antioxidante, la capacidad de regeneración celular o la tasa de degradación de proteínas entre especies.

En conjunto, los resultados del presente estudio apoyan la hipótesis de que los bioactivos como el ácido kójico pueden alterar el metabolismo proteico en plantas, y que la iluminación actúa como un modulador importante.

Figura 12. Contenido de proteína soluble en germinados de chile.

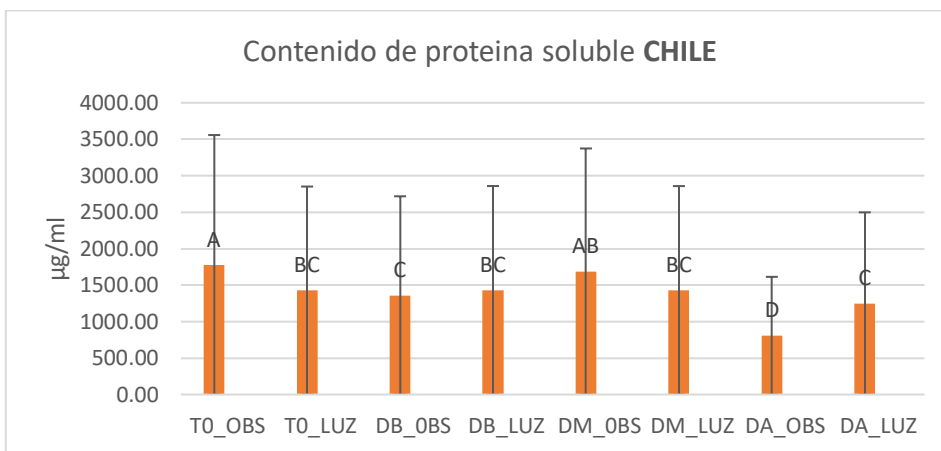


Figura 13. Contenido de proteína soluble en germinados de alfalfa.

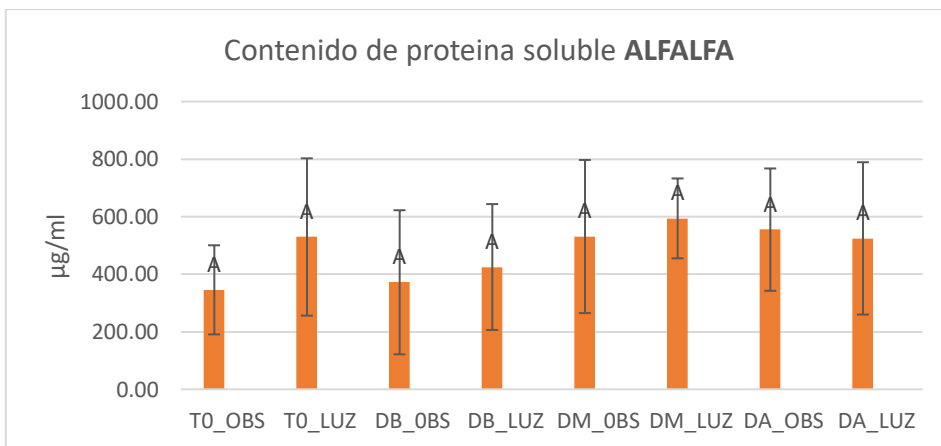
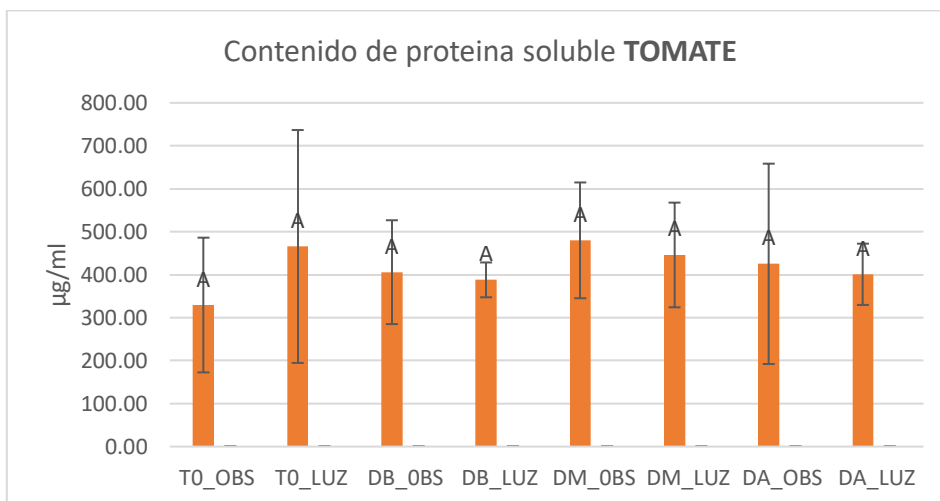


Figura 14. Contenido de proteína soluble en germinados de alfalfa.



6.3 Resultados y análisis de los bioensayos de germinación.

Con el objetivo de evaluar el efecto del ácido fólico sobre la germinación y desarrollo inicial de plántulas, se llevó a cabo un bioensayo utilizando semillas de chile, tomate y alfalfa, expuestas a diferentes concentraciones de ácido fólico (0.125, 0.250 y 0.500 g/L), así como a un tratamiento control con agua destilada (T0). Posteriormente, las semillas fueron colocadas en condiciones de luz y oscuridad para observar posibles interacciones con el factor luminoso. A lo largo de 14 días, se registraron variables fisiológicas clave como el porcentaje de germinación, índice de germinación (IG), tiempo medio de germinación (TMG), índice de vigor de plántula (IVP), longitud de la radícula, longitud del tallo y altura total de la plántula. A continuación, se muestran los resultados correspondientes a cada especie., considerando los efectos de los tratamientos y condiciones ambientales.

En **chile**, general, se observaron variaciones significativas entre tratamientos tanto en la germinación como en el desarrollo de las plántulas:

Porcentaje de germinación (%G): El tratamiento con mayor % de germinación fue DB_LUZ (52%), seguido de T0_LUZ (52%) y DB_OBS (50%), indicando que la dosis baja de AK bajo luz u oscuridad no afectó negativamente la germinación. En cambio,

DM_OBS (26%) y DA_LUZ (36%) mostraron los porcentajes más bajos, lo que sugiere que concentraciones medias y altas podrían inhibir la germinación.

Índice de germinación (IG): Los valores más altos se registraron en DA_OBS (0.73) y DB_OBS (0.64), indicando una germinación más rápida bajo oscuridad. El tratamiento DM_OBS presentó el menor valor (0.34), lo cual refuerza el efecto negativo a concentraciones medias.

Tiempo medio de germinación (TMG): El menor TMG se observó en DA_OBS (8.12 días), indicando una germinación más rápida en ese tratamiento. El valor más alto fue T0_LUZ (9.29 días), siendo la mayoría de los tratamientos similares, con valores alrededor de los 9 días.

Longitud de radícula y tallo: la longitud de radícula fue mayor en DA_OBS (1.03 cm) y la más corta en DA_LUZ (0.41 cm). La mayor longitud de tallo se presentó en DB_LUZ (0.98 cm), indicando que la luz, en combinación con una dosis baja, favorece el crecimiento del tallo.

Altura total de la plántula: el mayor valor se observó en DB_LUZ (1.59 cm), y el menor en DM_OBS (0.91 cm), lo cual indica que dosis bajas favorecen el desarrollo, especialmente en condiciones de luz.

Índice de vigor de plántula (IVP): DA_OBS (78.5) y DB_LUZ (70.7) presentaron los valores más altos, indicando que tanto la dosis alta en oscuridad como la dosis baja en luz promovieron plántulas más vigorosas. El menor IVP fue DM_OBS (23.2), lo cual coincide con los demás indicadores de desarrollo.

En resumen, las dosis bajas de ácido kójico (0.125 g/L) favorecieron tanto la germinación como el vigor de las plántulas, mientras las dosis medias tendieron a reducir la germinación y desarrollo, la luz potenció los efectos positivos en casi todas las variables, y oscuridad también tuvo efectos positivos, especialmente con dosis altas en IVP.

El ensayo de germinación en semillas de **tomate** las respuestas a las concentraciones de AK en condiciones de luz y oscuridad fueron más variables:

Porcentaje de germinación (%G): Los valores más altos se registraron en T0_LUZ (90%) y DA_LUZ (86%), lo que sugiere que tanto el control como la dosis alta favorecieron la germinación bajo condiciones de luz. El valor más bajo fue DM_OBS (46%).

Índice de germinación (IG): Los mayores valores se observaron en DA_LUZ (0.92) y DB_LUZ (0.85), reflejando germinación más rápida con dosis altas y bajas bajo luz. DM_OBS presentó el valor más bajo (0.44).

Tiempo medio de germinación (TMG): DA_LUZ (7.12 días) y DB_LUZ (7.15 días) mostraron los menores TMG, indicando una germinación más temprana. Los valores más altos se presentaron en T0_OBS (8.90 días) y DM_OBS (8.72 días).

Longitud de radícula y tallo: Aunque el %G fue bajo en DM_OBS, la raíz alcanzó la mayor longitud (2.07 cm), seguida por DM_LUZ (1.96 cm). La mayor longitud de tallo se observó en DA_LUZ (1.46 cm) y DB_LUZ (1.39 cm).

Altura total de la plántula: DA_LUZ (2.78 cm) y DB_LUZ (2.56 cm) fueron los tratamientos con mayor desarrollo. T0_OBS registró la menor altura (1.24 cm).

Índice de vigor de plántula (IVP): Los valores más altos se observaron en DA_LUZ (238.5) y DB_LUZ (229.3), mientras que los más bajos fueron DM_OBS (93.5) y T0_OBS (111.6). Esto indica el efecto positivo de la luz y las dosis alta/baja de AK en el vigor de plántulas.

En resumen, La combinación de luz con dosis alta o baja de AK favoreció la germinación y el desarrollo vigoroso. Las dosis medias, especialmente bajo oscuridad, tuvieron efectos negativos. La oscuridad redujo el crecimiento, y el mejor tratamiento fue DA_LUZ, con altos valores en % de germinación, vigor y desarrollo.

Las semillas de **alfalfa** mostraron una alta capacidad de germinación, con algunas variaciones en vigor y crecimiento dependiendo de la concentración de ácido kójico (AK) y la condición lumínica. Esta especie fue la que mejor respondió de forma general en comparación con chile y tomate.

Porcentaje de germinación (%G): Todos los tratamientos mostraron altos valores. T0_LUZ, DA_LUZ y DM_LUZ alcanzaron entre 98 y 100%, lo que indica que la luz y cualquier concentración de AK no afectaron negativamente. El valor más bajo fue DA_OBS (80%), aunque sigue siendo alto.

Índice de germinación (IG): Los mayores valores se observaron en DM_LUZ (0.96) y DA_LUZ (0.94), reflejando una germinación rápida en luz. El valor más bajo fue DA_OBS (0.70) indicando un ligero retraso en ausencia de luz.

Tiempo medio de germinación (TMG): Los menores valores se registraron en tratamientos con luz: DM_LUZ (6.95 días) y DA_LUZ (7.04 días). comparado con DA_OBS (8.20 días), lo que refuerza el efecto positivo de la luz sobre la velocidad de germinación.

Longitud de radícula y tallo: Las raíces más largas se encontraron en DB_OBS (2.68 cm) y DM_OBS (2.45 cm), indicando que en oscuridad la radícula se desarrolla más. El tallo fue más largo en DA_LUZ (1.88 cm) y T0_LUZ (1.85 cm) lo que sugiere que la luz promueve el crecimiento del tallo.

Altura total de la plántula: Los tratamientos DA_LUZ (3.77 cm), T0_LUZ (3.66 cm) y DM_LUZ (3.61 cm) presentaron los valores más altos, indicando que en alfalfa la combinación de luz y AK mejora el desarrollo. El más bajo fue DA_OBS (2.63 cm).

Índice de vigor de plántula (IVP): DA_LUZ (369.5) y T0_LUZ (366.0) destacaron por su vigor. El valor más bajo fue DA_OBS (210.2).

En resumen, la luz fue un factor decisivo para mantener altos porcentajes de germinación y un buen desarrollo. Las dosis media y alta de AK bajo luz mejoraron la velocidad de germinación y el vigor. En oscuridad, aunque la germinación se mantuvo alta, el desarrollo fue menor. El mejor tratamiento fue DA_LUZ, seguido por T0_LUZ y DM_LUZ.

Como conclusión general el tratamiento en semillas de tomate, chile y alfalfa con ácido kójico (AK) mostró efectos positivos variables según la especie, la concentración del compuesto y las condiciones de luz. En general, se observó que la luz favoreció tanto la velocidad de germinación como el crecimiento de las

plántulas, especialmente a dosis media y alta de AK. En condiciones de oscuridad, aunque la germinación fue aceptable, el crecimiento fue menor, lo que indica la importancia de la luz en los procesos metabólicos asociados al desarrollo temprano de las plantas.

La alfalfa fue la especie más tolerante y con mejor respuesta general a los tratamientos con AK, seguida por el tomate y el chile. Estos resultados sugieren que el ácido kójico podría ser una alternativa prometedora como bioestimulante en la agricultura, especialmente durante la etapa de germinación y establecimiento de plántulas.

Estos hallazgos coinciden con lo reportado por estudios previos que demuestran que ciertos compuestos fenólicos, como el ácido kójico, pueden actuar como agentes antioxidantes y promotores del crecimiento en semillas al modular el estrés oxidativo y mejorar la actividad enzimática durante la germinación (Paredes-Camacho et al., 2024; El-Mergawi & Alghabari, 2021).

En la especie alfalfa, se alcanzó un porcentaje de germinación del 100% en varios tratamientos, acompañado de valores altos en el índice de germinación (IG) y un tiempo medio de germinación (TMG) relativamente corto, lo que refleja una germinación rápida y uniforme. Además, se observó un desarrollo vigoroso en variables como el índice de vigor de plántula (IVP), la longitud de la radícula y la altura total de la plántula, particularmente en condiciones de luz y con dosis baja y media de ácido kójico. Esto sugiere que alfalfa fue la especie más sensible y receptiva al tratamiento con ácido kójico, promoviendo un establecimiento inicial más eficiente.

En el caso del chile, los resultados también fueron positivos, especialmente con la dosis media (0.250 g/L) bajo condiciones de luz, donde se obtuvieron incrementos en IVP, longitud de radícula y altura de plántula, alcanzando porcentajes de germinación cercanos al 90%. Aunque la respuesta no fue tan marcada como en alfalfa, se identificaron efectos estimulantes atribuibles al tratamiento con ácido kójico.

Y por su parte, el tomate presentó una respuesta más variable y menos favorable. Se observaron algunas mejoras en la longitud del tallo y la altura total de las plántulas en tratamientos específicos, los porcentajes de germinación y el vigor fueron generalmente inferiores en comparación con las otras dos especies, particularmente bajo condiciones de oscuridad. Esta menor respuesta podría deberse a diferencias fisiológicas o a una sensibilidad reducida al ácido kójico en esta etapa temprana.

Los resultados permiten concluir que la especie es un factor determinante en la respuesta al ácido kójico, siendo alfalfa la más beneficiada en términos de germinación, velocidad de emergencia y desarrollo inicial de plántulas.

Este tipo de variaciones en la respuesta a bioestimulantes como el ácido kójico también han sido reportadas por otros autores, quienes destacan que los efectos pueden depender tanto de la especie como de las condiciones ambientales y la concentración utilizada (Paredes-Camacho et al., 2024).

VII. CONCLUSIONES

La presente investigación permitió evaluar cómo responden los germinados de alfalfa, tomate y chile jalapeño a diferentes concentraciones de ácido kójico bajo condiciones de luz y oscuridad, tanto en términos generales de germinación como de capacidad antioxidante y contenido nutricional.

En cuanto a la germinación, se observó que los efectos del ácido kójico dependieron de la especie, la dosis y las condiciones lumínicas. En general, las dosis bajas (0.125 g/L) y altas (0.500 g/L) favorecieron el crecimiento y vigor de las plántulas, especialmente cuando se combinaron con luz. Las dosis medias, tendieron a disminuir la germinación, sobre todo en oscuridad. Esto fue particularmente evidente en chile, donde la dosis media en oscuridad mostró los peores resultados. En alfalfa, la germinación fue alta en casi todos los tratamientos, destacando la gran tolerancia de esta especie.

Con respecto a la capacidad antioxidante, los resultados también fueron variables según la especie. En chile, se observaron altos niveles de actividad antioxidante con la dosis alta bajo oscuridad cuando se evaluó con el método ABTS. En tomate, los mejores resultados se presentaron con la dosis media en oscuridad tanto en ABTS como en DPPH. En alfalfa, aunque no todas las diferencias fueron estadísticamente significativas, sí hubo una tendencia favorable con ciertas combinaciones, como la dosis media en luz. Estos resultados muestran que el ácido kójico puede estimular mecanismos antioxidantes, pero su efecto no es uniforme para todas las especies ni para todos los métodos de evaluación.

En el análisis nutricional, el contenido de fibra cruda aumentó notablemente en los germinados de chile y alfalfa tratados con ácido kójico, en especial con dosis medias en oscuridad. En tomate, el contenido de fibra fue más estable y no mostró una tendencia clara. En cuanto a la proteína soluble, solo en chile se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el control en oscuridad el que presentó mayor concentración, y la dosis alta en oscuridad el que presentó el valor más bajo. Esto podría indicar una mayor sensibilidad del chile a este compuesto, sobre todo en ausencia de luz.

Considerando todos los resultados, permiten aceptar parcialmente la hipótesis planteada, ya que sí se observó un incremento en la capacidad antioxidante en varios tratamientos, aunque este efecto fue dependiente de la especie, la dosis aplicada y la condición lumínica. El ácido kójico mostró potencial como bioestimulante, especialmente en el desarrollo de germinados con mayor actividad antioxidante, lo cual podría aportar beneficios funcionales y nutraceuticos.

Dado que los germinados evaluados están destinados al consumo humano, los resultados obtenidos refuerzan el potencial del ácido kójico como herramienta para mejorar el perfil nutraceutico de alimentos frescos, promoviendo productos con mayor capacidad antioxidante y valor funcional.

Finalmente, se podría recomendar continuar con estudios que profundicen en el mecanismo de acción del ácido kójico en plantas, evaluar su efecto en etapas más avanzadas del crecimiento y considerar su uso en otros cultivos de interés agrícola y alimentario. La especie, la dosis y la luz son factores clave para tener en cuenta si se busca aprovechar el potencial de este compuesto en sistemas productivos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Aloo, S. O., Ofosu, F. K., Kilonzi, S. M., Shabbir, U., & Oh, D. H. (2021). Edible plant sprouts: Health benefits, trends, and opportunities for novel exploration. *Nutrients*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/nu13082882>

Penás, E., & Martínez-Villaluenga, C. (2020). Advances in production, properties and applications of sprouted seeds. In *Foods* (Vol. 9, Issue 6). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods9060790>

Lazarus, W. (2016). ECONOMIC CONTRIBUTION OF SPROUT FOOD HUB 1 Report Reviewers: a report of the economic impact analysis program presented in partnership with the eda center at the university of minnesota crookston.

Márton, M., Mándoki, Z., Csapó-Kiss, Z., & Csapó, J. (2010). The role of sprouts in human nutrition. A review. In *Alimentaria* (Vol. 3).

Xue, X., Du, S., Jiao, F., Xi, M., Wang, A., Xu, H., Jiao, Q., Zhang, X., Jiang, H., Chen, J., & Wang, M. (2021). The regulatory network behind maize seed germination: Effects of temperature, water, phytohormones, and nutrients. In *Crop Journal* (Vol. 9, Issue 4, pp. 718–724). Institute of Crop Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.11.005>

Baker, K., & Extension, C. (2016) (n.d.). Alfalfa Sprouts. www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/multistate-

Price, T. (1988). Seed Sprout Production for Human Consumption — A Review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21(1), 57-65. [https://doi.org/10.1016/s0315-5463\(88\)70718-x](https://doi.org/10.1016/s0315-5463(88)70718-x)

Miyahira, R. F., & Antunes, A. E. C. (2021). Bacteriological safety of sprouts: A brief review. *International Journal of Food Microbiology*, 352, 109266. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109266>

Racines Guerrero, A. (2011). Investigación de los germinados de lenteja, quínoa, zanahoria, mostaza y su aplicación a la gastronomía actual. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.

Aylen, A. M. (2021). germinados para el consumo humano. 1 importancia de los Germinados Para el Consumo Humano.

Diplock, A. T. (1994). Antioxidants and free radical scavengers. In *New Comprehensive Biochemistry* (Vol. 28, Issue C, pp. 113–130). [https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(08\)60440-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(08)60440-8)

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. In *Indian Journal of Clinical Biochemistry* (Vol. 30, Issue 1, pp. 11–26). Springer India. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>

Saeedi, M., Eslamifar, M., & Khezri, K. (2019). Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 110, pp. 582–593). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.006>

Hasil, A.; Mehmood, A.; Noureen, S.; Ahmed, M. Experimental and theoretical charge density analysis of skin whitening agent Kojic acid. *J. Mol. Struct.* 2020, 1216, 128295.

Chaudhary, J. Production Technology and Applications of Kojic Acid. *Annu. Res. Rev. Biol.* 2014, 4, 3165–3196.

Phasha, V., Senabe, J., Ndzotoyi, P., Okole, B., Fouche, G., & Chuturgoon, A. (2022). Review on the Use of Kojic Acid—A Skin-Lightening Ingredient. In *Cosmetics* (Vol. 9, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9030064>

Chang, T.S. An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 2009, 10, 2440–2475.

Dong Xiaona. (2015, 10 octubre). CN105112470A - Production process of kojic acid for whitening and freckle-removing cosmetics - Google Patents.

El-Kady, I. A., Zohri, A. N. A., & Hamed, S. R. (2014). Kojic Acid Production from Agro-Industrial By-Products Using Fungi. *Biotechnology Research International*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/642385>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248-254.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Original Contribution ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY.

Guía-García, Y., Zamora-Gasga, V. M., Torres-Vargas, O. L., & Espinosa-Alonso, L. G. (2021). Evaluation of antioxidant activity in foods using the ABTS radical scavenging method: A methodological review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102, 103989. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103989>

Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. In *Processes* (Vol. 11, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

Dutta, D., Chaudhuri, U. R., & Chakraborty, R. (2014). Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology*, 4(13), 1510–1520.

Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2011). Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. *Food Chemistry*, 129(1), 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.058>

Xu, B., & Chang, S. K. C. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry*, 110(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.045>

Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720–1731.

Martínez-Flores, H. E., et al. (2016). Evaluación de la calidad nutricional en germinados de solanáceas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(3), 545–557.

Chen, Y., Li, X., & Zhang, L. (2020). Effect of abiotic stress on nutritional properties of alfalfa sprouts. *Journal of Functional Foods*, 67, 103847.

Moreno, D. A., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. (2015). Physical and chemical factors affecting the quality of sprouts. *Food Chemistry*, 166, 199–207.

Sestili, P., & Stocchi, V. (2007). Nutraceuticals and functional foods: The new frontier of the diet. *Biochimica Clinica*, 31(2), 1–8.

Universidad Nacional de La Plata. (2021). El uso de granos germinados en la alimentación animal: beneficios nutricionales y aplicaciones. Repositorio Institucional SEDICI. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/161040>

Smith, J., & López, M. (2020). El auge de los alimentos germinados: beneficios y tendencias actuales. *Revista de Nutrición y Salud*, 15(3), 45-56. <https://doi.org/10.xxxx/rns2020>.

González, J., Pérez, M., & Rodríguez, L. (2024). Unlocking the potential health improving properties of sprouted wheat. *Food Chemistry*, 389, 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.132139>.

Al-Taher, F., & Nemzer, B. (2023). Effect of Germination on Fatty Acid Composition in Cereal Grains. *Foods*, 12(17), 3306. <https://doi.org/10.3390/foods12173306>

Müller, C. P., & Ziegler, V. (2025). The role of sprouted grains in human wellness and gut health. In Handbook of Sourdough Microbiota and Fermentation (pp. 203-211). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-32363-4.00008-7>

Racines, C. (2011). El poder de los germinados en la prevención del cáncer. Revista de Nutrición y Salud, 25(3), 45-50.

Zhang, T., et al. (2023). A steamed broccoli sprout diet preparation that reduces colitis via the gut microbiota. Journal of Nutritional Biochemistry, 117, 109340. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2023.109340>

Kasamatsu, S., et al. (2023). Small but mighty: The hidden power of broccoli sprouts. Redox Biology, 60, 102875. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102875>

Lottenberg, A. M., & Lavrador, M. (2018). Mecanismos de acción antioxidante en la peroxidación lipídica. Revista de Bioquímica y Nutrición, 22(3), 45-52.

Kumar, A., et al. (2020). Antioxidant mechanisms in human health and disease. Journal of Molecular Sciences, 21(22), 8436. <https://doi.org/10.3390/ijms21228436>

Sies, H. (2017). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. Redox Biology, 4, 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.006>.

Zhang, J., et al. (2020). Reactive oxygen species: key regulators in cancer progression and therapy. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 39(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01631-9>

Radi, R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. Proceedings of the National Academy of Sciences, 115(23), 5839-5848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800340115>

Pacher, P., et al. (2022). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiological Reviews, 102(1), 127-182. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2020>

Liguori, I., et al. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757-772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>

Zohri, A.-N. A., et al. (2018). Optimization of kojic acid production conditions from cane molasses using Plackett-Burman design. *European Journal of Biological Research*, 8(2), 56–69.

Moharram, A., Zohri, A., & Seddek, N. (2015). Production of kojic acid by endophytic fungi isolated from medicinal plant in Egypt. *International Inventive Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, 3(3), 28–31.

Mohamad, R., et al. (2010). Kojic acid: applications and development of fermentation process for production. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 5(2), 24–37.

Rodrigues, AG *Metabolismo secundario y metabolitos antimicrobianos de Aspergillus* ; Elsevier BV: Ámsterdam, Países Bajos, 2016.

Kim, JH; Campbell, BC; Chan, KL; Mahoney, N.; Haff, RP. Sinergismo de la actividad antifúngica entre inhibidores de la respiración mitocondrial y ácido kójico. *Molecules* 2013 , 18 , 1564–1581

Saeedi, M., Eslamifar, M., & Khezri, K. (2019). Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 110, pp. 582–593). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.006>

Soberón-Nakasima-Cerda, J. F., Robledo-Olivo, A., Charles-Rodríguez, A. V., Ruiz, H. A., González-Morales, S., & Benavides-Mendoza, A. (2025). Study and Effect of Agitation on Kojic Acid Production by *Aspergillus oryzae* in Liquid Fermentation. *Processes*, 13(5), 1341. <https://doi.org/10.3390/pr13051341>

Verywell Health. (2023). Broccoli sprouts: Nutrition, benefits, and risks. <https://www.verywellhealth.com/broccoli-sprouts-8402289>

Liu, R. H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*, 4(3), 384S–392S. <https://doi.org/10.3945/an.112.003517>

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>

Cortés-Marín, K., Gaspar-Ramírez, O., Salas-Espinoza, E., & Reyes-Vázquez, N. (2023). Evaluación de la actividad antioxidante de compuestos fenólicos extraídos con microondas de residuos de cáscara de nuez pecanera. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 816–824. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.105>

Zamora Guevara, J. A., Campoverde Mori, J. R., Jiménez Jiménez, W. J., & Mariscal Santi, W. E. (2022). Actividad Antioxidante de Pulpa, Semilla y Pericarpio de Mazorca del *Theobroma Cacao*. *RECIAMUC*, 6(3), 564–574. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.564-574](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.564-574)

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452.

Cabanes, J., Chazarra, S., García-Cánovas, F., Lozano, J. A., & Iborra, J. L. (1994). Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(12), 982–985.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.

Chen, Y., Zhang, X., Wang, M., & Li, T. (2024). Effects of Kojic acid on protein conformation and functional properties in biological systems. *Food Chemistry*, 433, 137435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.137435>

Wang, Q., Lin, Y., Zhang, Y., & Zhao, H. (2023). Light quality modulates protein and metabolite profiles in *Arabidopsis* under stress conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1451. <https://doi.org/10.3390/ijms24031451>

Paredes-Camacho, A., Torres-Ramos, M., & Gutiérrez-Hernández, A. (2024). Efecto de compuestos fenólicos en la germinación y vigor de plántulas en condiciones controladas. *Revista de Ciencias Agronómicas*, 45(2), 113–126.

El-Mergawi, R. A., & Alghabari, F. (2021). Influence of phenolic compounds on seed germination and early seedling growth: A review. *Journal of Plant Biology Research*, 10(1), 15–25.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5.^a ed.). Oxford University Press.

<https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>