



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA “PRESIDENTE JUÁREZ”

TESIS

EFFECTO DE LA ADICIÓN DIRECTA DE NOPAL (OPUNTIA FICUS-INDICA) A LA LECHE CRUDA SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO FRESCO ARTESANAL Y YOGURT ARTESANAL

Que presenta

MVZ. FRANCISCO JAVIER MORENO MORALES

Como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. MARZO 2017





UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA “PRESIDENTE JUÁREZ”
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAestrÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

TESIS

**EFECTO DE LA ADICIÓN DIRECTA DE NOPAL (OPUNTIA FICUS-INDICA) A
LA LECHE CRUDA SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO
FRESCO ARTESANAL Y YOGURT ARTESANAL**

Que presenta

MVZ. FRANCISCO JAVIER MORENO MORALES

Como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. EN CIENCIAS BIOLÓGICAS.
ROSA ELENA PÉREZ SÁNCHEZ**

Co-asesor: **MC. RUY ORTIZ RODRÍGUEZ**

**COMITÉ TUTORIAL
DR. HÉCTOR EDUARDO MARTÍNEZ FLORES
DR. JUAN JOSÉ VALDEZ ALARCÓN
DR. PEDRO ANTONIO GARCÍA SAUCEDO**

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. MARZO DE 2017





UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

DRA. LILIANA MÁRQUEZ BENAVIDES
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "EFECTO DE LA ADICIÓN DIRECTA DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A LA LECHE CRUDA SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO FRESCO ARTESANAL Y YOGURT ARTESANAL" presentado por el MVZ. Francisco Javier Moreno Morales, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Morelia, Michoacán, a 02 de marzo de 2017

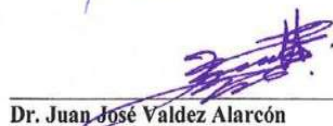
MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez
Directora de Tesis



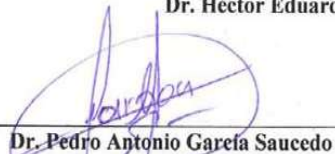
MC. Ruy Ortiz Rodríguez
Co director



Dr. Juan José Valdez Alarcón



Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores



Dr. Pedro Antonio García Saucedo

DEDICATORIA

A la memoria de mi madre **Griselda Morales Maravilla**†. Si hubieras estado a mi lado quizás hubiera sido diferente, te extraño.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá Maria Luisa Maravilla Figueroa y a mi papá Eduardo Morales Rodriguez por todo el apollo que siempre me dan. Además, porque son las personas que más quiero en la vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico para realizar mis estudios de posgrado.

Al MC. Ruy Ortiz Rodríguez por su constante atención, esfuerzo y paciencia en mi desarrollo personal y profesional. Y sobre todo por su valiosa amistad

A mi asesora, la Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez por aceptarme como su alumno, por su empeño para mejorar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Juan José Valdez Alarcón, Dr. Héctor Martínez Flores y al Dr. Pedro Antonio García Saucedo por sus asesorías, sugerencias y comentarios hechos durante la etapa experimental de esta investigación.

Al Dr. Juan Pulido Secundino por haber proporcionado el material vegetativo para la realización de este experimento.

A mis queridos amigos, Alejandro, Carlos, Tania, Gerardo, Maricruz, Lauro y David por su apoyo para la realización de la fase experimental, sin los cuales el resultado habría sido otro.

A todas aquellas personas personas que me brindaron su tiempo y colaboración durante la realización de esta investigación, a cada uno de ellos, Gracias.

ÍNDICE	Pág.
RESUMEN	I
ABSTRACT	II
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	7
2.1. Importancia de la leche cruda proveniente de los sistemas familiares.....	7
2.2. Calidad microbiológica de la leche cruda.....	10
2.3. Estándares de la calidad microbiológica de los quesos artesanales.....	13
2.4. Estándares de calidad microbiológica del yogurt artesanal.....	14
2.5. Uso de probióticos y prebióticos para mejorar la calidad microbiológica del yogurt y queso.....	16
2.6. Uso del nopal en la calidad microbiológica de la leche cruda y sus subproductos.....	17
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
4. HIPÓTESIS	25
5. OBJETIVO GENERAL	26
5.1. Objetivos específicos.....	26
6. MATERIALES Y MÉTODOS	27
6.1. Primera etapa: Determinación del efecto del nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal).....	27
6.2. Segunda etapa: Evaluación de la adición directa de epidermis de <i>O. ficus-indica</i> (fresca y deshidratada) y extractos etanolicos de <i>O. ficus-indica</i> y <i>O. atropes</i> a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos... ..	32
7. RESULTADOS	38
7.1. Primera etapa: efecto del nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal).....	38
7.2. Segunda etapa: efecto de la adición directa de epidermis <i>O. ficus-indica</i> (fresca y deshidratada) y extractos etanolicos de <i>O. ficus-indica</i> y <i>O. atropes</i> a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos.....	56
8. DISCUSIÓN	64
8.1. Primera etapa: Efecto del nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal).....	63
8.2. Segunda etapa: efecto de la adición directa de epidermis <i>O. ficus-indica</i> (fresca y deshidratada) y extractos etanolicos de <i>O. ficus-indica</i> y <i>O. atropes</i> a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos.....	75

9. CONCLUSIÓN.....	79
10. CONSIDERACIONES GENERALES.....	81
11. BIBLIOGRAFÍA.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Dietas suministradas a las vacas Holstein bajo confinamiento total durante la fase experimental de cuerdo al grupo.....	28
Tabla 2. Rendimiento de extracción como extracto polar total (EPT) y polifenoles totales (PT) y concentración de los mismos en 200 mL de extractos concentrados hasta 45 ml.....	33
Tabla 3. Diseño experimental para la determinación del efecto de la adición de epidermis de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) y de extractos etanólicos (<i>O. ficus-indica</i> y <i>O. atropes</i>) a la leche cruda (LC) sobre la calidad bacteriológica de la misma.....	34
Tabla 4. Análisis de efectos fijos para UFC ml ⁻¹ de bacterias en leche cruda.....	40
Tabla 5. Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml ⁻¹) en leche cruda de acuerdo al grupo.....	41
Tabla 6. Medias de mínimos cuadrados para cuentas bacterianas (UFC Log ₁₀ ml ⁻¹) en leche cruda de vacas Holstein de acuerdo al grupo.....	42
Tabla 7. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml ⁻¹ de Staphylococcus áureos en leche cruda producida por vacas Holstein bajo confinamiento total de acuerdo al grupo.....	42
Tabla 8. Análisis de efectos fijos para UFC ml ⁻¹ de bacterias en queso fresco artesanal.....	43
Tabla 9. Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml ⁻¹) en queso fresco artesanal de acuerdo al grupo.....	43
Tabla 10. Medias de mínimos cuadrados para cuentas bacterianas (UFC g ⁻¹) en queso fresco artesana derivado de leche de vacas Holstein de acuerdo al grupo.....	44
Tabla 11. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de mesófilas aerobias y coliformes totales en queso fresco artesanal de acuerdo a la interacción grupo*hora de monitoreo.....	45
Tabla 12. Medias de mínimos cuadrados para UFC (Log ₁₀) g ⁻¹ de E. coli y S. aureus en queso fresco artesanal de acuerdo a la interacción grupo*hora de monitoreo.....	45
Tabla 13. Análisis de efectos fijos para UFC ml ⁻¹ de bacterias en yogurt artesanal.....	52
Tabla 14 Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml ⁻¹) en yogurt artesanal de acuerdo al grupo.....	53

Tabla 15. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml ⁻¹ de Mesófilas Aerobias y Coliformes Totales en yogurt artesanal elaborado de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total de acuerdo al grupo.....	53
Tabla 16. Análisis de efectos fijos para UFCg ⁻¹ de bacterias en queso fresco artesanal.....	56
Tabla 17. Medias de mínimos cuadrados para UFC g ⁻¹ de mesófilas aerobias en queso fresco artesanal de acuerdo al tratamiento.....	56
Tabla 18. Medias de mínimos cuadrados para UFC g ⁻¹ de coliformes totales en queso fresco artesanal de acuerdo al tratamiento.....	58
Tabla 19. Análisis de efectos fijos para UFC ml ⁻¹ de bacterias en yogurt artesanal....	59
Tabla 20. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml ⁻¹ de mesófilas aerobias en yogur artesanal de acuerdo al tratamiento.....	60
Tabla 21. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml ⁻¹ de coliformes totales en yogur artesanal de acuerdo al tratamiento.....	62
Tabla 22. Diferencias porcentuales para cada tratamiento con respecto a su testigo para la leche cruda, queso fresco artesanal y yogurt.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Medias de mínimos cuadrados de producción de leche (kg) de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	40
Figura 2. Estimación lineal de la producción de leche (kg) de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	41
Figura 3. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de BMA grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	46
Figura 4. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de BMA grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	44
Figura 5. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de CT grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	48
Figura 6. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de BMA grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento	48

total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	
Figura 7. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de <i>Escherichia coli</i> grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	49
Figura 8. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de <i>Escherichia coli</i> grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	50
Figura 9. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de <i>Staphylococcus áureos</i> grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	51
Figura 10. Medias de mínimos cuadrados de UFC g ⁻¹ de <i>Staphylococcus áureos</i> grupo ⁻¹ día ⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	51
Figura 11. Medias de mínimos cuadrados de UFC ml ⁻¹ de mesófilas aerobias grupo ⁻¹ día ⁻¹ hora ⁻¹ para yogur artesanal elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	54
Figura 12. Medias de mínimos cuadrados de UFC ml ⁻¹ de coliformes totales grupo ⁻¹ día ⁻¹ hora ⁻¹ para yogur artesanal elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (<i>O. ficus-indica</i>) en base fresca día ⁻¹ vaca ⁻¹	55
Figura 13. Medias de mínimos cuadrados (Log ₁₀) de UFC g ⁻¹ para BMA de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del queso fresco artesanal (QFA)	57
Figura 14. Medias de mínimos cuadrados (Log ₁₀) de UFC g ⁻¹ para CT de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del queso fresco artesanal (QFA)	59
Figura 15. Medias de mínimos cuadrados (Log ₁₀) de UFC g ⁻¹ para BMA de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del yogurt artesanal	61
Figura 16. Medias de mínimos cuadrados (Log ₁₀) de UFC g ⁻¹ para CT de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del yogurt artesanal	63

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto de la adición directa de nopal (*O. ficus-indica*) a la leche cruda (LC) sobre la calidad microbiológica (CM) del queso fresco artesanal (QFA) y yogur artesanal (YgA). Para ello, la fase experimental fue diseñada en dos etapas: Primera Etapa, determinación del efecto de cladodios de nopal en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción de leche (PL) y CM de la LC y sus subproductos (QFA y YgA). Se utilizaron 14 vacas, con las cuales se formaron dos grupos (G): G1 (n=7), las cuales recibieron una dieta convencional y, G2 (n=7), vacas alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹. Etapa experimental que duró 4 semanas, incluida la semana de adaptación a la dieta. Se evaluó: PL (kg) vaca⁻¹ día⁻¹ grupo⁻¹ y CM de LC, QFA y YgA grupo⁻¹, con énfasis en mesófilas aerobias (BMA) y coliformes totales (CT); ambos subproductos, elaborados con LC proveniente de los grupos 1 y 2. Segunda Etapa, se determinó el efecto de la adición directa a la LC de epidermis de *O. ficus-indica* en fresco (EN_{BF}) y deshidratada (EN_{BS}); así como, la adición de extractos etanolicos de epidermis de *O. ficus-indica* (E_{OFI}) y de *O. atropes* (E_{OA}) sobre CM de QFA y YgA. Se evaluó, CM de la LC con la que se elaboró QFA y YgA grupo⁻¹, con énfasis en BMA y CT. El contacto directo del tratamiento⁻¹ con la LC fue de 2 h, para posteriormente hacer análisis microbiológico de la LC tratamiento⁻¹ y proceder con la elaboración de QFA y YgA tratamiento⁻¹. Los subproductos se procesaron de acuerdo con el método tradicional. La preparación y análisis bacteriológico de las muestras de QFA y YgA se realizó bajo las Normas Oficiales Mexicanas. La información recabada grupo⁻¹ en las dos etapas, se analizó a través de la metodología de mediciones repetidas. En la Primera Etapa se encontró que, el G2 produjo 25% más cantidad de leche (P<0.05) y contabilizó menor (P<0.05) cantidad de UFC ml⁻¹ de BMA (5.0 Log₁₀ UFC ml⁻¹) y CT (4.3 Log₁₀ UFC ml⁻¹), en comparación con la LC proveniente del G1. En QFA se observó el mismo efecto: BMA (6.4 Log₁₀ UFC ml⁻¹) y CT (5.9 Log₁₀ UFC ml⁻¹) en el queso elaborado con LC del G2, promedios éstos menores (P<0.05) a los observados en queso elaborado con LC del G1. En YgA, también se observó éste efecto: fue de mayor CM, cuando se elaboró con LC del G2 que con LC proveniente del G1 (P<0.05). En la Segunda Etapa experimental, se encontró disminución de BMA y CT en LC 2 h post-tratamiento con EN_{BS}, EN_{BF}, E_{OFI} o E_{OA} (P<0.05). El QFA derivado de LC en contacto con EN_{BF}, mostró menor (P<0.05) cantidad de UFC g⁻¹ para BMA y CT vs QFA elaborado con LC proveniente del resto de los tratamientos analizados. El mismo comportamiento se observó en YgA: reducción de UFC ml⁻¹ de BMA y CT con EN_{BF} (P<0.05) vs testigo o vs EN_{BS}. Así, la complementación de la dieta de las vacas Holstein con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ incrementa la producción y calidad microbiológica de la LC, efecto que perdura durante el proceso y almacenamiento del QFA y el YgA. Mientras que el contacto directo de la LC con EN_{BF} o E_{OA}, por 2 h, mejora la calidad de estos sub-productos lácteos.

Palabras clave: vacas, coliformes, mesófilas aerobias, nopal, lácteos.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the direct addition of nopal (*O. ficus-indica*) to raw milk (RM) on microbiological quality (MQ) of artisanal fresh cheese (AFC) and artisanal yogurt (AYg). The experimental phase was designed in two stages: First stage, determination of the effect of nopal cladodes in the Holstein cows diet under total confinement on the milk production (MP) and MQ of the RM and its products (AFC and YgA). A total of 14 cows were used. Two groups (G) were formed: G1 (n = 7), which received a conventional diet and G2 (n = 7) cows fed a diet supplemented with 12 kg cow nopal -1 day^{-1} . Experimental stage lasted 4 weeks, including diet adaptation week. It was evaluated: MP (kg) cow $^{-1}$ day $^{-1}$ group $^{-1}$ and MQ of RM, AFC and AYg group $^{-1}$, with emphasis on aerobic mesophilic bacterium (AMB) and total coliforms (TC); Both subproducts, made with RM from groups 1 and 2. Second Stage, the effect of direct addition to the RM of epidermis of *O. ficus-indica* fresh (EFIF) and dehydrated (ENID) was determined; As well as the addition of ethanol extracts of *O. ficus-indica* (EOFI) and *O. atropes* (EOA) epidermis on MQ of AFC and AYg. It was evaluated, MQ of the RM with which AFC and AYg group $^{-1}$ were elaborated, with an emphasis on AMB and TC. The direct contact of the treatment-1 with the RM was of 2 h, later to make microbiological analysis of the treatment-1 RM and proceed with the elaboration of AFC and AYg treatment -1 . By-products were processed according to the traditional method. The preparation and bacteriological analysis of the samples of AFC and AYg was carried out under Mexican Official Standards. The collected information group $^{-1}$ in the two stages, was analyzed through the methodology of repeated measurements. In the first stage it was found that, G2 produced 25% more milk ($P < 0.05$) and counted lower ($P < 0.05$) amount of CFU mL $^{-1}$ of AMB ($5.0 \text{ Log}_{10} \text{ CFU ml}^{-1}$) and TC ($4.3 \text{ Log}_{10} \text{ UFC ml}^{-1}$), compared to the RM from G1. In the AFC, the same effect was observed: AMB ($6.4 \text{ Log}_{10} \text{ CFU ml}^{-1}$) and TC ($5.9 \text{ Log}_{10} \text{ CFU ml}^{-1}$) in the cheese made with G2 RM, the latter averages ($P < 0.05$) With G1 RM. In AYg, this effect was also observed: it was of greater MQ, when it was elaborated with RM of G2 than with RM from G1 ($P < 0.05$). In the second experimental stage, we found a decrease in AMB and TC in 2 h RM post-treatment with ENID, EFIF, EOFI or EOA ($P < 0.05$). The AFC derived from RM in contact with EFIF showed lower ($P < 0.05$) amount of CFU g $^{-1}$ for AMB and TC vs AFC made with RM from the rest of the analyzed treatments. The same behavior was observed in YgA: reduction of CFU mL $^{-1}$ of AMB and CT with EFIF ($P < 0.05$) vs control or vs ENID. Thus, supplementation of the diet of Holstein cows with 12 kg of cow $^{-1}$ day $^{-1}$ nopal increases the production and microbiological quality of the RM, an effect that persists during the process and storage of AFC and AYg. While the direct contact of the RM with EFIF or EOA for 2 h improves the quality of these dairy sub-products.

Key words: cows, coliforms, aerobic mesophiles, cactus, dairy.

1. INTRODUCCION

La producción de alimentos básicos es y ha sido una de las grandes preocupaciones para México (SAGARPA, 2012). Sin embargo, en los últimos años se ha registrado un aumento en los precios de los alimentos (Magaña *et al.*, 2016), lo que provoca inseguridad alimenticia, principalmente en los países importadores netos de alimentos, entre ellos, México; quien entre enero y junio del 2016, importó 398 millones de dólares en leche y sus derivados (Jusidman, 2014; CANILEC, 2016). No obstante, se estima que alrededor del 16% de la demanda interna de lácteos se cubre con importaciones (SAGARPA, 2016). Esta creciente demanda por productos lácteos se explica, principalmente, por el aumento de la población (De la Vega, 2010 citado por SAGARPA, 2012); así como, porque este producto es considerado como un alimento básico en la dieta de los niños y ancianos, principalmente (Reyes *et al.*, 2011): la leche, es un alimento casi completo, pues solo presenta bajos contenidos en hierro, vitamina D y C (Espinosa *et al.*, 2008; CANILEC, 2011; Fuentes *et al.*, 2013).

De acuerdo con lo referido en el párrafo anterior, un déficit en la producción de leche o de éste producto en el mercado, en cualquier país, genera problemas de inseguridad alimentaria, principalmente en las zonas rurales (Gutiérrez y Zuñiga, 2015; FAO, 2015), en donde es más difícil mantener constante la producción de leche y su abastecimiento bajo condiciones de seguridad alimentaria y de las normas sanitarias (FAO, FIDA y PMA. 2013). Ante esta situación, es indispensable no solo mejorar la eficiencia de los sistemas de producción de leche bovina, sino que la leche producida sea inocua (Aragón *et al.*, 2016; Díaz *et al.*, 2016). Esta demanda implica, la implementación de estrategias que se adecuen a los distintos sistemas de producción de leche bovina; incluidos, los de poca o nula relación con el mercado formal y además, estas estrategias deben observar el cumplimiento de las normas oficiales

en torno a las características de calidad bacteriológica de la leche y sus subproductos (NMX-F-700-COFOCALEC-2012; Urquía, 2014).

Dentro de los sistemas de producción de leche con poca o nula relación con el mercado formal, se encuentran los sistemas de bovinos productores de leche a escala familiar (Bastida, 2014). Además, dichos sistemas se caracterizan por: i) carecer de instalaciones que proporcionan confort a los animales (Moreno *et al.*, 2012), ii) no poseer técnicas ni tecnologías reproductivas, nutricionales, sanitarias o genéticas; por lo que es común que la producción se encuentre entre los 9.5 kg^{-1} leche vaca-1 día⁻¹ (Ortiz *et al.*, 2012), iii) ausencia de prácticas de salud de la ubre y ordeño y, iv) en los casos de manufactura de la leche para su transformación en sub-productos lácteos, estos se fabrican con pocas o nulas prácticas de higiene (Reyes *et al.*, 2011). No obstante, este tipo de sistemas representan cerca del 70% de las unidades productoras de leche de bovinos y su participación en el mercado nacional es de aproximadamente del 30% (FAO-OCDE, 2013; FAO, 2014). Además, abastecen de materia prima a más del 50% de las empresas pertenecientes a la industria láctea (Esteban *et al.*, 2012).

Con respecto a la industria de la transformación de la leche, en el 2008, se estimó un total de 1500 queserías, que emplean cerca de 20 mil personas (Poméon y Escoto, 2010). Sin embargo, dentro de estas empresas, se calcula que más del 50 % no están registradas (González, 2013) y, de manera general, están conformadas por los propios sistemas de producción de leche bovina a escala familiar, mismas que fabrican queso fresco y otros sub-productos, a partir de la leche cruda (Hernández *et al.*, 2013), lo que permite darle valor agregado a la producción de leche, cuyo valor se valora en 113 mil millones de pesos (Poméon y Cervantes, 2010; Villegas y Cervantes, 2011; SAGARPA, 2016). De aquí que, estos sistemas se consideren indispensables para la seguridad alimentaria (FAO, 2014).

En cuanto a la calidad de la leche y sus subproductos, los sistemas no tecnificados, en donde se incluyen los sistemas familiares, generalmente la producen con mala calidad microbiológica (Arriaga *et al.*, 2013), debido a que se han encontrado en leche cruda elevados conteos bacterianos de mesófilas aerobias ($>1 \times 10^7$ UFC ml⁻¹) y de coliformes totales ($>1 \times 10^5$ UFC ml⁻¹) (Zucali *et al.*, 2014; Al-Nabulsi *et al.*, 2015) dicha carga bacteriana en leche representan riesgos a la salud del consumidor (NOM-243-SSA1-2010; Calasso *et al.*, 2016). Así mismo, Pangallo *et al.* (2014) y Da Silva *et al.* (2016) señalan, que en queso elaborados a partir de leche sin tratamiento térmico (cruda/bronca), se han aislado gran variedad de microorganismos, incluidos algunos patógenos que representan un riesgo para la salud pública como: *Escherichia coli* 0157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* y *Mycobacterium bovis* (González y Franco, 2015; Gómez *et al.*, 2016). Resultados relevantes dentro de la definición de seguridad alimentaria, puesto que la inocuidad de los alimentos es uno de los conceptos claves (Moctezuma *et al.*, 2014; Méndez *et al.*, 2015).

Al respecto de la calidad de la leche, diversas organizaciones como la SAGARPA (2007), la Administración de Drogas y Alimentos -FDA- (2012) y la FAO (2013a), recomiendan que la leche sea almacenada y enfriada a 4 °C dentro de las primeras 2 horas post-ordeño, este método garantiza que la leche mantenga hasta por 24 horas la calidad microbiológica (Zumbado y Romero *et al.*, 2016). Otra alternativa para mejorar la calidad microbiológica de la leche y sus derivados puede ser la pasteurización (FAO, 2013b; FDA, 2015). No obstante, la mayoría de los quesos frescos elaborados artesanalmente, no siguen un proceso de pasteurización (Domínguez *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2016). Debido a que este tratamiento térmico no solo destruye las bacterias patógenas, sino también bacterias que otorgan las

características de un queso genuino (Aldrete *et al.*, 2014). Además, ciertas comunidades microbianas son considerados como probióticos, responsables de la diversidad única y amplia de sabores, aromas y texturas, que pueden ser eliminadas al someter a la leche al proceso de pasteurización (Fontán *et al.*, 2001; Beresford *et al.*, 2001).

La implementación de las estrategias sugeridas por las organizaciones citadas anteriormente, hasta cierto punto, son inviables; puesto que no toman en consideración el contexto social, cultural y económico que caracterizan tanto a los sistemas familiares como a los productos que ofrecen al consumidor. Ejemplo de ello, es la falta de suministro eléctrico en algunas zonas donde se crean y sobreviven estos sistemas. Además, el equipo de enfriamiento y/o pasteurización tienen un costo, tanto de adquisición como de mantenimiento, que los productores a escala familiar difícilmente podrían solventar (Villalobos, 2006). Por otra parte, el consumidor demanda productos alimenticios con mínimo proceso, libres de aditivos químicos, naturales e inocuos (Beristain *et al.*, 2012). Así mismo, el costo del producto terminado (queso fresco artesanal) lo hace accesible a los consumidores en los mercados locales, principales demandantes y oferentes de estos productos.

Aunque se pudiera implementar la tecnología sugerida por las organizaciones para enfriar y pasteurizar la leche para el consumo y/o elaboración de sub-productos, aún queda por resolver otro problema: la implementación de cultivos que soporten la sequía, se adapten a regímenes de temporal y suelos con problemas de erosión o salinidad (Nelson *et al.*, 2009; Giner *et al.*, 2011; Coronado *et al.*, 2012). Características éstas, que prevalecen en la mayoría de las zonas rurales del país donde los sistemas familiares residen (Yubero, 2015). Dentro de estos cultivos, el nopal (*Opuntia* sp) puede ser una alternativa viable, debido a:

1) Tolera la sequía, 2) necesita 162 kg de agua para sintetizar 1 kg de materia seca, conversión mayor al de otros cultivos forrajeros tradicionales, como maíz y alfalfa (367 y 750 kg de

agua:1 kg de materia seca) (Han y Felker, 1997; citado por Reveles *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2015), 3) dicha planta posee 80 a 85% de agua, recurso de mayor demanda en condiciones de sequía, 4) la materia seca de *Opuntia* sp está compuesta por celulosa, hemicelulosa, vitaminas y minerales (Júnior *et al.*, 2014), con niveles significativos de calcio (1.8 a 2.5 %), potasio (1.5 %) y magnesio (0.7 a 1.1 %) (Wanderley, 2001; Medeiros *et al.*, 2013), posee hasta un 70% de carbohidratos no estructurales (fructooligosacáridos, inulina, mucílagos y pectinas) y una aceptable digestibilidad (65 a 80%) de materia seca y materia orgánica: 78 a 81% (Torres, 2010; Ribeiro *et al.*, 2010). No obstante, del total de materia seca solo contiene 26.8% de fibra detergente neutra y 4.0 a 6.0% de proteína cruda (Vázquez *et al.*, 2007; De Figueiredo *et al.*, 2014).

Así mismo, diversas investigaciones han puesto de manifiesto la presencia de compuestos bio-activos (ácido gálico, quercetin, rutinoside, kaempferol, flavonoides, ácido coumárico, ácido ferúlico, ácido salicílico, rutin, entre otros) en *Opuntia* sp, que exhibe propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatorias, entre otras (López *et al.*, 2014; Mostafa *et al.*, 2014; Raj *et al.*, 2015). Al respecto, Cui *et al.* (2015) señalan que la implementación de polifenoles, como el rutin, en el alimento para bovinos productores de leche incrementa la producción láctea. Lo que pudiera explicar los resultados encontrados en otras investigaciones, en donde la producción de leche se incrementó de 7.084 a 10.864 kg d⁻¹ cuando a la dieta de las vacas se les complemento 12 kg de nopal (Ortiz *et al.*, 2010).

En cuanto a la bio-actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos que las cactáceas poseen, también se ha investigado (Juárez *et al.*, 2014; Delgado *et al.*, 2016; Hoikkala, 2016) y se ha demostrado que, la leche cruda en contacto con el nopal o sus distintas fracciones anatómicas (epidermis, mucílago y pulpa), disminuye las unidades formadoras de colonia de las bacterias coliformes totales y mesófilas aerobias, fenómeno que

también sucede cuando las vacas consumen nopal como parte de su dieta (Ortiz *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2013). Investigaciones que se han desarrollado con animales de sistemas a escala familiar y en zonas con estiaje prolongado, donde los insumos de la dieta para el ganado son principalmente esquilmos y granos de maíz o sorgo (Gitz, 2013). Sin embargo, se desconoce si las fracciones anatómicas del nopal o de los extractos de esta cactácea pueden fungir como una alternativa en la disminución de coliformes totales y mesófilas aerobias durante el proceso de elaboración y almacenamiento del queso fresco artesanal y del yogurt artesanal, por lo que es necesario investigarlo.

2. ANTECEDENTES

En México los sistemas de producción de leche de bovinos, a escala familiar, ofertan leche cruda y sus subproductos (queso fresco y yogurt artesanal, principalmente), mismos que se caracterizan por ser productos que pueden poner en riesgo la salud del consumidor (Sánchez *et al.*, 2016), debido a que se asocian a problemas de intoxicación por presentar problemas de calidad microbiológica, además de poseer una vida de anaquel, relativamente corta (Malek *et al.*, 2015; Szczawiński *et al.*, 2016; Amagliani *et al.*, 2016). No obstante, estos sistemas aportan el 30% a la producción de leche cruda a nivel nacional y desde el punto de vista socioeconómico, su importancia radica en más de 127 mil unidades de producción (SAGARPA, 2014); cifra que debe traducirse en número de familias que viven o sobreviven económicamente de ésta actividad (Vera *et al.*, 2009).

2.1 Importancia de la leche cruda proveniente de los sistemas familiares.

La leche de bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*) es el alimento de mayor importancia para el hombre (Reyes *et al.*, 2011). La leche es un alimento casi completo, pues sólo es pobre en hierro, vitamina D y vitamina C. Su riqueza en energía (grasa), proteínas de fácil asimilación, calcio, fósforo y varias vitaminas hacen de la leche el alimento básico, no solo para el lactante en sus primeros cuatro años de vida, sino también, en otras etapas de la vida (Espinosa *et al.*, 2008).

Para las organizaciones como la FAO o la UNESCO, la leche de bovinos es un elemento indispensable en la alimentación humana, por lo que su producción debe ser parte de las estrategias de seguridad alimentaria en muchos países (Fuentes *et al.*, 2013). Aspecto en el que México, no debe estar exento. Aunque si bien, éste alimento está regulado por normas mexicanas oficiales, en las cuales se determinan los estándares de calidad para que la leche y sus derivados sean aptos para consumo humano (PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-

2012), las especificaciones de calidad de estos productos varían según el mercado al que se abastece (Vázquez *et al.*, 2014); pero en general, la norma establece que, la leche debe de contar con un mínimo de 12.5% de sólidos totales, 3.1% de proteína cruda (PC), 3.6% grasa y 4.7% lactosa, principalmente (CANILEC, 2011). Mientras que en los aspectos sanitarios, la leche cruda debe presentar ausencia de cualquier sustancia y microorganismos que pongan en riesgo la salud del consumidor, tal como mesófilas aerobias y coliformes totales, mismos que deben estar presentes en $\leq 1 \times 10^5$ y $\leq 1 \times 10^2$ UFC ml⁻¹, respectivamente, para que la leche cruda se considere apta para el consumo humano (NOM-243-SSA1-2010).

En lo que respecta a los productos derivados de la leche, específicamente yogurt y queso fresco, las normas establecen que tanto el yogurt como el queso fresco deben de ser elaborados con leche cruda que cumpla con las especificaciones sanitarias mencionadas anteriormente. No obstante, para el caso del yogurt, la leche cruda debe contener $\leq 1 \times 10^7$ UFC ml⁻¹ de bacterias del cultivo iniciador y ausencia de cualquier otro microorganismo (NOM-181-SCFI-2010). Con respecto al queso fresco, la norma establece que la leche cruda utilizada debe someterse a tratamiento térmico o cualquier otro tratamiento que garantice su inocuidad (NOM-121-SSA1-1994).

De acuerdo con lo anterior, los sistemas de producción de leche a escala familiar, por lo general, no cumplen con las especificaciones que establecen las normas mexicanas para asegurar que los productos generados por estos sistemas (leche, queso fresco y yogurt) no sean un riesgo para la salud de los consumidores (FDA, 2012; Hernández y Vélez, 2014). Ello debido principalmente a que, dichos sistemas se caracterizan por poseer poca o nula tecnificación, para controlar la calidad de los productos generados en estos sistemas (Moreno *et al.*, 2012).

De manera general, en el país, las vacas bajo el esquema de producción familiar son alimentadas a base de forrajes nativos y esquilmos agrícolas, lo que genera ineficiencia productiva (García *et al.*, 2013). Además, el contar con deficientes prácticas higiénico sanitarias, a lo largo de todo el proceso productivo, provoca que la leche cruda producida en estos sistemas contenga altas cargas bacterianas, lo que pudiera generar serios problemas a la salud de los consumidores, tanto de las propias familias que la producen y consumen como de los consumidores de los mercados locales donde se expende este tipo de productos (SAGARPA, 2007; Reyes *et al.*, 2011; Arriaga *et al.*, 2013).

En concordancia con el párrafo anterior y las normas oficiales para la leche cruda y sus derivados (NOM-243-SSA1-2010), así como también, con las estrategias de seguridad alimentaria, los sistemas de producción de bovinos productores de leche no deberían comercializar sus productos, desafortunadamente en México los sistemas de producción familiar a pequeña escala, están desprotegidos por las políticas económicas del país y por ello conforman un mercado indefenso, informal y prácticamente sin controles sanitarios, los cuales abastecen a más del 50% de queserías de tipo artesanal registradas en el país (Garcés *et al.*, 2005) y, al ofertar sus productos pueden poner en riesgo la salud del consumidor y la de sus propias familias (FAO, 2013a).

Ante esta situación, es importante establecer estrategias que coadyuven a resolver la problemática de los sistemas de producción de bovinos a escala familiar, con el fin de hacerlos más eficientes productivamente y sobre todo que oferten sus productos bajo los estándares de calidad microbiológica que marcan las normas oficiales. Puesto que este tipo de sistemas aporta 3000 kg de leche vaca⁻¹ año⁻¹ (9.4%) a la producción de leche cruda a nivel nacional y, desde el punto de vista socioeconómico, su importancia radica en el

mantenimiento económico de más de 127 mil familias que se dedican a esta actividad (Vera *et al.*, 2009; IICA-COFUPRO, 2010).

Por último, se debe considerar que, la economía y la infraestructura tecnológica [*entorno*] de los sistemas de producción de bovinos productores de leche a escala familiar limita su participación en los sectores comerciales (García *et al.*, 2005; Sánchez y Sánchez, 2005). Además, estos sistemas generan una ganancia diaria aproximada de \$1.29 USD (si se toma en cuenta la producción promedio de leche vaca⁻¹ día⁻¹: 9 kg), ganancia que limita a los productores cubrir las necesidades básicas de sus familias (Moreno *et al.*, 2012). Sin embargo, éste sector ha persistido a través del tiempo, debido principalmente, a que el autoconsumo y/o venta de la leche cruda y sus subproductos se considera como un complemento del ingreso económico de las familias campesinas (INEGI, 1999).

2.2. Calidad microbiológica de le leche cruda

La leche cruda de vaca se define como la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas, excluida el calostro y que no ha sido sometida a tratamiento térmico (CODEX, 2011) para que sea considerada de calidad para consumo humano debe de cumplir con ciertas características fisicoquímicas (organolépticas, nutricionales, químicas, entre otras) y sanitarias (Román *et al.*, 2003). La calidad higiénica sanitaria está relacionada con la carga microbiana, tipo de microorganismos, así como, la presencia de enzimas y toxinas termo-resistentes, siendo estos la principal causa de que la leche se rechace (Duce *et al.*, 2012).

La FAO (2009), ha establecido que las enfermedades transmitidas por los alimentos, como la leche cruda con cargas bacterianas patógenas, son un problema recurrente en países en vías de desarrollo y deben ser consideradas en un ámbito de carácter social, tecnológico, económico, cultural y político, ya que tiene una influencia negativa en el desarrollo socioeconómico. Por ello, la importancia de las especificaciones de calidad de leche en las

diferentes normas oficiales acordes a los diferentes mercados de abastecimiento (Vázquez *et al.*, 2014): planta procesadora o consumidor final (NOM-243-SSA1-2010; CANILEC, 2011).

Es un hecho que, la calidad de la leche depende de varios factores, entre los más importantes se encuentran: los genéticos y los ambientales, los cuales están asociados a la calidad y cantidad de los insumos de la dieta, a las técnicas empleadas para la prevención de enfermedades, a las tecnologías para el control de los factores climáticos y en esencia a: i) sanidad de la ubre; ii) higiene del ordeño, iii) manejo de la leche y, iv) calidad de los procesos al que se someta a la leche antes de llegar al consumidor final (Celis y Juárez, 2009). Esta multitud de factores que determinan la calidad de la leche cruda, responden esencialmente a la riqueza en nutrientes de éste producto, aspecto que hace que la leche cruda sea un excelente medio de cultivo para la proliferación de microorganismos; algunos de ellos, potencialmente patógenos. Mientras que otros microorganismos son responsables de que la leche cruda pierda cualidades organolépticas y nutricionales. De aquí que la presencia de dichos microorganismos son los causantes de que la leche se vuelva un peligro para la salud pública y para la economía de cualquier país (Reyes *et al.*, 2011).

Vázquez *et al.* (2014) advierten que, a pesar de que la leche es sometida a procesos de pasteurización, aplicación de buenas prácticas en el ordeño, almacenamiento, transporte, manufactura y distribución, fundamentales para reducir la carga microbiológica y obtener productos con mayor vida de anaquel, no siempre se logra este objetivo, principalmente en la leche cruda proveniente de sistemas de producción de tipo familiar (Tornadijo *et al.*, 1998). Por ello, en la actualidad, uno de los retos de los sistemas de producción bovinos leche de tipo familiar es producir leche de calidad en términos microbiológicos, libre de inhibidores

que ponen en riesgo la salud del consumidor y dificultan los procesos de manufactura (Arriaga *et al.*, 2013).

El problema para la industria procesadora de leche cruda es que sí ésta no tiene control sanitario, antes, durante y después del ordeño, se reduce el rendimiento de los subproductos, se incrementan los costos de producción y se pone en riesgo la salud del consumidor final. Así, por ejemplo, la leche proveniente de vacas con mastitis subclínica reduce su rendimiento, hasta un 36.6%, al procesarla para la obtención de queso (Beiza *et al.*, 2007). Por otro lado, Ochoa (2013), encontró que la leche cruda provenientes de sistemas familiares contenía en promedio 162.5×10^3 UFC ml^{-1} para coliformes totales y 129.5×10^3 UFC ml^{-1} de mesófilas aerobias. Carrión *et al.* (2009) reportaron cuentas bacterianas entre 5.01×10^6 y 7.94×10^6 UFC ml^{-1} para mesófilas y de 1.99×10^2 a 3.16×10^3 UFC ml^{-1} de coliformes totales en leche cruda proveniente de sistemas familiares. Otros estudios reportan cifras similares en leche cruda proveniente de estos sistemas 1×10^8 a 1×10^9 UFC ml^{-1} de mesófilas aerobias y de 5.01×10^5 a 8×10^8 UFC ml^{-1} de coliformes totales (Flores *et al.*, 2009). Valores superiores a los parámetros de calidad que indica la norma oficial mexicana; 1×10^6 UFC ml^{-1} para mesófilas aerobias y 1×10^2 UFC ml^{-1} para coliformes totales, para que la leche cruda se pueda considerar como apta para el consumo humano (NMX-F-700-COFOCALEC, 2012).

Bajo las condiciones en las que se mantienen y ordeñan a las vacas de los sistemas familiares no es de sorprenderse por los resultados, citados en el párrafo anterior, de la calidad bacteriológica de la leche cruda proveniente de estos sistemas. Por lo que es de esperarse que los subproductos de este tipo de leche contengan cargas bacterianas que no cumplan con los estándares de calidad que marcan las normas para poder comercializarse sin el riesgo de provocar enfermedades al consumidor final.

2.3. Estándares de la calidad microbiológica de los quesos artesanales

En México, la fabricación de quesos representa la actividad más importante en la industria láctea, tan solo en el 2007 ocupó el tercer lugar en la industria alimenticia (Esteban *et al.*, 2012). No obstante, los sistemas de producción de quesos son heterogéneos, puesto que participan grandes empresas tanto de capital nacional como transnacional. Además, de un número no determinado de pequeñas queserías de tipo tradicional, las cuales producen hasta el 68% del total de la producción nacional (Agudelo, 2013; Lara *et al.*, 2014). Al respecto, las queserías de tipo artesanal en el país, actualmente presentan diferentes problemáticas; una de ellas, es el desconocimiento de la calidad de la materia prima (leche), además de la ausencia de buenas prácticas de manufactura (Ochoa, 2013), mismas que originan productos de pésima calidad y con una vida de anaquel inferior a la de los productos de la industria formal (Heredia, 2006). Debido a las elevadas cuentas bacterianas que presenta la materia prima (leche cruda), cuentas que se han encontrado por arriba de los estándares que señalan las normas para quesos frescos (Vázquez *et al.*, 2014) y, que se asocian con brotes de intoxicación (Delgado y Maurtua, 2003; Gia, 2016).

La NOM-243-SSAI-2005 prohíbe la elaboración, venta y comercialización de quesos frescos elaborados a partir de leche cruda sin tratamiento térmico, en el entendido que este, garantiza la inocuidad del subproducto terminado. Sin embargo, la idiosincrasia del productor artesanal y los aspectos socioeconómicos prevalecientes en las zonas rurales del país, no permiten un cambio radical en la manera de obtener y elaborar productos a partir de la leche cruda, mismos que, se siguen fabricando y comercializando (Hernández *et al.*, 2013).

En relación a la calidad microbiológica de los quesos frescos, la NOM-121-SSA1-1994, establece que los quesos no deben de presentar un valor mayor a 3.98×10^6 UFC g⁻¹ de

mesófilas aerobias y no más de 1×10^2 UFC g^{-1} de coliformes totales para ser considerado apto para el consumo. No obstante, Maldonado *et al.* (2011) encontraron cargas microbianas de 3.46×10^5 UFC g^{-1} de mesófilas aerobias y 2.39×10^3 UFC g^{-1} de coliformes totales, en queso fresco derivado de leche cruda sin pasteurizar. Cristóbal y Maurtua (2003) evaluaron quesos frescos artesanales comercializados en mercados locales y encontraron cargas microbianas de 5.24×10^6 UFC g^{-1} de mesófilas aerobias y 3.98×10^2 UFC g^{-1} de coliformes totales. Resultados que indican que la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales no cumple con los estándares de la norma oficial: NOM-121-SSA1-1994.

De acuerdo con la función socioeconómica de los sistemas de producción de leche (y sus subproductos) a escala familiar, es importante investigar e implementar una o varias tecnologías que permita a dichos sistemas incrementar la calidad microbiológica de la leche cruda y su uso, sin tratamiento térmico, para la elaboración de quesos frescos sin que éstos pongan en riesgo la salud del consumidor (Herrero y Romero de Ávila, 2006; Milena *et al.*, 2009). Debido a que en el mercado nacional, se prefieren el queso fresco artesanal por ser de pasta blanda, poseer un sabor suave y, por su precio: accesibles para las economías de las familias rurales o de zonas marginadas (Gutiérrez *et al.*, 2007; Melgar, 2009). Sin embargo, ha crecido la presión para estos sistemas, para que ofrezcan productos inocuos y con características típicas de aroma y sabor de los quesos genuinos (Quintero, 2010; Tapia, 2013).

2.4. Estándares de calidad microbiológica del yogurt artesanal

En México, la elaboración de productos artesanales derivados de la leche cruda sigue siendo una costumbre, tanto en las comunidades rurales como en las áreas periurbanas de las ciudades, en donde el yogurt es uno de los principales subproductos que se comercializan en los mercados locales (López, 2011); tan solo en el 2007, el 11%, del total de leche producida,

fue destinada a la elaboración de yogurt (SAGARPA, 2010). No obstante, a diferencia del queso fresco artesanal, en la elaboración del yogur artesanal se requiere que la leche cruda reciba un tratamiento térmico de 85 °C por 30 minutos o hasta el punto de ebullición (Calixto *et al.*, 1999), para intentar asegurar la disminución de la carga bacteriana patógena presente en este tipo de leche. Sin embargo, este tratamiento no garantiza la inocuidad del producto terminado (Salcedo *et al.*, 1988).

Otros elementos importantes dentro de la elaboración del yogurt que inhiben el crecimiento de bacterias, además del tratamiento térmico, es la propia acidez del yogurt; así como, las bacteriocinas del cultivo iniciador que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas como: *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, entre otras. Sin embargo, en yogures artesanales donde la leche no lleva un proceso de pasteurización adecuado, además de las malas prácticas de elaboración de dicho producto, algunas bacterias llegan a resistir el ácido láctico (Salcedo *et al.*, 1988; Calixto *et al.*, 1999). En este sentido, Calderón *et al.*, (1999) encontraron que el yogurt derivado de leche sin pasteurizar rebasa el límite establecido de coliformes que marca la NOM-093-SSA1-199: 1×10^1 UFC ml^{-1} límite máximo microbiológico permisibles para coliformes totales como para mohos y levaduras.

Por su parte, Echeverría (2006) también determinó que la calidad microbiológica del yogurt artesanal no alcanza los estándares de calidad que marca la norma oficial mexicana, puesto que encontró un elevado número de UFC ml^{-1} para coliformes ($>1 \times 10^2$), valor fuera del límite máximo permitido. No obstante, Navas y Arciniegas (2008), Castillo y Escudero (2010) intentaron mejorar la calidad microbiológica del yogurt artesanal mediante el uso de productos bacteriostáticos naturales, sin lograr el objetivo. Puesto que, el yogurt artesanal obtenido en sus investigaciones mostró cargas bacterianas mayores a 6×10^2 UFC ml^{-1} de coliformes totales.

2.5. Uso de probióticos y probióticos para mejorar la calidad microbiológica del yogurt y queso

En la actualidad se han realizado diversos estudios del efecto de cultivos probióticos (*Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus bulgaricus*, entre otros) sobre la disminución del crecimiento de bacterias patógenas entéricas (*Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp, principalmente) en productos lácteos (Ramírez *et al.*, 2011; Zamora *et al.*, 2012; Maldonado, 2013). Sin embargo, los resultados obtenidos son controversiales, por lo que se insiste en aplicar las prácticas de manufactura que establece la norma NOM-251-SSA1-2009; en las cuales se incluye o se hace énfasis en la utilización de materias primas con calidad microbiológica para la elaboración de yogurt y queso (Salvatierra, 2004; Barrantes, 2004).

En relación a las prácticas que establece la norma NOM-243-SSA1-2010 destaca que la leche cruda debe de someterse a tratamiento térmico (pasteurización lenta 62 °C durante 30 min o rápida 72 °C durante 15 seg), o cualquier otro método que garantice su inocuidad, independientemente del uso que se le dé posteriormente. Cabe señalar que, algunas bacterias son termo-resistentes entre 60 a 90 °C; otras, pueden resistir hasta 110°C (*Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*). Al respecto, Agarwal *et al.* (2012; citado por Vázquez *et al.*, 2014), aislaron coliformes, hongos y levaduras en leche pasteurizada e identificaron *Salmonella* sp, *Shigella* sp y *Listeria monocytogenes*. Por lo cual, se debe de considerar que aun y cuando la leche se someta a un correcto tratamiento térmico sigue siendo un producto altamente susceptible de contaminarse por bacterias coliformes fecales y *S. aureus*, principalmente (Leite *et al.*, 1997). Aunado a ello, los tratamientos térmicos provocan disminución en la calidad nutricional de la leche y sus subproductos, por lo que se deben

buscar alternativas que disminuyan la carga microbiana patógena sin el decremento de la calidad nutricional (Duce *et al.*, 2012).

Actualmente, los diversos estudios enfocados a la disminución de los microorganismos patógenos, como la inclusión directa de bacteriocinas (Maldonado y Llanca, 2007) y peróxido de hidrógeno, no satisfacen a la industria del yogur y queso, puesto que afectan la disminución de microorganismos iniciadores no patógenos (FAO, 2005). Por otra parte, la inclusión, a los productos lácteos, de ingredientes con efecto prebiótico como la fibra, ha hecho posible transformar sus características físicas y químicas, otorgándole características de un alimento funcional (Goncalvez de Oliveira, 2012). Así, por ejemplo, Simanca *et al.* (2013) encontró que la adición de 1, 3 y 5% de salvado de trigo influyó de manera favorable en la aceptación sensorial del producto, pero evidenció pérdida de calidad fisicoquímicas del producto.

Otras alternativas evaluadas, incluyen fibra de naranja, plátano y calabaza como mejoradores de la calidad microbiana del yogurt (Jiménez *et al.*, 2008). Sin embargo, no se obtuvo un coágulo firme debido a que las cuentas de microorganismos fermentadores estuvieron por debajo de los estándares que marca la norma NMX-F-703-COFOCALEC-2004: las bacterias lácticas deben estar presentes $\geq 1 \times 10^7$ UFC ml⁻¹ (PROFECO, 2006). Ante estos resultados, se debe buscar una alternativa que disminuyan las bacterias patógenas y que mantenga viables a las bacterias del tipo probióticos (FAO, 2005).

2.6 Uso del nopal en la calidad microbiológica de la leche cruda y sus subproductos

La organización mundial de la salud (OMS) y empresas transnacionales procesadoras de alimentos, fomentan y centran sus esfuerzos por la utilización de compuestos de origen natural que disminuyan y/o eliminen microorganismos indeseables en alimentos (Vásquez *et al.*, 2009; Negi, 2012; Yost, 2014; Agudelo *et al.*, 2015). Estos compuestos poseen actividad

antimicrobiana y pueden ser adicionados a la leche y sus subproductos (Taylor, 2014; Zalán, 2015). Pues su principal función es inhibir o inactivar microorganismos patógenos que ponen en riesgo la inocuidad del alimento (Gruenwald, 2009; Keenan *et al.*, 2012). Por lo que el uso de éstas sustancias puede ser una alternativa, en sustitución de conservadores químicos y métodos físicos que encarecen los costos de producción (Alaniz *et al.*, 2006; Rodríguez, 2011; David *et al.*, 2013). Además, estos aditivos de origen natural son aceptados por los consumidores (Kim *et al.*, 2011); ejemplo de esto, son las bebidas lácteas adicionadas con prebióticos que, además de otorgar efectos antioxidantes, contribuyen a la inocuidad; produciéndose así, alimentos innovadores y funcionales (Belaqziz *et al.*, 2013; Prado *et al.*, 2008).

Davidson *et al.* (2013), señalan que un aditivo antimicrobiano de origen natural debe ser eficaz a bajas concentraciones en su forma natural, económico, no causar cambios sensoriales en el alimento, de amplio espectro y no ser tóxico para el consumidor. A este respecto, las plantas son una fuente inagotable de sustancias químicas para el desarrollo de nuevos aditivos antimicrobianos (Hammer *et al.*, 1999; Moussa *et al.*, 2016). Dentro de éstas plantas se encuentra el nopal (*Opuntia* sp) caracterizado por crecer en regiones áridas y semiáridas (Reveles *et al.*, 2010). En general, las cactáceas (*Opuntia* sp) se han utilizado para la alimentación humana y animal (Vázquez *et al.*, 2007; Tovar, 2008). Sin embargo, en diversas investigaciones, se ha observado que el nopal posee propiedades neutracéuticas, anti-inflamatorias, anti-hiperglucémicas, antioxidantes y antimicrobianas (Halmi *et al.*, 2012; Juárez *et al.*, 2014; Ortiz *et al.*, 2012).

Respecto a las propiedades antimicrobianas del nopal, Soria (2010), encontró que la leche proveniente de vacas alimentadas con una dieta complementada con nopal presentó 1.9×10^2 UFC ml⁻¹ de coliformes totales en comparación con 3.31×10^3 UFC ml⁻¹ de coliformes totales

encontrado en la leche cruda proveniente de vacas que no consumieron nopal. Este mismo efecto lo encontraron Ortiz *et al.* (2012) en la leche cruda derivada de vacas complementadas con nopal, misma que contenía 3.9×10^1 UFC ml^{-1} de mesófilas aerobias y de 1.6×10^2 UFC ml^{-1} para coliformes totales; ambos valores inferiores a los encontrados en leche cruda proveniente de vacas que no consumieron nopal, como complemento de su dieta; la cual contenía 5.1×10^3 UFC ml^{-1} para mesófilas aerobias y 3.16×10^3 UFC ml^{-1} para coliformes totales. En lo que respecta a la calidad microbiológica del queso fresco artesanal, también se ha encontrado una reducción de mesófilas aerobias (3.1×10^3 UFC g^{-1}) y de coliformes totales (1×10^4 UFC g^{-1}) cuando se utilizó leche cruda derivada de vacas alimentadas con nopal, en comparación con las cuentas bacterianas del queso fresco artesanal fabricado a partir de leche cruda proveniente de vacas que no consumieron nopal: 1×10^4 UFC g^{-1} de mesófilas aerobias y 1.2×10^5 CT UFC g^{-1} de coliformes totales.

Los efectos del nopal como complemento en la dieta de las vacas productoras de leche sobre la calidad microbiológica de la leche cruda y el queso fresco artesanal, también se ha observado cuando el nopal o sus partes se pone en contacto directo con la leche cruda, al respecto Ortiz *et al.* (2011) encontraron que la adición directa de mucílago de nopal, epidermis de nopal o nopal molido, en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0%, a la leche cruda disminuye la carga bacteriana de la misma ($P < 0.05$), en comparación con la leche cruda sin adición de partes de nopal (testigo). No obstante, la adición de epidermis de nopal o nopal molido, en concentraciones de 0.5 y 1% (con base a 100 ml de leche) a la leche cruda se comportó mejor ($P < 0.05$); en lo referente a la disminución de mesófilas aerobias y coliformes totales, en comparación con el mucílago del nopal.

Las posibles explicaciones de la reducción de mesófilas aerobias y coliformes totales en la leche cruda, por efecto de la complementación de la dieta de vacas con *Opuntia ficus-indica*, giran en torno a los pectin-oligosacáridos presentes en el nopal; mismos que, estimulan el desarrollo de bifidobacterias que estimulan el sistema inmune del hospedero y en consecuencia se incrementa la resistencia contra la colonización de microorganismos patógenos (Guevara, 2009). Otra posible explicación se centra en los compuestos químicos tales como fenoles y flavonoides, principalmente. Mismos que se absorben en el intestino, aunque la biodisponibilidad es menor en rumiantes que en monogástricos, debido a que la población microbiana del rumen utiliza estos compuestos. Sin embargo, existen compuestos de origen fenólico (taninos e isoflavonas) que no sufren metabolismo ruminal (Gohlke *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2014; Busanello *et al.*, 2017) y pueden pasar por el hígado donde son metabolizados por glucuronidación, sulfatación y en algunos casos, entran al ciclo enterohepático. No obstante, la mayoría pasa a torrente sanguíneo (Adlercreutz *et al.*, 1985; Setchell *et al.*, 2003), secretándose en la leche lo que disminuye la carga bacteriana presente en los canales del pezón que provocan mastitis subclínica (Campos y Hernández, 2008; Escamilla *et al.*, 2009; Florio *et al.*, 2015; Cruz y Lizarado, 2015).

El efecto antimicrobiano del nopal en la leche cruda también se ha observado cuando esta planta fue adicionada en partes (epidermis, mucílago) o molida a la leche cruda, en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0%, respectivamente (Ortiz *et al.*, 2011). La adición de epidermis y nopal molido en concentraciones de 0.5 y 1% (en base a 100 ml) a la leche cruda mejoró la calidad microbiológica de ésta ($P < 0.05$), puesto que disminuyó la UFC ml^{-1} de mesófilas aerobias y coliformes totales, en comparación con el mucílago del nopal y con la leche cruda sin adición de partes de nopal (testigo). Estas diferencias antimicrobianas se pueden explicar a través de las sustancias o metabolitos secundarios (fenoles, alcaloides,

terpenos, entre otros) presentes en las cactáceas, mismos que son utilizados por la planta para defenderse contra los microorganismos patógenos o contra los herbívoros o insectos que pueden causarle daño; concentrándose estos compuestos en sus cortezas, hojas y tejidos epidérmicos. (Commenil *et al.*, 1997; Valares, 2011; Vilela *et al.*, 2011).

Para aspectos de reducción de la carga bacteriana en leche cruda post-contacto directo de las partes de nopal con la misma, es posible que ésta reducción se relacione con los mecanismos de defensa química de esta planta, como lo son los metabolitos secundarios (Langenheim, 1994); mismos que son almacenados en vacuolas u organelos y liberados al citoplasma o espacio extracelular naturalmente. De estos metabolitos secundarios, las fitoalexinas (flavonoides) podría explicar el efecto bacteriostático de la epidermis del nopal en contacto con la leche cruda, puesto que dichos compuestos químicos son liberados por las cactáceas ante la presencia de patógenos o estrés abiótico (Glazebrook, 2005; Thatcher *et al.*, 2005; Wiermer *et al.*, 2005).

Otros compuestos químicos presentes en los cladodios del nopal y que podrían explicar la reducción de UFC ml⁻¹ de mesófilas aerobias y coliformes totales son, el ácido málico y el ácido cítrico, puesto que estos son los principales metabolitos secundarios del metabolismo del ácido crasuláceo (CAM) de las cactáceas (De Andrade *et al.*, 2012). El ácido málico, está relacionado con la inhibición o suspensión del crecimiento de varias especies bacterianas en cactáceas. Su acción bacteriostática, parece estar basada, no solo en su poder acidificante, sino también, en la capacidad para penetrar a través de la pared celular del microorganismo, reducir el pH del citoplasma, incrementar los gastos energéticos, alterar el equilibrio osmótico y perjudicar la síntesis de ADN, lo que evita la replicación de los microorganismos (Arango, 2010; Sánchez, 2012).

De acuerdo con los resultados de las investigaciones del efecto del nopal sobre la calidad microbiológica de la leche cruda, se ha observado que la parte más importante del nopal, como agente inhibidor de la carga bacteriana de la leche cruda, es la epidermis (Ortiz *et al.*, 2011). Al respecto, la epidermis juega un papel importante, puesto que dicha estructura producto de la evolución de las plantas superiores, tiene como función aislar y proteger al cladodio del medio externo (Bargel *et al.*, 2006; Yeats *et al.*, 2010). Fisiológicamente la epidermis y específicamente la cutícula, se encarga de regular: la transpiración, el balance de agua (Veraverbeke *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2003), el intercambio de gases (Kolattukudy, 1996) y, brinda protección contra patógenos y daños mecánicos (Commenil *et al.*, 1997). Sin embargo, la resistencia que ofrece la epidermis a la penetración de microorganismos no dependen específicamente de su grosor, sino más bien, de los cambios de la estructura cuticular (Knoche *et al.*, 2004), de la variación de sus componentes (principalmente lípidos solubles cuticulares) y las proporciones en que éstos se encuentran (Verardo *et al.*, 2003; Schreiber, 2005).

En cuanto a los compuestos metabólicos secundarios, específicamente de nopal (*O. ficus-indica*), se han evaluado diferentes extractos de esta planta y se ha evidenciado que poseen actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, entre otros) y en algunos casos éste efecto perdura hasta por diez semanas. Además, no se afecta dicha actividad en presencia de sales o iones metálicos (Kim *et al.*, 2002; Mokbel and Sukanuma, 2006; Castillo *et al.*, 2013; Lee y Rho 2012; Lou *et al.*, 2012; Umar *et al.*, 2013; Chougui *et al.*, 2015). Estos extractos se han caracterizado por contener ácidos fenólicos, flavonoides, carotenos, fitoesteroles y

clorofila (Livrea y Tesoriere 2006; Guevara *et al.*, 2010; Medina *et al.*, 2011; Chougui *et al.*, 2013).

Otros estudios han documentado la presencia de moléculas orgánicas en cladodio de *O. ficus-indica*: ácido gálico, ácido p-coumérico 3,4-dihidroxibenzoico, ácido ferúlico, ácido salicílico, isoquercetina, Isorhamnetin-3-*O* glucoside, nicotiflorin, rutina y narcissin (Valente *et al.*, 2010; Bensadón *et al.*, 2010; Guevara *et al.*, 2010; Mostafa *et al.*, 2014). De estos compuestos, Sánchez (2012) señala que el ácido p-coumérico puede ser el principal compuesto que afecta la permeabilidad de la membrana celular de *Vibrio cholerae* y *Clostridium perfringens*, lo que provoca la pérdida de componentes celulares como iones (K⁺ y Ca⁺), ácido nucleico, aminoácidos, entre otros (Ultee *et al.*, 1999; Lambert *et al.*, 2001 Cox *et al.*, 2012). Además de provocar cambios en el pH citoplasmático y la disminución del ATP celular, en su conjunto resultando en la actividad antimicrobiana (Duran *et al.*, 1997).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, la seguridad alimentaria y la inocuidad de los alimentos deben ser conceptos clave para todo sistema que produzca leche cruda o subproductos lácteos, pero sobre todo, para los sistemas de producción de leche de bovinos a escala familiar, quienes ofertan subproductos lácteos no pasteurizados como el yogurt y queso fresco, con la posibilidad de contener altas cargas bacterianas y poner en riesgo la salud del consumidor. Sin embargo, la baja eficiencia productiva de los sistemas productores de leche a escala familiar (9 kg de leche vaca⁻¹ d⁻¹) genera ganancias diarias que limitan cubrir las necesidades básicas de los productores y el de sus familias, lo que imposibilita que inviertan en infraestructura tecnológica para la salud de la ubre de sus vacas y en los procesos de conservación de la leche o de la elaboración de productos lácteos, como sería el caso del queso fresco artesanal y del yogurt artesanal. De aquí, la importancia de encontrar, evaluar y transferir una tecnología que permita continuar con la producción y venta de leche y sus subproductos de los sistemas de producción a escala familiar, sin poner en riesgo la salud del consumidor. Se ha establecido que el contacto directo de nopal (*O. ficus-indica*) con leche cruda disminuye las cargas bacterianas de mesófilas aerobias y coliformes totales de éste producto, por lo que se debe investigar si éste efecto se mantiene durante el proceso de elaboración y almacenamiento del queso fresco artesanal y del yogurt artesanal, derivados de leche cruda previo contacto directo con epidermis de cladodio de nopal.

4. HIPOTESIS

El consumo de cladodios de nopal por parte de vacas Holstein bajo confinamiento total o el contacto directo de epidermis de nopal (*O. ficus-indica*) con la leche cruda (durante dos horas) disminuye la carga (UFC) de microorganismos patógenos (coliformes totales, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus áureus*) presentes en la leche, efecto que perdura durante la elaboración y almacenamiento del queso fresco artesanal y yogurt artesanal, puesto que el nopal posee metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de dichos microorganismos.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de una dieta para vacas Holstein en confinamiento total complementada con nopal (*O. ficus-indica*) y el efecto de la adición directa de epidermis de nopal (*O. ficus-indica*) deshidratada y fresca a la leche cruda sobre la calidad microbiológica del queso fresco y yogurt artesanal.

5.1 Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de *O. ficus-indica* como complemento de la dieta de vacas Holstein bajo condiciones de confinamiento total y en época de lluvias sobre la producción y calidad bacteriológica de leche cruda.
2. Evaluar la calidad bacteriológica del queso fresco artesanal elaborado a partir de leche cruda proveniente de vacas Holstein alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ y bajo confinamiento total y en época de lluvia.
3. Establecer la calidad bacteriológica del yogurt artesanal elaborado a partir de leche cruda proveniente de vacas Holstein alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ y bajo confinamiento total y en época de lluvia.
4. Determinar el efecto del contacto directo de la epidermis de *O. ficus-indica* fresca o deshidratada con la materia prima (leche cruda) para la elaboración del queso fresco artesanal sobre la calidad bacteriológica de éste durante su elaboración y almacenamiento.
5. Evaluar el efecto del contacto directo de la epidermis de *O. ficus-indica* fresca o deshidratada con la materia prima (leche cruda) para la elaboración del yogurt artesanal sobre la calidad bacteriológica de éste durante su elaboración y almacenamiento.

6. Materiales y métodos

Para el logro de los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación y para fines de este apartado, la fase experimental fue diseñada por etapas, las cuales se describen a continuación.

6.1 Primera etapa: Determinación del efecto del nopal (*O. ficus-indica*) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal)

En ésta etapa se seleccionaron al azar 14 vacas Holstein entre 2 y 4 partos, con 172 ± 104 días de lactancia y una producción promedio de 20.1 ± 5.7 litros vaca¹. Los animales pertenecían al sector de bovinos productores de leche de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). La cual se ubica en el kilómetro 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro del municipio de Tarímbaro, Michoacán, México. En las coordenadas $19^{\circ}48'$ de latitud norte y $101^{\circ}10'$ de longitud oeste, a una altura de 1,960 msnm, con temperatura media anual de 17.7°C y precipitación pluvial de 786 mm al año (INEGI, 2012).

Con las 14 vacas se formaron dos grupos: Grupo 1 (n=7), grupo de vacas seleccionadas al azar, las cuales recibieron una dieta convencional (Tabla 1) durante toda la fase experimental y, Grupo 2 (n=7), grupo de vacas alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal (*Opuntia ficus-indica*) día⁻¹ vaca⁻¹ (Tabla 1). Además, este grupo fue sometido a una semana de adaptación de la dieta antes de iniciar con la fase de monitoreo y registro de las variables a evaluar.

Tabla 1. Dietas suministradas a las vacas Holstein bajo confinamiento total durante la fase experimental de cuerdo al grupo

Dieta convencional ofrecida a las vacas Holstein (Grupo 1)					
Ingrediente	MS (Kg)	MS (%)	PC (%)	EM/Mcal	Fresco (Kg)
Concentrado		90	12.03	2.61	1.5
Avena		92	6.01	2.16	10.02
Alfalfa		25.3	17.53	2.55	30
Total (Kg)	18.2	43.83	3.869*	1.92	41.52
Dieta suplementada con nopal ofrecida a las vacas Holstein (Grupo 2)					
Concentrado		90	12.03	2.61	1.5
Nopal		8.7	5.72	2.55	12
Alfalfa		25.3	17.53	2.55	30
Total (Kg)	18.2	41.83	3.869*	1.92	43.5

*Equivalente al 18% de proteína cruda

El nopal (12 kg día⁻¹vaca⁻¹) se ofreció al Grupo 2 en forma fresca (< 7 días de haberse cosechado) y en trozos de 3 cm², aproximadamente. Los cladodios de nopal fueron recolectados de la parcela donde se cultiva *O. ficus-indica*, perteneciente a la unidad experimental “CRUCO” campus Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), ubicado en Morelia, Michoacán, México, en las coordenadas 19°41'12.1"Norte 101°14'17.5"Oeste; cuyas condiciones climáticas son: clima templado sub-húmedo, temperatura media anual entre 12°C y 18°C, precipitación de 786 milímetros promedio anual; lluvias en invierno de 4 a 5 milímetros (INEGI, 2010).

El periodo experimental fue de 22 días post-adaptación a la dieta del G2, en el cual se midió en ambos grupos: producción de leche (kg) vaca⁻¹ día⁻¹ y calidad bacteriológica de: la leche cruda grupo⁻¹, queso fresco artesanal grupo⁻¹ (a las 0, 12, 24 y 48 h post-elaboración) y yogurt artesanal grupo⁻¹ (a las 0, 12, 24, 48 y 120 h post-elaboración); ambos subproductos lácteos, elaborados a partir de la leche de los grupos monitoreados. Tanto el QFA como el yogurt artesanal fueron elaborados en el taller de lácteos de la FMVZ-UMSNH y los análisis

bacteriológicos, incluidos los de la leche cruda, se realizaron en el Centro Multidisciplinarios en Estudios de Biotecnología (CMEB) de la FMVZ-UMSNH.

Para la determinación de la calidad bacteriológica de la leche cruda, de cada grupo (Grupo 1 y Grupo 2), se utilizaron tres muestras día⁻¹ de leche cruda (100 ml c/u), obtenidas después de homogenizar la producción total de la leche producida en la ordeña de la mañana (5:00 h) por cada grupo. Las muestras fueron recolectadas, codificadas y transportadas en vasos estériles con tapa de rosca mismas que fueron almacenadas a 4°C mientras se procesaban, ello de acuerdo a la norma oficial mexicana (NOM) 109-SSA1-1994.

Para la elaboración del queso fresco artesanal (QFA), se utilizaron 20 kg de leche cruda (LC) producida por cada grupo (Grupo 1 y Grupo 2) durante la ordeña de la mañana (5:00 h). La elaboración del QFA se realizó de acuerdo al método utilizado por los productores de éste tipo de queso. El proceso comenzó con el tratamiento de calor a la LC grupo⁻¹ hasta que ésta alcanzó 33 °C; una vez que la LC grupo⁻¹ alcanzó dicha temperatura, se le adicionó cuajo líquido esterilizado (Cuamix^{MR}) a una relación de 1:0.001 L; una vez homogenizado el cuajo en la LC grupo⁻¹, se dejó en reposo la leche durante 50 min; tiempo en el cual se produjo la precipitación de caseínas (cuajada); obtenida la cuajada, se prosiguió a cortar cada cuajada de la LC grupo⁻¹ en cubos de aproximadamente de 1 cm³ y se dejaron madurar por 30 min; posterior a la maduración de las cuajadas, cada cuajada se colocó en una bolsa de manta, previamente esterilizada, para proceder con el prensado o desuerado manual de cada cuajada hasta obtener una pasta semi-sólida; inmediatamente después de la obtención de la pasta, se incorporó el 2.5% de sal (NaCl), porcentaje establecido con base a los kilogramos de cuajada desuerada obtenida de cada grupo (Grupo 1 y Grupo 2); después de la incorporación y homogenización del NaCl en la cuajada grupo⁻¹, ésta se prensó en moldes de 200 gr, lo cual

generó un total de 10 muestras grupo⁻¹ de QFA; finalmente, las muestras fueron almacenadas y conservadas a 4 °C hasta que estas se sometieron al análisis bacteriológico.

En relación al proceso de la elaboración del yogurt artesanal, éste se elaboró a partir de LC producida por las vacas de los grupos analizados (Grupo 1 y Grupo 2). Se utilizaron tres kg de LC grupo⁻¹, la cual se obtuvo del ordeño de la mañana (5:00 am). De dicha cantidad se tomaron tres muestras de 100 ml de LC grupo⁻¹ para determinar su calidad bacteriológica, ello de acuerdo con la NOM-109-SSA1-1994. El resto de la LC grupo⁻¹ se sometió al proceso para producir yogurt artesanal y, para ello, se inició calentando la LC hasta que alcanzó 45 °C e inmediatamente inocular la LC grupo⁻¹ con *Lactobacillus delbrueckii subsp*®, *bulgaricus*® y *Streptococcus thermophilus*® específicos para la elaboración de yogurt (YO-MIX™ 401 LYO 50DCU DANISCO). Una vez homogenizada la LC grupo⁻¹ con los inóculos descritos se procedió a dividir la LC en muestras (n=15 grupo⁻¹) de 150g c/u para proceder a la incubación, misma que se realizó a 45 °C por 7 h; transcurrido ése tiempo, las muestras se almacenaron y se conservaron a 4 °C hasta proceder a su análisis bacteriológico.

El análisis bacteriológico de la LC grupo⁻¹ semana⁻¹ y el QFA elaborado grupo⁻¹ semana⁻¹ de la fase experimental (21 días) consistió en la determinación de las unidades formadoras de colonia (UFC g⁻¹) de mesófilas aerobias, coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a las 0, 12, 24 y 48 h post-elaboración del QFA grupo⁻¹ semana⁻¹. Para el caso del yogurt artesanal grupo⁻¹ semana⁻¹ se determinó únicamente las UFC ml⁻¹ de mesófilas aerobias y coliformes totales a las 0, 12, 24, 48 y 120 h post-elaboración.

La información recabada durante la fase experimental fue analizada a través de la metodología de mediciones repetidas utilizando para ello los modelos de efectos fijos; mediante los siguientes modelos:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + (G*S)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = producción de leche (kg)

μ = Promedio general

G_i = Efecto del i ésimo Grupo, con i = Grupo 1 y Grupo 2

S_j = Efecto del j ésima Semana, con j = 1, 2 y 3 semanas

$(G*S)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i ésimo Grupo* j ésima Semana

ϵ_{ijk} = Error aleatorio asociado a cada observación ($\sim NID=0, \sigma^2_e$).

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + H_k + (G*S)_{ij} + (H*G)_{ki} + (G*S*H)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = calidad bacteriológica (UFC de mesófilas aerobias, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*) de LC, QFA y yogurt artesanal

μ = Promedio general

G_i = Efecto del i ésimo Grupo, con i = Grupo 1 y Grupo 2

S_j = Efecto del j ésima Semana, con j = 1, 2 y 3 semanas

H_k = Efecto del k ésima Hora, con k = 0, 12, 24 y 48 h (QFA), con k = 0, 12, 24, 48 y 120 h (yogurt)

$(G*S)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i ésimo Grupo* j ésima Semana

$(H_k*G)_i$ = Efecto de la interacción del k ésima Hora* i ésimo Grupo

$(G*S*H)_{ijk}$ = Efecto de la triple interacción del i ésimo Grupo* j ésima Semana* k ésima Hora

ϵ_{ijkl} = Error aleatorio asociado a cada observación ($\sim NID=0, \sigma^2_e$).

Las diferencias entre grupos se obtuvieron mediante el método de medias de mínimos cuadrados (LsMeans, siglas en inglés) con prueba de t a un $\alpha=0.05$ (Littell *et al.*, 2002; Littell *et al.*, 2006).

6.2 Segunda etapa: Evaluación de la adición directa de epidermis de *O. ficus-indica* (fresca y deshidratada) y extractos etanólicos de *O. ficus-indica* y *O. atropes* a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos lácteos sobre la calidad bacteriológica del queso fresco artesanal y del yogur artesanal.

La investigación se realizó en el laboratorio de bromatología de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”-UMSNH, ubicada en el municipio de Uruapan, Michoacán, México. La leche cruda se obtuvo del sector de bovinos productores de leche, perteneciente al Rancho Experimental de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”-UMSNH; cuyas características fisiográficas son: Latitud Norte: 19° 25' 10"; Longitud Oeste: 102° 03' 30"; altitud sobre el nivel del mar: 1620 m, con temperatura media de 20° C y precipitación media anual de 1100 mm, con climas cálido sub- húmedo, semi-cálido y templado húmedo (INEGI, 2010).

La epidermis de nopal (*O. ficus-indica* y *O. atropes*) se obtuvo de cladodios colectados en la parcela de la unidad experimental “CRUCO” campus Universidad Autónoma de Chapingo (UACH). La selección de los cladodios se llevó a cabo antes del corte, en función de su tamaño (≥ 30 cm de largo) y aspecto (libres de daño), tomando la clasificación establecida por la norma mexicana (NMX-FF-068-SCFI-2006).

Los cladodios se lavaron con agua corriente y se desinfectaron con una solución al 2% de NaClO por 5 min y para asegurar que en los cladodios no quedaran restos de NaClO, éstos se enjuagaron cinco veces con agua des-ionizada esterilizada. Inmediatamente después de haberse enjuagado se procedió a retirar la epidermis (cutícula, epidermis, colénquima y parénquima) de cada cladodio con un pelador® (ekco modelo 1045559), previamente desinfectado. El 50 % del total de epidermis obtenida de los cladodios se utilizó como epidermis fresca (EN_{BF}) y el 50 % restante fue utilizada para la obtención de la epidermis

deshidratada (EN_{BS}), mediante el proceso de desecación a 40 °C, ello se realizó con un horno de secado durante 68 h.

En relación a los extractos polares de *O. ficus-indica* y *O. atropes*, estos se obtuvieron a partir de la EN_{BS} variedad⁻¹, misma que fue molida en un mortero de porcelana hasta obtener EN_{BS} variedad⁻¹ en polvo. Posteriormente, la extracción se realizó por el método de maceración (25 g muestra¹) con etanol (400 mL a 50%) por 5 h. Antes de la extracción las muestras fueron desengrasadas por maceración con hexano (200 ml) durante 2 h y, se calculó el rendimiento de extractos polares totales de EN_{BS} variedad⁻¹: total de compuestos extraídos con etanol, entre ellos polifenoles. Los polifenoles totales (PT) se obtuvieron por medio de la diferencia del peso constante de 5 ml de cada extracto (con tres repeticiones) antes y después del deshidratado (Tabla 2).

Tabla 2. Rendimiento y concentración de los extractos polares y polifenoles totales.

Muestra	Extractos etanólicos (50%)		200 ml de extractos concentrados hasta 45 ml	
	Extracto polar total mg ml ⁻¹	Polifenoles Totales mg ml ⁻¹	Extracto polar total mg ml ⁻¹	Polifenoles Totales mg ml ⁻¹
E _{OFI}	15.64	0.041	69.52	0.182
E _{OA}	170.91	0.007	759.59	0.031

La concentración de PT de los extractos etanólicos (Tabla 2), se determinó como μg equivalentes a ácido gálico (EAG) ml⁻¹, para ello se preparó una recta de ácido gálico con diferentes concentraciones (20 a 150 $\mu\text{g ml}^{-1}$). El cálculo de la concentración de PT ($\mu\text{g EAG ml}^{-1}$) en extractos etanólicos (8 repeticiones), con promedios de absorbancia (nm) de las diferentes concentraciones de la recta, se obtuvieron a través de los estimadores de la regresión lineal β_0 (-1.17423161) y β_1 (55.03054604). Por último, los 200 ml de cada extracto fueron concentrados en 45 ml (Tabla 2).

Para la evaluación del efecto de la adición directa de epidermis de *O. ficus-indica* (EN_{BF} y EN_{BS}) y de extractos etanólicos de *O. ficus-indica* (E_{OFI}) y *O. atropes* (E_{OA}) a la LC sobre la calidad bacteriológica del QFA, se emplearon 28 kg de LC previo a la elaboración QFA. El total de la LC se fraccionó en seis partes, ello de acuerdo al diseño experimental (Tabla 3):

Tabla 3. Diseño experimental para la determinación del efecto de la adición de epidermis de nopal (*O. ficus-indica*) y de extractos etanólicos (*O. ficus-indica* y *O. atropes*) a la leche cruda (LC) sobre la calidad bacteriológica de la misma.

	Composición del tratamiento	
	LC (kg)	Adición kg ⁻¹ de leche
Tratamiento 1 o Testigo	5.6	0.0 de epidermis (g) o extracto (ml)
Tratamiento 2	5.6	22.7 g de EN _{BS}
Tratamiento 3	5.6	12.0 g de EN _{BF}
Tratamiento 4	5.6	31.5 ml de extracto <i>O. ficus-indica</i>
Tratamiento 5	5.6	31.5 ml de extracto <i>O. atropes</i>

EN_{BS}=Epidermis de nopal deshidratada; EN_{BF}= Epidermis de nopal fresca.

Las cantidades de EN_{BF} o de EN_{BS} tratamiento⁻¹ se igualaron a 4.1 g de materia seca (MS) kg⁻¹ de leche tomando como referencia que la EN_{BS} contenía 79.68 % de humedad. La concentración de extracto *O. ficus-indica* o de *O. atropes* se muestran en la Tabla 2.

Antes de la adición de los tratamientos a la LC, ésta se homogenizó para obtener las muestras (n=3 100 ml c/u) para su análisis bacteriológico (referencia bacteriológica antes de la adición de los tratamientos). Obtenidas las muestras, la LC se fraccionó y a cada fracción se le adicionó el tratamiento establecido. Para el caso de los tratamientos con epidermis de nopal (EN_{BS} y EN_{BF}), esta se mantuvo en contacto directo con la LC durante un lapso de 2 h, posteriormente se retiró la epidermis de nopal de LC. No obstante, todos los tratamientos se mantuvieron en constante agitación (89 RPM) por un lapso de 2 h antes de iniciar con el proceso de la elaboración del QFA. Trascurridas la 2 h, se procedió a tomar muestras de cada tratamiento para su análisis microbiológico y se procedió con la elaboración del QFA tratamiento⁻¹.

El QFA se procesó de acuerdo con el método utilizado por los productores, descrito en los párrafos anteriores. Este proceso de elaboración produjo 646 ± 35 g de QFA tratamiento⁻¹ de los cuales se utilizaron 200 g tratamiento⁻¹; mismas que se conservaron a 4 °C hasta su análisis bacteriológico del QFA tratamiento⁻¹; el cual consistió en la determinación de UFC g⁻¹ para bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales, durante el monitoreo a 0, 12, 24, 48 y 120 h post-elaboración del QFA.

En lo que respecta a la evaluación del efecto de la adición directa de epidermis de *O. ficus-indica* (EN_{BF} y EN_{BS}) a la LC sobre la calidad bacteriológica del yogur artesanal, en este diseño experimental se utilizaron 6.8 kg de LC para la conformación de tres tratamientos: Tratamiento 1 o testigo = 2.2 de LC sin epidermis de nopal, Tratamiento 2 = LC+7.62 g de EN_{BS} y Tratamiento 3 = LC+44 g de EN_{BF}. La cantidad de EN_{BS} y EN_{BF} se calculó con base a la materia seca (MS) Tratamiento⁻¹, la cual fue de 17.3 % de MS.

Antes de la adición de los tratamientos a la LC, ésta se homogenizó para obtener las muestras de referencia bacteriológica antes de la adición de los tratamientos. Obtenidas las muestras, la LC se fraccionó y a cada fracción se le adicionó el tratamiento establecido. La epidermis de nopal (EN_{BS} y EN_{BS}) se mantuvo en contacto directo con la LC durante un lapso de 2 h. Sin embargo, los tres tratamientos se mantuvieron en constante agitación (89 RPM) por un lapso de 2 h antes de iniciar con el proceso de la elaboración del yogurt. Trascorridas la 2 h, se procedió a tomar muestras de cada tratamiento para su análisis microbiológico y se procedió con la elaboración del yogurt artesanal tratamiento⁻¹, mismo que ya fue descrito en párrafos anteriores. Dicho proceso produjo 14 muestras de 150 g c/u tratamiento⁻¹, mismas que se conservaron a 4 °C hasta su análisis bacteriológico del yogurt tratamiento⁻¹; el cual consistió en la determinación de UFC g⁻¹ para bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales, durante el monitoreo a 0, 12, 24, 48 y 120 h post-elaboración del yogurt.

Para la realización de los análisis bacteriológicos para LC de cada etapa, así como de cada sub-producto elaborado (QFA y yogurt artesanal), se utilizó la metodología propuesta por la NOM-110-SSA1-1994, la cual establece el procedimiento para la preparación de las muestras y las diluciones para el análisis microbiológico de productos alimenticios. Para el análisis bacteriológico de LC se utilizaron, de cada repetición, 1 ml; dicha cantidad se homogenizó con 9 ml de agua peptonada, dilución que constituyó en 10^{-1} y, a partir de ésta, se realizaron las diluciones necesarias (1 ml de muestra + 9 ml de Agua peptonada).

Para la determinación y conteo de las unidades formadoras de colonias para coliformes totales se utilizó Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV) conforme al método establecido en la NOM-113-SSA1-1994, para mesófilas aerobias se utilizó Agar Triptona-Extracto de Levadura (Agar para métodos estándar) conforme al método establecido en la NOM-092-SSA1-1994, para la determinación del número de *Staphylococcus aureus* se utilizó Agar Sal y Manitol de acuerdo a la metodología establecida en NOM-115-SSA1-1994 y para la determinación de *Escherichia coli* se utilizó agar eosina azul de metileno conforme al método establecido en el proyecto de norma NOM-210-SSA1-2014.

El análisis estadístico de la información recabada del QFA y el yogurt artesanal se realizó a través de la metodología de mediciones repetidas utilizando para ello los modelos de efectos fijos; mediante los siguientes modelos (Littell *et al.*, 2002; Littell *et al.*, 2006):

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + H_j + (G*H)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = UFC de coliformes totales, UFC de mesófilas aerobias en LC antes y después de la adición de la epidermis de nopal; UFC de coliformes totales, UFC de mesófilas aerobias en QFA y yogurt artesanal

μ = Promedio general

T_i = Efecto del i ésimo Tratamiento, con $i = 1, 2, 3, 4$ y 5 (en QFA) o $1, 2$ y 3 (en yogurt)

H_j = Efecto del j ésima Hora, con $j = -2^*$, $0^\&$, $12, 24, 48, 72, 96$ y 120 h

$(T*H)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i ésimo Tratamiento* j ésima Hora

ϵ_{ijk} = Error aleatorio asociado a cada observación ($\sim NID=0, \sigma^2_e$).

Nota: $*$ = antes de la adición del tratamiento; $\&$ = culminación del contacto del tratamiento con la LC e inicio del proceso del subproducto lácteo

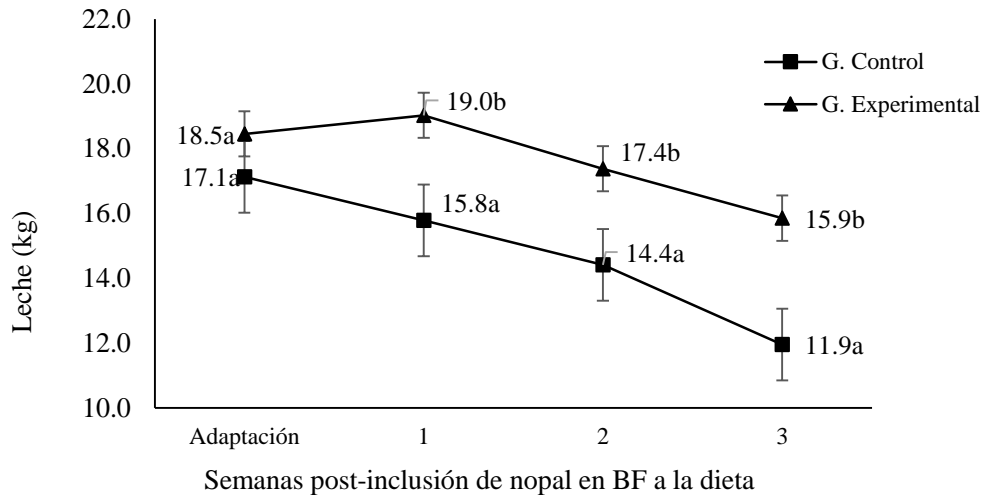
7. RESULTADOS

Los resultados de la presente investigación se abordarán por etapas, ello de acuerdo con la metodología establecida en el apartado de materiales y métodos, descritos en el presente trabajo.

7.1 Primera etapa: Efecto del nopal (*O. ficus-indica*) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal)

Producción de la leche de vacas Holstein alimentadas con una dieta complementada con nopal: Se encontró efecto de grupo ($P=0.0006$), interacción grupo*semana ($P=0.0211$) y de la covariable días de lactancia ($P=0.0003$). Al respecto, se observó que la producción de leche en ambos grupos analizados fue similar ($P<0.05$) en la 1ª semana de la fase experimental (semana de adaptación a la dieta de nopal). Pero, a partir de la 2ª semana se encontró que, el grupo 2 (vacas que consumieron nopal) presentó un incremento de $3.2 \text{ kg de leche vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ($P<0.05$), en comparación con el grupo 1 (Figura 1). No obstante, conforme transcurrieron las semanas de la fase experimental, la producción de leche disminuyó en ambos grupos. Sin embargo, dicha producción fue mayor en el grupo 2 ($P<0.05$) durante las semanas evaluadas (Figura 1).

De acuerdo con la figura 1, se puede observar que, conforme se incrementaron las semanas de monitoreo, la producción de leche de ambos grupos disminuyó ($P<0.05$). Pero, la estimación lineal permitió predecir el comportamiento de la producción de leche de vacas alimentadas con una dieta complementada con $12 \text{ kg de } O. ficus-indica$ en $\text{BF día}^{-1} \text{ vaca}^{-1}$ (Grupo 2) y de vacas alimentadas convencionalmente, como lo fue el Grupo 1 (Figura 2).



G = grupo; BF=base fresca
 Literales a, b indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de días de lactancia

Figura 1. Medias de mínimos cuadrados de producción de leche (kg) de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

En este sentido, se encontró que las vacas con 170 días o más de lactancia alimentadas con una dieta convencional (sin inclusión de nopal) la producción de leche decrece en 0.048 kg día⁻¹ ($P < 0.001$), mientras que las vacas alimentadas con una dieta complementada con nopal, su producción decrece en 0.015 kg de leche día⁻¹ ($P < 0.001$). Así, éstas vacas (Grupo 2), producirán 15.9 kg de leche vaca⁻¹ en el día 275 de lactación, en comparación con 12.9 kg de leche vaca⁻¹ de las vacas del Grupo 1. Resultados estos, obtenidos de acuerdo a los estimadores de la regresión lineal (β_0 y β_1) para cada grupo: $\beta_0 = 25.8$ y $\beta_1 = -0.048$ ($P < 0.001$) para el Grupo 1 y $\beta_0 = 20.0$ y $\beta_1 = -0.015$ ($P < 0.001$) para el Grupo 2 (Figura 2).

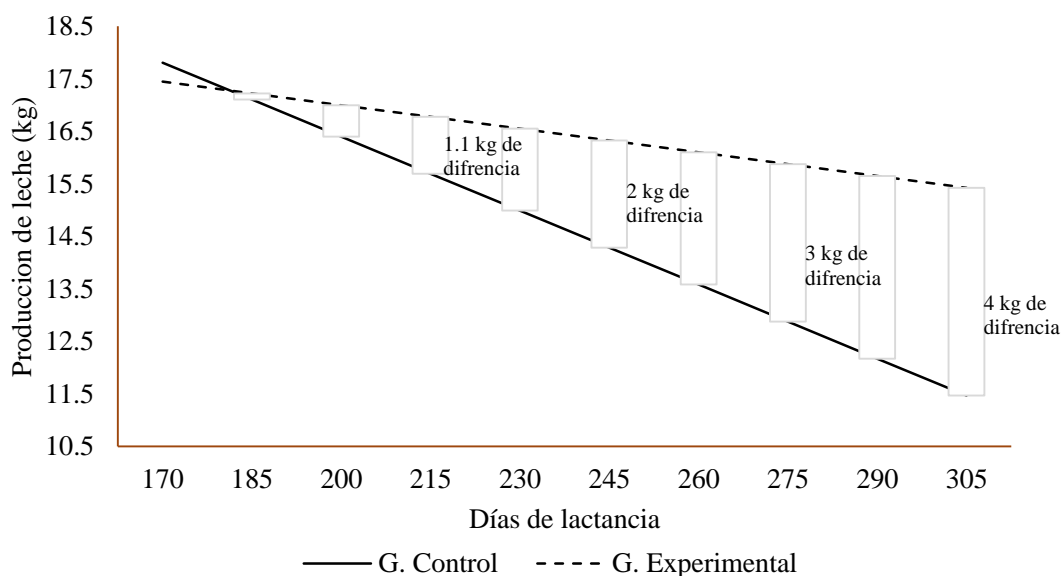


Figura 2. Estimación lineal de la producción de leche (kg) de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

Calidad bacteriológica de la leche cruda proveniente de vacas Holstein alimentadas con una dieta complementada con nopal. Se encontró que, el grupo, semana y la interacción grupo*semana afectaron al número de unidades formadoras de colonia (UFC ml⁻¹) de las bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes totales (CT) y *Escherichia coli* (*E. coli*) en leche cruda. Sin embargo, para *E. Coli* la interacción grupo*semana no afectó las UFC ml⁻¹ (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de efectos fijos para UFC ml⁻¹ de bacterias en leche cruda.

F de V	Mesófilas aerobias			Coliformes Totales			<i>Escherichia Coli</i>		
	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F
Grupo	1	12.24	0.001	1	6.72	0.01	1	5.48	0.02
Grupo*Semana	8	2.17	0.03	8	2.21	0.03	8	1.59	0.14

En lo referente al efecto de grupo sobre el contenido de UFC ml⁻¹ de dichas bacterias, la leche cruda proveniente de vacas del Grupo 2 presentó menor contenido de UFC ml⁻¹ de BMA, CT y *E. coli* (P<0.05), en comparación con la carga bacteriana (UFC ml⁻¹) de la leche proveniente de vacas del Grupo 1 (Tabla 5). Así, por ejemplo, se encontraron 5.0 (Log₁₀) o 100x10³ UFC ml⁻¹ de *E. coli* en leche de vacas del Grupo 1 vs 4.7 (Log₁₀) o 50x10³ UFC ml⁻¹ en leche de vacas del Grupo 2 (Tabla 5).

Tabla 5. Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml⁻¹) en leche cruda de acuerdo al grupo.

Bacteria	Grupo 1		Grupo 2	
	Promedio (Log ₁₀)	±	Promedio (Log ₁₀)	±
Mesófilas aerobias	5.5 ^a	0.08	5.0 ^b	0.08
Coliformes Totales	4.5 ^a	0.07	4.3 ^b	0.07
<i>Escherichia Coli</i>	5.0 ^a	0.09	4.7 ^b	0.09

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila

En relación a los resultados bacteriológicos de la leche cruda de acuerdo a la interacción grupo*semana, se observó que, tanto en la semana de adaptación como en la 1^a semana post-adaptación a la dieta de nopal, las UFC ml⁻¹ promedio de BMA, CT y *E. coli* fueron iguales (P<0.05) en ambos grupos evaluados (Tabla 6). No obstante, en la 3^a semana, las UFC ml⁻¹ de las diferentes bacterias analizadas se incrementaron en ambos grupos. Sin embargo, en dicha semana se observó en la leche proveniente del Grupo 2 menor número de UFC ml⁻¹ de BMA, CT y *E. coli* (P<0.05), ello en comparación con la carga bacteriana (UFC ml⁻¹) de la leche proveniente del Grupo 1 (Tabla 6).

Tabla 6. Medias de mínimos cuadrados para cuentas bacterianas (UFC Log₁₀ ml⁻¹) en leche cruda de vacas Holstein de acuerdo al grupo.

Semana	Mesófilas aerobias		Coliformes totales		<i>E. Coli</i>	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±
Adaptación	5.16 ^{a1} ±0.25	5.12 ^{a1} ±0.25	4.47 ^{a1} ±0.21	4.5 ^{a1} ±0.21	4.71 ^{a1} ±0.23	4.68 ^{a1} ±0.23
1	5.12 ^{a1} ±0.25	4.97 ^{a1} ±0.25	4.55 ^{a1} ±0.21	4.48 ^{a1} ±0.21	4.94 ^{a1} ±0.23	4.71 ^{a1} ±0.23
2	5.4 ^{a1} ±0.15	4.97 ^{b2} ±0.14	4.42 ^{a1} ±0.12	3.94 ^{b2} ±0.12	4.81 ^{a1} ±0.13	4.43 ^{a2} ±0.23
3	5.87 ^{b1} ±0.15	5.24 ^{b2} ±0.14	4.87 ^{b1} ±0.12	4.41 ^{b2} ±0.12	5.28 ^{b1} ±0.13	4.78 ^{a2} ±0.13

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) dentro de columnaNumerales ^{1,2} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila/bacteria

Respecto a la carga bacteriana (UFC ml⁻¹) de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), solo se detectó esta bacteria en la leche cruda producida en la semana 2 y 3 post-adaptación a las dietas (0.0 y 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹) en ambos grupos analizados (Tabla 7). No obstante, las UFC ml⁻¹ grupo⁻¹ en dichas semanas fueron iguales entre sí (P>0.05): 3.5 (Log₁₀) ±0.16 o 3.2x10³ y 3.1 (Log₁₀) ±0.21 o 1.4x10³ UFC ml⁻¹ de *S. aureus* para el Grupo 1 y Grupo 2, respectivamente. Sin embargo, la diferencia entre grupos fue de -1.8x10³ UFC ml⁻¹ para el grupo de vacas que consumieron nopal (Grupo 2), como parte de su dieta (Tabla 7).

Tabla 7. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml⁻¹ de *Staphylococcus aureus* en leche cruda producida por vacas Holstein bajo confinamiento total de acuerdo al grupo.

Grupo	Promedio (Log ₁₀) ±	Semana	Promedio (Log ₁₀) ±
Grupo 1 (0 kg de nopal)	3.5 ^a ±0.16	2	3.4 ^a ±0.21
		3	3.5 ^a ±0.24
Grupo 2 (12 kg de nopal)	3.1 ^a ±0.21	2	3.1 ^a ±0.29
		3	3.1 ^a ±0.29

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) dentro de columna

Calidad bacteriológica de queso fresco artesanal elaborado a partir de leche cruda proveniente de vacas alimentadas con nopal. Se encontró, efecto de grupo, interacción grupo*semana, grupo*hora de monitoreo y de la triple interacción grupo*semana*hora de monitoreo, sobre las unidades formadoras de colonia (UFC g⁻¹ Log₁₀) del queso fresco artesanal (QFA) para BMA, CT, *E. coli* y *S. áureos*. Con respecto a *S. aureus*, el grupo no afectó a las UFC g⁻¹ (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de efectos fijos para UFC ml⁻¹ de bacterias en queso fresco artesanal

F de V	Mesófilas aerobias			Coliformes Totales			<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus Aureus</i>		
	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F	GL	F	Pr>F
Grupo	1	3.28	0.004	1	45.33	0.001	1	5.61	0.02	1	0.16	0.69
Grupo*semana	6	18.67	<.001	6	74.01	0.001	6	38.29	<.001	6	47.44	<.001
Grupo*Hora	6	8.21	<.001	6	15.53	0.001	6	11.37	<.001	6	12.35	<.001
Grupo*semana*hora	18	11.08	<.001	18	20.09	0.001	18	10.12	<.001	16	11.5	<.001

Respecto a las UFC g⁻¹ de BMA en QFA, de acuerdo al grupo, se encontró mayor número de cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) en el queso elaborado a partir de la leche cruda proveniente del grupo de vacas que no consumieron nopal como parte de su dieta (Grupo 1) (Tabla 9). El mismo caso sucedió para coliformes totales y *E. coli* (Tabla 8). No obstante, para el caso de *S. aureus*, las UFC g⁻¹ en QFA fueron similares (P>0.05) en los grupos analizados (Tabla 9).

Tabla 9. Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml⁻¹) en queso fresco artesanal de acuerdo al grupo.

Bacteria	Grupo 1		Grupo 2	
	Promedio (Log ₁₀)	E.E.	Promedio (Log ₁₀)	E.E.
Mesófilas aerobias	7.0 ^a	0.04	6.4 ^b	0.04
Coliformes Totales	6.7 ^a	0.04	5.9 ^b	0.04
<i>Escherichia Coli</i>	5.2 ^a	0.06	4.7 ^b	0.07
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.2 ^a	0.07	5.2 ^a	0.09

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila

Para el caso del comportamiento del contenido de bacterias (UFC g⁻¹) en QFA, de acuerdo a la interacción grupo*semana, se observó que, en la semana de adaptación y en la 1ª semana de monitoreo de la fase experimental ambos grupos se comportaron igual (P>0.05) en todos los indicadores bacteriológicos analizados (BMA, CT y *E. coli*). No obstante, en la 2ª y 3ª semana de experimentación, las cuentas (UFC g⁻¹) bacterianas de BMA, CT y *E. coli* del QFA elaborado a partir de la leche cruda proveniente de las vacas del Grupo 2 fueron menores (P<0.05) con respecto a las cargas promedio de dichas bacterias en QFA elaborado con leche cruda provienen del Grupo 1 (Tabla 10).

Tabla 10. Medias de mínimos cuadrados para cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) en queso fresco artesana derivado de leche de vacas Holstein de acuerdo al grupo.

Semana	Mesófilas aerobias		Coliformes totales		<i>E. Coli</i>	
	Grupo1	Grupo 2	Grupo1	Grupo 2	Grupo1	Grupo 2
	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±
Adaptación	6.3 ^{a1} ±0.06	6.4 ^{a1} ±0.06	6.2 ^{a1} ±0.10	6.2 ^{a1} ±0.10	5.2 ^{a1} ±0.13	5.1 ^{a1} ±0.14
1	6.7 ^{b1} ±0.06	6.7 ^{b1} ±0.06	6.0 ^{a1} ±0.09	6.0 ^{a1} ±0.09	4.8 ^{b1} ±0.13	4.6 ^{b1} ±0.15
2	6.7 ^{b1} ±0.05	6.5 ^{c2} ±0.05	5.8 ^{b1} ±0.09	4.9 ^{b2} ±0.10	4.9 ^{ab1} ±0.11	4.8 ^{ab2} ±0.13
3	6.9 ^{c1} ±0.05	6.2 ^{d2} ±0.05	6.7 ^{c1} ±0.08	6.4 ^{c2} ±0.07	5.2 ^{a1} ±0.13	4.5 ^{b2} ±0.19

±= Error Estándar

Literales ^{a, b, c} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila/bacteria

Numerales ^{1,2} indican diferencias (P<0.05) entre columnas/bacteria

Referente al comportamiento de la interacción grupo*hora de monitoreo para el indicador UFC g⁻¹ de BMA, se observó (durante el monitoreo de ambos grupos) que, estos tuvieron un comportamiento similar (P>0.05), a excepción de la hora 24 post-elaboración del QFA donde, las UFC g⁻¹ de BMA en queso elaborado de leche cruda proveniente del Grupo 2 fueron menores (P<0.05), con respecto al QFA elaborado de la leche cruda producida por el Grupo 1 (Tabla 11). Para el caso de las UFC g⁻¹ hora⁻¹ grupo⁻¹ de CT en QFA (Tabla 11), éstas fueron mayores en el queso elaborado a partir de la leche cruda proveniente del Grupo 1, en todas las horas del monitoreo (P<0.05), ello en comparación con las UFC g⁻¹ promedio

hora⁻¹ de CT observadas en el QFA elaborado a partir de la leche cruda producida por el Grupo 2. Así mismo, se encontró que los promedios de ambos grupos tuvieron tendencia a disminuir ($P < 0.05$) conforme transcurrió el tiempo de monitoreo (Tabla 11).

Tabla 11. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de mesófilas aerobias y coliformes totales en queso fresco artesanal de acuerdo a la interacción grupo*hora de monitoreo.

Horas	Mesófilas aerobia		Coliformes Totales	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±
0	6.6 ^{a1} ±0.09	6.6 ^{a1} ±0.08	5.9 ^{a1} ±0.06	5.7 ^{a2} ±0.06
12	6.7 ^{ab1} ±0.09	6.5 ^{ab1} ±0.08	6.2 ^{b1} ±0.06	5.5 ^{b2} ±0.06
24	6.9 ^{b1} ±0.09	6.5 ^{ab2} ±0.09	5.6 ^{c1} ±0.06	5.3 ^{c2} ±0.06
48	6.5 ^{a1} ±0.09	6.3 ^{b1} ±0.09	5.5 ^{c1} ±0.07	5.3 ^{c2} ±0.07

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de columna

Numerales ^{1, 2} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de fila/bacteria

En cuanto a la interacción grupo*hora de monitoreo para el indicador *E. coli*, solo se observó diferencias entre las UFC g⁻¹ de ésta bacteria a partir de la hora 24 de monitoreo, en donde el promedio de UFC g⁻¹ de *E. coli* en el queso elaborado a partir de la leche cruda producida por el Grupo 2 fue menor ($P < 0.05$) en comparación con las UFC g⁻¹ de *E. coli* en QFA elaborado a partir de la leche cruda proveniente del Grupo 1 (Tabla 12).

Tabla 12. Medias de mínimos cuadrados para UFC (Log₁₀) g⁻¹ de *E. coli* y *S. aureus* en queso fresco artesanal de acuerdo a la interacción grupo*hora de monitoreo.

Horas	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±
0	4.7 ^{a1} ±0.24	4.5 ^{a1} ±0.26	5.8 ^{a1} ±0.08	5.5 ^{a2} ±0.08
12	5.0 ^{b1} ±0.20	4.9 ^{b1} ±0.25	6.4 ^{b1} ±0.08	5.7 ^{a2} ±0.08
24	5.1 ^{b1} ±0.23	4.8 ^{bc2} ±0.25	5.6 ^{a1} ±0.07	5.2 ^{b2} ±0.08
48	5.0 ^{b1} ±0.22	4.7 ^{c2} ±0.25	5.2 ^{b1} ±0.07	5.9 ^{c2} ±0.08

±= Error Estándar

Literales ^{a, b, c} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de columna

Numerales ^{1, 2} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de fila/bacteria

De acuerdo con la Tabla 12, los promedios de UFC g⁻¹ hora⁻¹ de *S. aureus* en QFA elaborado a partir de la leche cruda producida por las vacas del Grupo 1 fueron mayores ($P < 0.05$), en

comparación con las cuentas (UFC g⁻¹) hora⁻¹ de *S. aureus* en QFA elaborado a partir de la leche cruda proveniente de las vacas que consumieron nopal (Grupo 2), excepto en la hora 48 post elaboración del QFA, en donde el promedio de UFC g⁻¹ de *S. aureus* (5.9 Log₁₀ o 79.4x10⁴) fue mayor en comparación con las UFC g⁻¹ (5.2 Log₁₀ o 15.8x10⁴) a 48 h post-elaboración del QFA derivado de la leche de las vacas del Grupo 1 (Tabla 12).

En relación con el comportamiento de la calidad el QFA semana⁻¹ elaborado con leche producida por las vacas grupo⁻¹ en las diferentes semanas de monitoreo, se observó que durante la semana de adaptación a la dieta grupo⁻¹ el QFA elaborado de la leche producida en los días 0 y 3 de la semana de adaptación, las UFC g⁻¹ de BMA para los QFA elaborados de leche grupo⁻¹ día⁻¹ fueron iguales (P>0.05) dentro de la semana de adaptación a la dieta (Figura 3).

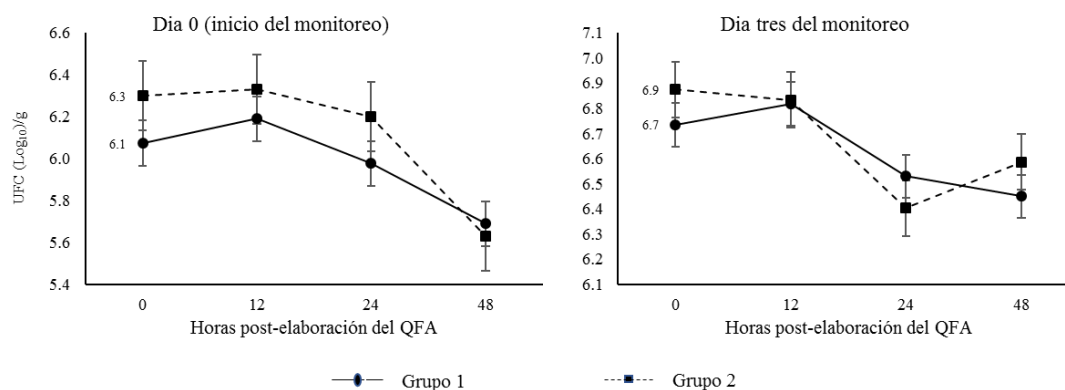


Figura 3. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de BMA grupo⁻¹ día⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

No obstante, el queso derivado de la leche producida en la 1^a y 2^a semanas post-adaptación a la dieta, el QFA proveniente de la leche de vacas del Grupo 2, contenía menores cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) de BMA (P<0.05), ello en comparación las UFC g⁻¹ promedio de los

QFA elaborado a partir de leche producida en la 1ª y 2ª semanas post-adaptación a la dieta del Grupo 1 (Figura 4).

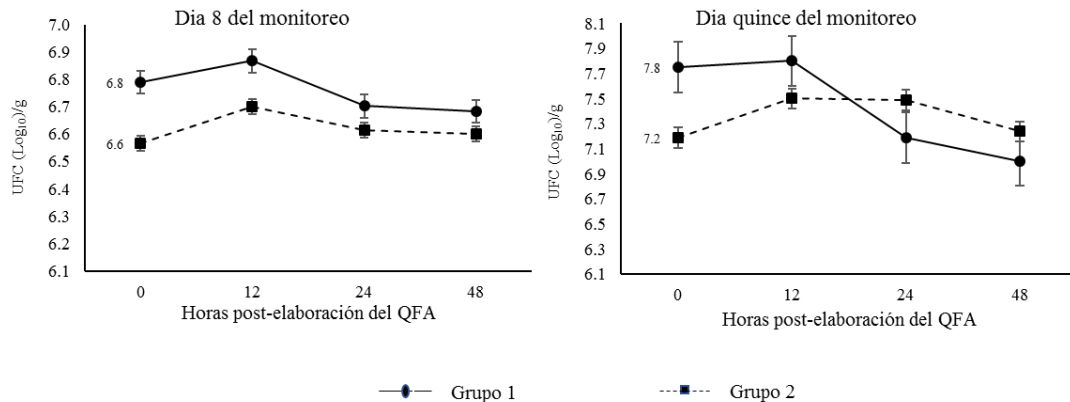


Figura 4. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de BMA grupo⁻¹ día⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

En cuanto a las cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) de CT en QFA derivado de la leche producida por vacas grupo⁻¹ semana⁻¹, se observó que los QFA elaborados a partir de leche cruda proveniente de vacas del Grupo 2 (12 kg de *O. ficus-indica* vaca⁻¹ día⁻¹) y correspondiente a los días 0 y 3 de producción de la semana de adaptación a la dieta, las UFC g⁻¹ para CT fueron mayores (P<0.05) en comparación con los QFA derivados de leche cruda correspondiente a los días 0 y 3 de producción de la semana de adaptación a la dieta de Grupo 1 (Figura 5).

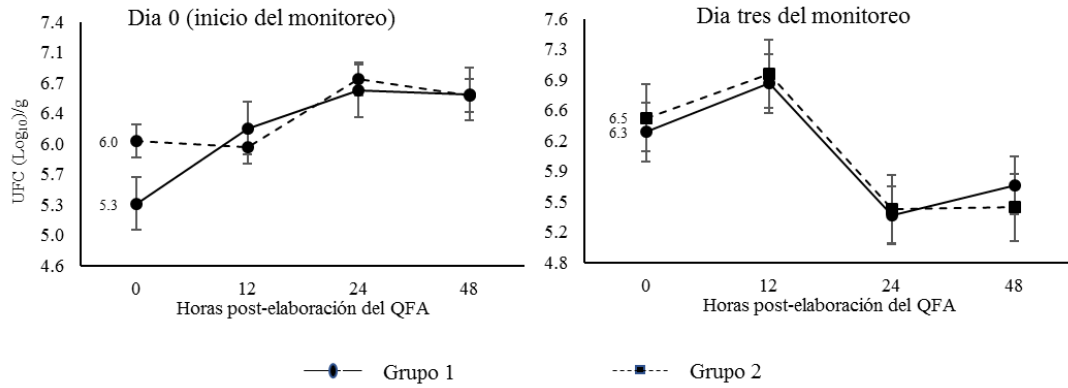


Figura 5. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de CT grupo⁻¹ día⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

En lo que respecta al comportamiento de las cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) de CT en QFA grupo⁻¹ semana⁻¹ derivado de la leche producida en las 2^a y 3^a semana, los QFA provenientes de la leche de vacas del Grupo 2, presentaron menores cantidad de UFC g⁻¹ de CT semana⁻¹ (P<0.05), ello en comparación las UFC g⁻¹ promedio de los QFA elaborado a partir de leche producida en la 1^a y 2^a semanas post-adaptación a la dieta del Grupo 1 (Figura 6).

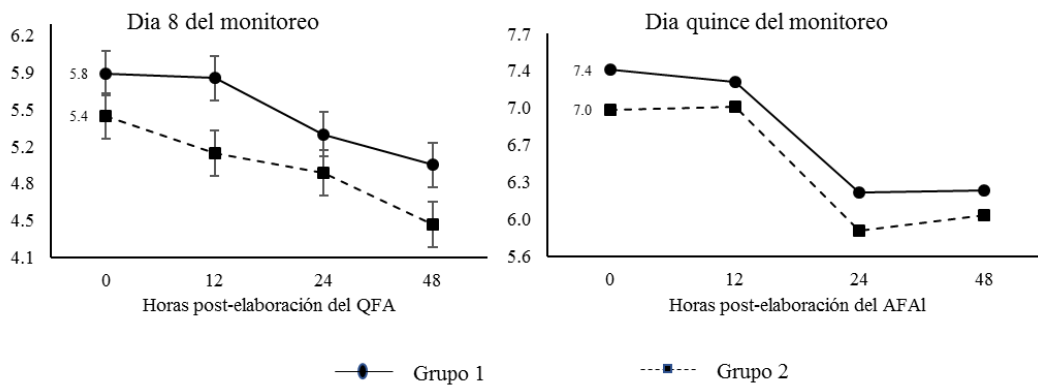


Figura 6. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de BMA grupo⁻¹ día⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

Para *Escherichia coli* (*E. coli*) en QFA, los resultados de las UFC g⁻¹ grupo⁻¹ semana⁻¹ determinaron que, las cuentas de *E. coli* en los QFA elaborados a partir de leche cruda proveniente de vacas alimentadas con una dieta convencional (Grupo 1) contenían menor número de UFC g⁻¹ dicha bacteria en la semana de adaptación a las dietas, específicamente en los días 0 y 3 de producción de dicha semana, en comparación con las cuentas bacterianas de los QFA elaborados con leche proveniente de las vacas del Grupo 2 (Figura 7).

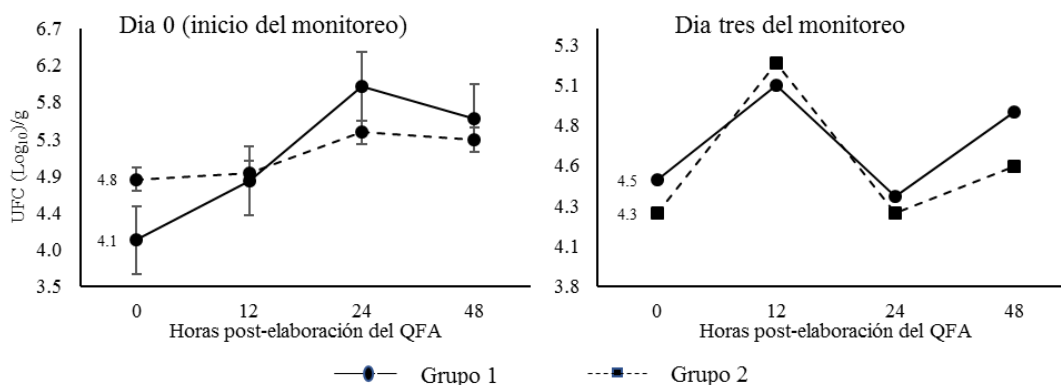


Figura 7. Medias de mínimos cuadrados de UFC g⁻¹ de *Escherichia coli* grupo⁻¹ día⁻¹ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

No obstante, en la 2^a semana de monitoreo de la producción de leche y en donde las vacas del Grupo 2 ya se habían adaptado al consumo de 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹, los QFA elaborados a partir de la leche cruda producida en ésta semana por el Grupo 2, contenía menor cantidad de UFC g⁻¹ (-2.29x10⁴ UFC g⁻¹ de *E. coli*) con respecto a las UFC g⁻¹ encontradas en los QFA provenientes de del Grupo 1 (P<0.05). Fenómeno que se repitió en la 3^a semana

de monitoreo de la producción de leche y elaboración de los QFA, en donde los quesos elaborados a partir de la leche cruda de las vacas del Grupo 1 contenían mayor número de UFC g^{-1} (24.4×10^4) de *E. coli* ($P < 0.05$) en la hora cero post-elaboración, ello con respecto a las UFC g^{-1} de los quesos elaborados a partir de la leche de las vacas del Grupo 2 (Figura 8).

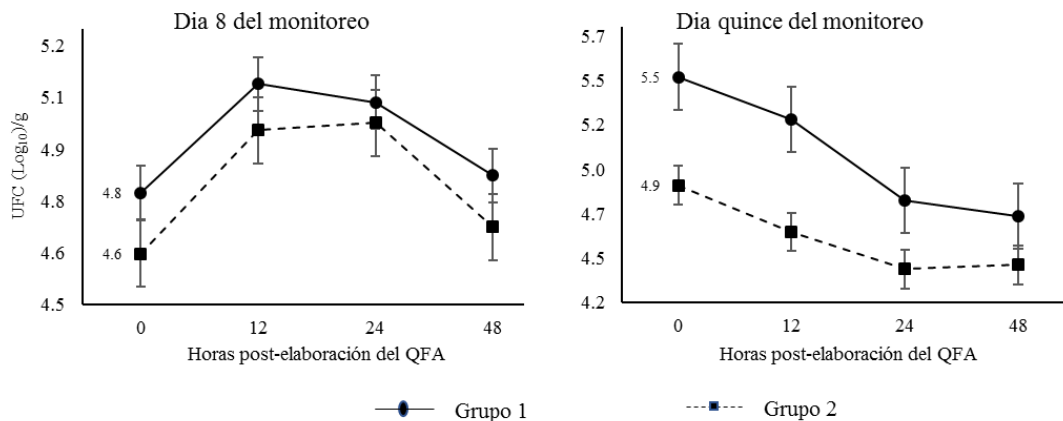


Figura 8. Medias de mínimos cuadrados de UFC g^{-1} de *Escherichia coli* grupo $^{-1}$ día $^{-1}$ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día $^{-1}$ vaca $^{-1}$

En cuanto al contenido (UFC g^{-1}) de *S. aureus* en QFA grupo $^{-1}$ semana $^{-1}$, se encontró que, en la semana de adaptación a la dieta, los quesos elaborados de la leche producida grupo $^{-1}$ del día 0 y 3, correspondiente al periodo de adaptación, contenía menores cuentas de *S. aureus* ($P < 0.05$), ello en comparación con los QFA elaborados a partir de leche cruda proveniente del Grupo 2.

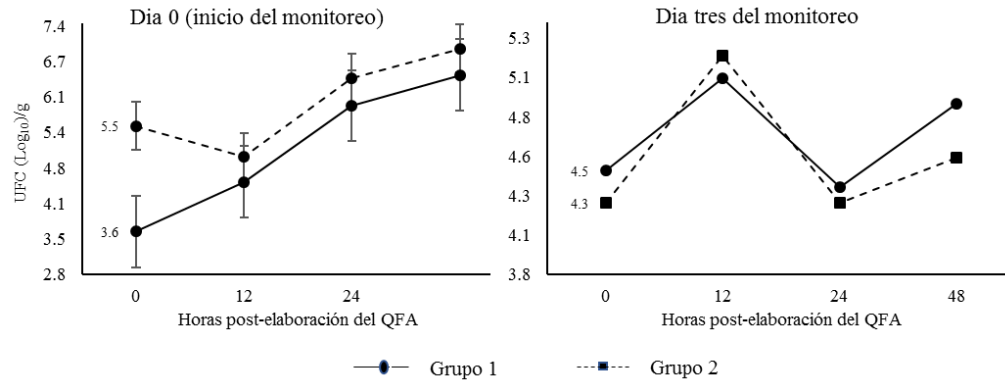


Figura 9. Medias de mínimos cuadrados de UFC g^{-1} de *Staphylococcus aureus* grupo $^{-1}$ día $^{-1}$ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y bajo adaptación de una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día $^{-1}$ vaca $^{-1}$

El comportamiento de *S. aureus* grupo $^{-1}$ en los QFA de la 1^a y 2^a semana post-adaptación a las dietas de los grupos de vacas analizados determinó que, los quesos provenientes de la leche del Grupo 2 fueron los que presentaron menor carga (UFC g^{-1}) de *S. aureus* ($P < 0.05$) en la hora cero post-elaboración; ello, en comparación con los promedios de UFC g^{-1} en los QFA elaborados a partir de leche cruda producida por el Grupo 1 (Figura 10).

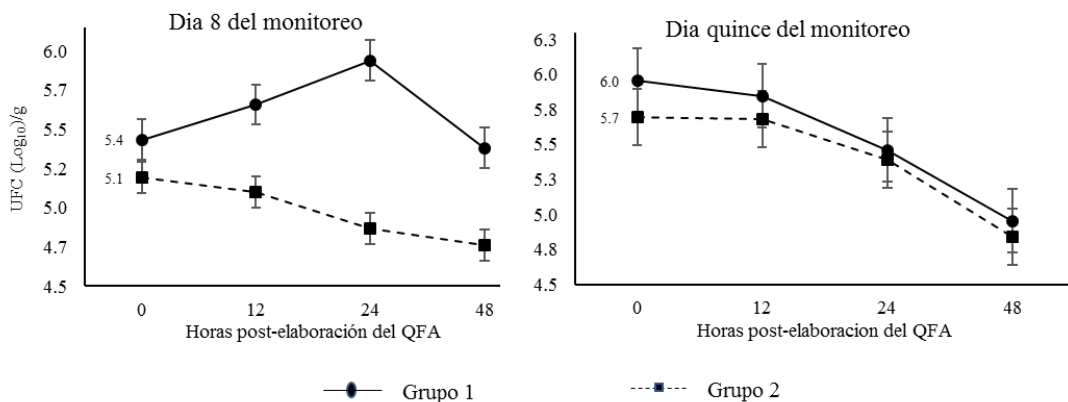


Figura 10. Medias de mínimos cuadrados de UFC g^{-1} de *Staphylococcus aureus* grupo $^{-1}$ día $^{-1}$ para QFA elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día $^{-1}$ vaca $^{-1}$

Calidad bacteriológica de yogurt artesanal elaborado a partir de leche cruda proveniente de vacas alimentadas con nopal. Para el caso de los resultados de UFC ml⁻¹ de BMA y CT presentes en el yogurt artesanal elaborado a partir de la leche de las vacas de acuerdo al grupo, estos no fueron como en el caso del QFA, en donde se elaboraron y analizaron por semana, en este caso (yogurt) el proceso y análisis correspondió a la última semana de monitoreo de la producción de leche de las vacas grupo⁻¹; específicamente, el yogurt artesanal se elaboró a partir de la leche producida en los días 20 y 21 de iniciada la fase experimental del presente trabajo.

En el yogurt artesanal grupo⁻¹ se encontró que, las UFC ml⁻¹ para de BMA y CT fueron afectadas por el grupo, la interacción grupo*día de elaboración y por la triple interacción grupo*día de elaboración*hora post elaboración del yogurt (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de efectos fijos para UFC ml⁻¹ de bacterias en yogurt artesanal.

F de V	Mesófilas aerobias			Coliformes Totales		
	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F
Grupo	1	503.60	<.001	1	243.08	<.001
Grupo*día	2	65.85	<.001	2	227.92	<.001
Grupo*Hora	8	3.29	0.002	8	3.18	0.004
Grupo*día*hora	8	2.41	0.021	8	3.36	0.003

Respecto a los promedios generales de BMA y CT (Tabla 14), se observó que el yogurt artesanal, elaborado a partir de la leche cruda proveniente de las vacas del Grupo 2 contenían 6.1 (Log₁₀) o 1.4x10⁶ UFC ml⁻¹ de BMA, promedio menor (P<0.05) al encontrado en el yogurt elaborado a partir de leche proveniente del Grupo 1: 7.5 (Log₁₀) o 36.7x10⁶ UFC ml⁻¹ de BMA (Tabla 14). Mientras que, para CT las UFC ml⁻¹ de dicho grupo de bacterias en yogurt, se encontró que el yogurt elaborado a partir de la leche cruda proveniente del Grupo

1 presentó el mayor promedio ($P < 0.05$), en comparación con el promedio de UFC ml⁻¹ de CT del yogur elaborado a partir de la leche de las vacas del Grupo 1: 6.62 (Log₁₀) o 42.27x10⁵ y 5.1 (Log₁₀) o 1.27x10⁵ UFC ml⁻¹ de CT, respectivamente (Tabla 14).

Tabla 14. Medias de mínimos cuadrados para bacterias (UFC ml⁻¹) en yogurt artesanal de acuerdo al grupo.

Bacteria	Grupo 1		Grupo 2	
	Promedio (Log ₁₀)	E.E.	Promedio (Log ₁₀)	E.E.
Mesófilas aerobias	7.6 ^a	0.05	6.1 ^b	0.04
Coliformes Totales	6.6 ^a	0.06	5.1 ^b	0.07

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de fila

En lo referente a los promedios de UFC ml⁻¹ de BMA y CT en yogurt artesanal de acuerdo a la interacción grupo*día de elaboración, se encontró que el yogurt elaborado de la leche cruda producida, en los días de monitoreo 20 y 21, por las vacas del Grupo 2, cuantificó menor cantidad de UFC ml⁻¹ de dichas bacterias ($p < 0.05$), ello en comparación con los promedios de UFC ml⁻¹ para BMA y CT encontrados en el yogurt elaborado a partir de la leche cruda producida en los días de monitoreo 20 y 21 por las vacas del Grupo 1 (Tabla 15).

Tabla 15. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml⁻¹ de Mesófilas Aerobias y Coliformes Totales en yogurt artesanal elaborado de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total de acuerdo al grupo.

Día	Mesófilas aerobia		Coliformes Totales	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±	Promedio (Log ₁₀) ±
20	7.15 ^{a1} ±0.059	5.84 ^{a2} ±0.054	5.39 ^{a1} ±0.077	4.58 ^{a2} ±0.1361
21	7.98 ^{b1} ±0.081	6.46 ^{b2} ±0.054	7.87 ^{b1} ±0.096	5.63 ^{b2} ±0.06669

±= Error Estándar

Literales ^{a, b} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de columna

Numerales ^{1,2} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de fila/bacteria

Respecto al comportamiento de las UFC ml⁻¹ para BMA en el yogurt artesanal durante el monitoreo de 120 h post-elaboración (Figura 11), se observó que el yogurt elaborado a partir de la leche cruda obtenida el día 20 post-adaptación a las dietas y proveniente del Grupo 1, presentó mayor número de UFC ml⁻¹ en comparación con las cargas bacterianas (UFC ml⁻¹)

del yogurt elaborado a partir de leche cruda proveniente del Grupo 2 ($P < 0.05$). Además, se observó que dicho indicador, fue relativamente constante conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento tanto en el yogurt proveniente del Grupo 1 (7.17 y 7.09 Log_{10} UFC ml^{-1} de BMA a cero y 120 h post-elaboración), como para el yogurt elaborado a partir de leche cruda proveniente del Grupo 2 (5.9 a 5.2 Log_{10} UFC ml^{-1} de BMA a cero y 120 h post-elaboración). Fenómeno similar se observó en el yogurt elaborado a partir de la leche cruda obtenida el día 21 post-adaptación a las dietas, donde las UFC ml^{-1} de BMA en el yogurt proveniente del como del Grupo 1 fueron mayores desde la hora cero hasta la hora 120 post-elaboración del yogurt, ello en comparación con la carga (UFC ml^{-1}) de BMA en el yogurt elaborado a partir de la leche del Grupo 2 (Figura 11).

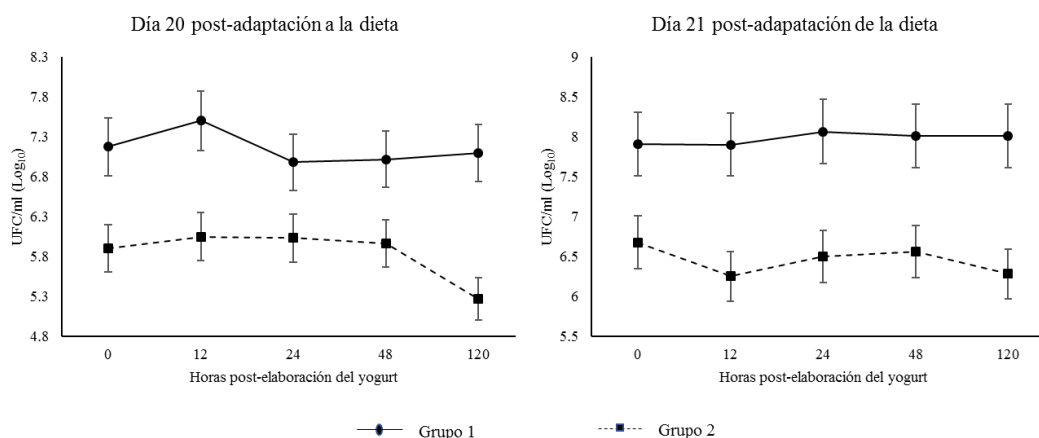


Figura 11. Medias de mínimos cuadrados de UFC ml^{-1} de mesófilas aerobias grupo^{-1} día^{-1} hora^{-1} para yogurt artesanal elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día^{-1} vaca^{-1}

Referente a la carga bacteriana (UFC ml^{-1}) de CT en el yogurt artesanal, se encontró que dicho producto elaborado a partir de leche cruda obtenida en el día 20 y 21 post-adaptación a las dietas y, proveniente del grupo de vacas que no consumieron nopal (Grupo 2) mostró mayor carga bacteriana (UFC ml^{-1}) de CT en la hora cero post-elaboración ($P < 0.05$). No

obstante, la carga de CT en el yogurt fue mayor en el día 21 post- adaptación a las dietas en comparación con el yogurt elaborado a partir de leche cruda obtenida en el día 20 post- adaptación a las dietas (Figura 12)

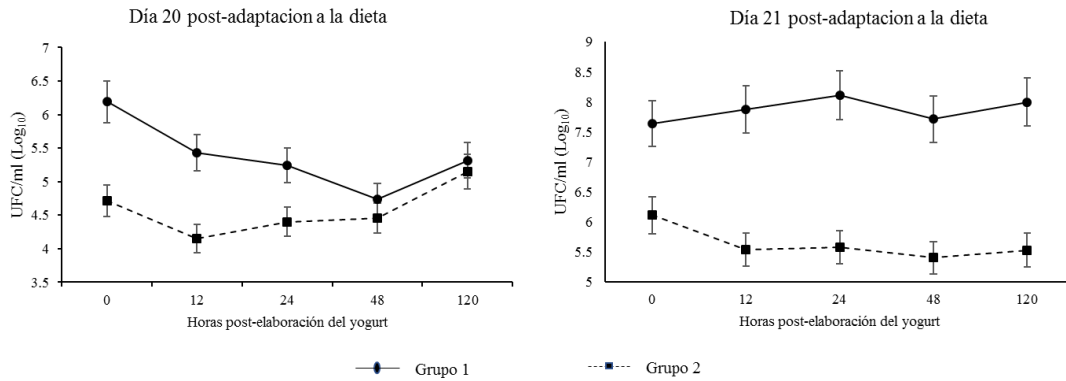


Figura 12. Medias de mínimos cuadrados de UFC ml⁻¹ de coliformes totales grupo⁻¹ día⁻¹ hora⁻¹ para yogurt artesanal elaborados de leche cruda proveniente de vacas Holstein bajo confinamiento total y alimentadas con una dieta complementada con 0.0 y 12 kg de nopal (*O. ficus-indica*) en base fresca día⁻¹ vaca⁻¹

7.2 Segunda etapa: efecto de la adición directa de epidermis *O. ficus-indica* (fresca y deshidratada) y extractos etanólicos de *O. ficus-indica* y *O. atropes* a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos.

Calidad bacteriológica del queso fresco artesanal elaborado a partir de leche tratada con epidermis y extractos de nopal. Los resultados encontrados en QFA determinaron efecto de tratamiento y de tratamiento*hora post-elaboración sobre BMA y CT (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis de efectos fijos para UFCg⁻¹ de bacterias en queso fresco artesanal.

F de V	Mesófilas aerobias			Coliformes Totales		
	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F
Tratamiento	4	28.13	<0.001	4	37.07	<0.001
Tratamiento*Hora	26	14.61	<0.001	26	26.11	<0.001

Con respecto al efecto del tratamiento sobre las unidades formadoras de colonia (UFC g⁻¹) de BMA en QFA, se encontró que la adición de epidermis fresca (EN_{BF}) o deshidratada (EN_{BS}) de *O. ficus-indica*, a la materia prima (leche cruda) para la elaboración del queso mostraron menor conteo de UFC g⁻¹ en promedio (P<0.05), ello en comparación con los tratamientos de extractos de epidermis de *O. ficus-indica* (E_{OFI}) o de *O. Atropes* (E_{OA}) a la materia prima para la elaboración del QFA. Sin embargo, el E_{OFI} presentaron similar conteo de BMA al testigo (P>0.05), pero mayor (P<0.05) al E_{OA} (Tabla 17).

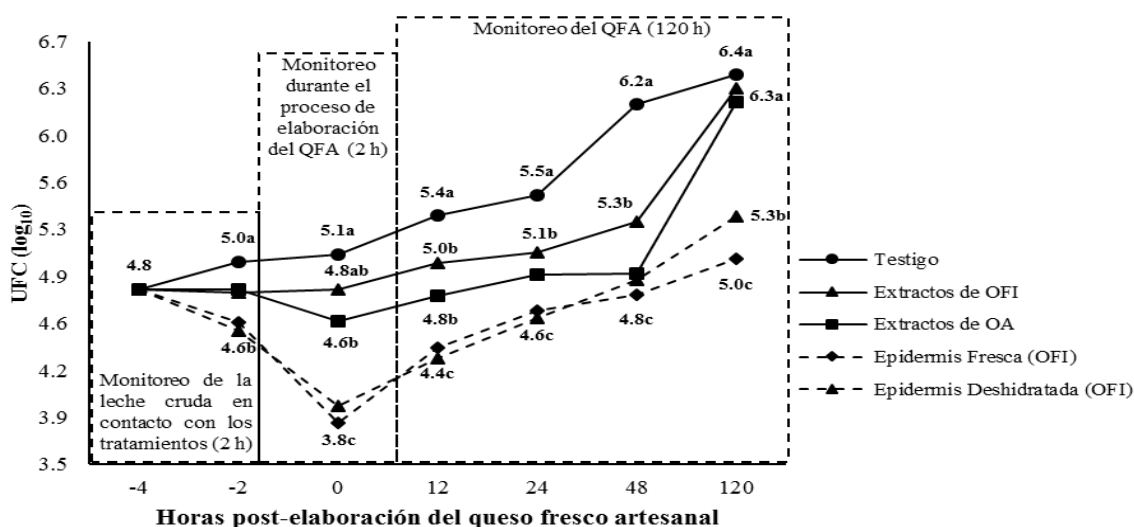
Tabla 17. Medias de mínimos cuadrados para UFC g⁻¹ de mesófilas aerobias en queso fresco artesanal de acuerdo al tratamiento.

Tratamiento	UFC (Log ₁₀) Promedio	E.E.
Testigo	5.5 ^a	0.10
Extracto de <i>O. Ficus-indica</i>	5.2 ^{ab}	0.11
Extracto de <i>O. Atropes</i>	5.0 ^c	0.12
Epidermis fresca de <i>O. Ficus-indica</i>	4.6 ^d	0.21
Epidermis deshidratada de <i>O. Ficus-indica</i>	4.6 ^d	0.21

Literales ^{a, b, c, d} indican diferencias entre tratamientos (P<0.05)

En lo referente al comportamiento de los tratamientos en leche cruda utilizada en la elaboración del QFA, se observó que el contacto directo de la epidermis (EN_{BF} y EN_{BS}) con

la leche (-4 y -2 h; Figura 13), lograron reducir las UFC ml^{-1} de BMA ($P < 0.05$) en 4.36 (Log_{10}) o 22.9×10^3 UFC ml^{-1} , con respecto al testigo. Mientras que los extractos (E_{OFI} y E_{OA}) solo lograron mantener el mismo número de UFC ml^{-1} de BMA ($P > 0.05$) (Figura 13). Sin embargo, la leche cruda sin adición de extracto o epidermis (Testigo), mostró crecimiento (UFC ml^{-1}) de BMA durante el tiempo de contacto directo de la epidermis o de los extractos ($P < 0.05$) (Figura 13).



Literales ^{a, b, c} indican diferencia ($p < 0.05$) entre tratamientos dentro de hora

Figura 13. Medias de mínimos cuadrados (Log_{10}) de UFC g^{-1} para BMA de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del queso fresco artesanal (QFA)

Al término del proceso de la elaboración del QFA (0 h), los resultados establecieron que el producto terminado (QFA) derivado de leche cruda en contacto con epidermis (EN_{BF} o EN_{BD}) presentaron menor conteo de UFC g^{-1} (3.8 Log_{10}) para BMA ($P < 0.05$), en comparación con los QFA derivados de leche adicionada con extractos de E_{OFI} o E_{OA} (4.8 y 4.6 Log_{10} , respectivamente) o con el testigo (Figura 13). No obstante, a partir del periodo 12 h post-elaboración de QFA las UFC g^{-1} de BMA se incrementaron en los QFA tratados con epidermis (EN_{BF} o EN_{BS}). Sin embargo, dicho incremento fue menor ($P < 0.05$) al observado

en los quesos elaborados a partir de leche cruda tratada con extractos (E_{OFI} o E_{OA}) (Figura 13).

Para aspectos de los resultados de CT en QFA, se encontró efecto de tratamiento sobre UFC g^{-1} de dicha bacteria (Tabla 18). En este sentido, el contacto directo con EN_{BF} o EN_{BS} a la leche cruda utilizada para la elaboración del queso, permitió menores cuentas bacterianas (UFC g^{-1}) en promedio ($P < 0.05$), ello en comparación con las cuentas bacterianas del QFA elaborado a partir de leche cruda sin la adición de epidermis de nopal o extractos (Testigo) (Tabla 18). Sin embargo, tanto los tratamientos de extractos de E_{OFI} o E_{OA} a la leche cruda como el contacto directo de la epidermis de nopal a la leche cruda produjeron conteos promedio de cuentas bacterianas para CT similares entre sí ($P > 0.05$) (Tabla 18).

Tabla 18. Medias de mínimos cuadrados para UFC g^{-1} de Coliformes totales en queso fresco artesanal de acuerdo al tratamiento

Tratamiento	UFC (Log_{10})	
	Promedio	E.E.
Testigo	5.1 ^a	0.14
Extracto de <i>O. ficus-indica</i>	4.9 ^{ab}	0.06
Extracto de <i>O. atropes</i>	4.9 ^{ab}	0.06
Epidermis fresca de <i>O. ficus-indica</i>	4.7 ^b	0.05
Epidermis deshidratada de <i>O. ficus-indica</i>	4.7 ^b	0.05

Literales ^{a, b} indican diferencias entre tratamientos ($P < 0.05$)

Los resultados de CT en QFA, antes de su elaboración (leche cruda), durante y posterior a su elaboración (0 a 120 h) determinaron que, la adición de E_{OFI} o E_{OA} a la leche cruda mejoró la calidad bacteriológica, específicamente en CT, en la leche cruda y en consecuencia durante el proceso de elaboración del QFA (0 h) ($P < 0.05$) (Figura 14). Sin embargo, a partir del periodo 12-120 h post-elaboración de QFA las UFC g^{-1} de CT se incrementaron en leche tratada con los extractos (E_{OFI} o E_{OA}), siendo los tratamientos con epidermis de nopal (EN_{BF} o EN_{BS}) los que mejoraron la calidad del QFA ($< \text{UFC } g^{-1}$ de CT) durante el periodo 12-120

h post-elaboración ($P < 0.05$), en comparación con el resto de los tratamientos evaluados (Figura 14).

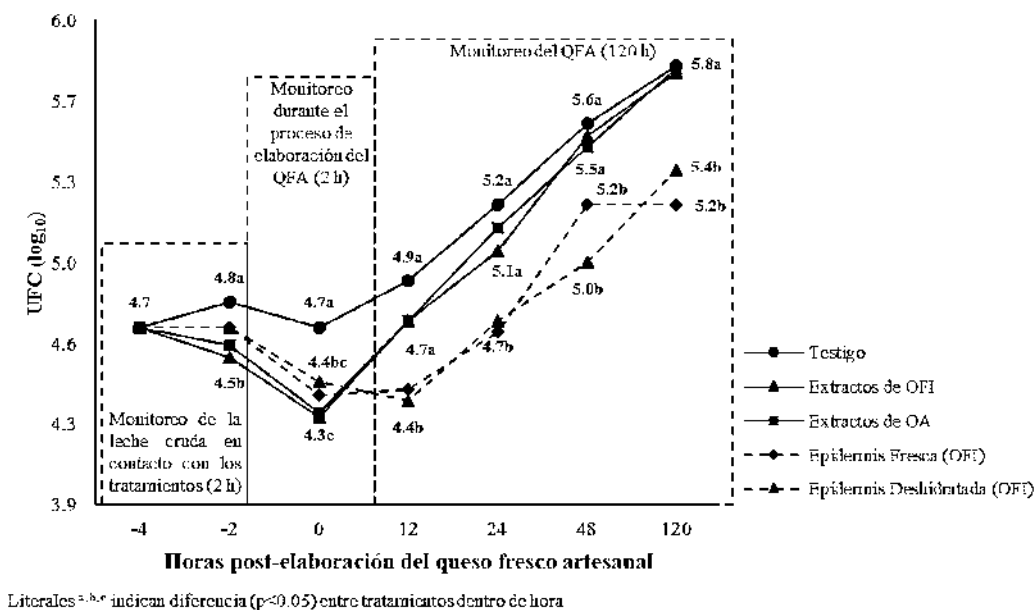


Figura 14. Medias de mínimos cuadrados (Log_{10}) de UFC g^{-1} para CT de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del queso fresco artesanal (QFA)

Calidad bacteriológica del yogurt artesanal elaborado a partir de leche tratada con epidermis de nopal. Los resultados encontrados en yogur determinaron efecto de tratamiento y de tratamiento*hora post-elaboración sobre BMA y CT (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis de efectos fijos para UFC ml^{-1} de bacterias en yogurt artesanal

F de V	Mesófilas aerobias			Coliformes Totales		
	Gl	F	Pr>F	Gl	F	Pr>F
Tratamiento	2	14.04	<0.001	2	24.4	<0.001
Tratamiento*Hora	12	3.36	<0.001	10	5.76	<0.001

Con respecto al efecto del tratamiento sobre las unidades formadoras de colonia (UFC ml^{-1}) de BMA en yogurt, se encontró que, el yogurt elaborado de la leche que estuvo en contacto directo con epidermis de nopal (EN) fresca (EN_{BF}) o epidermis de nopal deshidratada

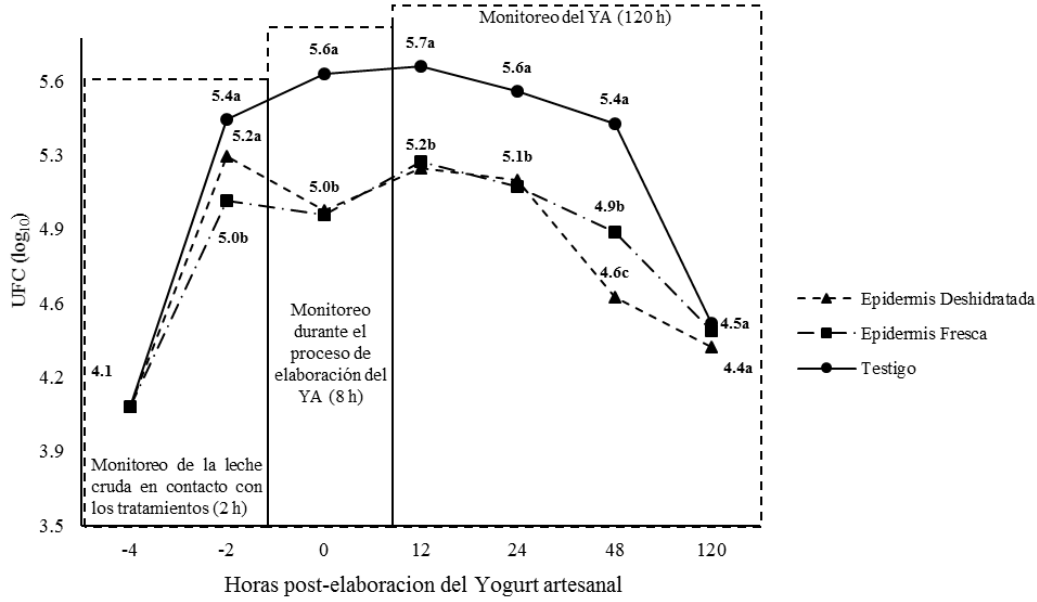
(EN_{BS}), mostraron menor conteo de UFC ml⁻¹ en promedio (P<0.05), ello en comparación con el promedio general de las UFC ml⁻¹ de BMA, encontradas en el yogurt elaborado a partir de leche cruda sin adición de epidermis de nopal (testigo) (Tabla 20).

Tabla 20. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml⁻¹ de mesófilas aerobias en yogurt artesanal de acuerdo al tratamiento.

Tratamiento	UFC (Log ₁₀)	
	Promedio	E.E.
Testigo	5.2 ^a	0.07
Epidermis fresca de <i>O. ficus-indica</i> (EN _{BF})	4.8 ^b	0.07
Epidermis deshidratada de <i>O. ficus-indica</i> (EN _{BS})	4.8 ^b	0.07

Literales ^{a, b} indican diferencias entre tratamientos (P<0.05)

En lo referente al comportamiento de los tratamientos en leche cruda utilizada para la elaboración del yogurt, se observó que el contacto directo por dos horas con la epidermis EN_{BF} y EN_{BS} con la leche, lograron reducir las UFC ml⁻¹ de BMA (P<0.05): -5.18 (Log₁₀) o -63x10⁴ y -4.77 (Log₁₀) o 5.88x10⁴ UFC ml⁻¹, respectivamente, ello en comparación con la leche sin contacto (Testigo + 2 horas) directo con epidermis tratamiento (P<0.05). No obstante, el número de las UFC ml⁻¹ de BMA de los tres tratamientos se incrementaron (P<0.05) con respecto al número de las mismas presentes en leche cruda 2 h antes (Figura 15).



Literales ^{a, b, c} indican diferencia ($p < 0.05$) entre tratamientos dentro de hora

Figura 15. Medias de mínimos cuadrados (Log_{10}) de UFC ml^{-1} para BMA de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del yogurt artesanal

Al término del proceso de la elaboración del yogurt (0 h), el cual tuvo una duración de 8 h, los resultados establecieron que el producto terminado (yogurt) elaborado a partir de la leche cruda que estuvo en contacto directo con epidermis (EN_{BF} y EN_{BS}) contabilizaron menor número de UFC ml^{-1} ($5.47 - \text{Log}_{10}$ o 29.5×10^4) para BMA ($P < 0.05$), en comparación con el yogurt derivado de la leche Testigo (Figura 15). No obstante, a partir del periodo 12 h post-elaboración y almacenamiento (4°C) de yogurt las UFC ml^{-1} de BMA en los tres tratamientos (EN_{BS} , EN_{BF} y Testigo) se incrementaron. Sin embargo, dicho incremento fue menor ($P < 0.05$) en el yogurt proveniente de la leche tratada con epidermis (EN_{BS} o EN_{BF}) (Figura 15). Posterior a dicho periodo (hora 48 post-elaboración), las UFC ml^{-1} para BMA del yogurt elaborado a partir de todos los tratamientos tuvieron una tendencia ($P < 0.05$) a disminuir (Figura 15).

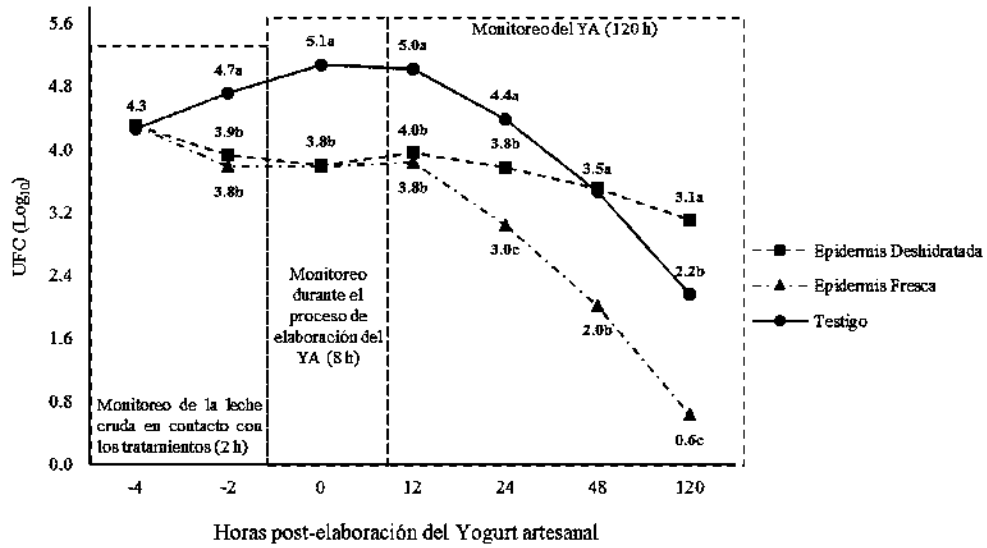
Para aspectos de los resultados de CT en yogurt, se encontró efecto de tratamiento sobre las UFC ml⁻¹ de dicho indicador (Tabla 21). En este sentido, el contacto directo con EN_{BF} o EN_{BS} a la leche cruda utilizada para la elaboración de yogurt, permitió que dicho producto lácteo contabilizara en promedio menor número de bacterias (P<0.05), ello en comparación con las cuentas bacterianas del yogurt proveniente de la leche cruda sin adición de epidermis de nopal (Testigo) (Tabla 21). Sin embargo, el tratamiento de EN_{BF} a la leche cruda produjo conteos promedios menores (P<0.05) de bacterias para CT en yogurt en comparación con el yogurt elaborado a partir de leche cruda tratada con EN_{BS} (Tabla 21).

Tabla 21. Medias de mínimos cuadrados para UFC ml⁻¹ de Coliformes totales en yogurt artesanal de acuerdo al tratamiento.

Tratamiento	UFC (Log ₁₀)	
	Promedio	E.E.
Testigo	4.2 ^a	0.10
Epidermis fresca de <i>O. ficus-indica</i> (EN _{BF})	3.1 ^b	0.09
Epidermis deshidratada de <i>O. ficus-indica</i> (EN _{BS})	3.8 ^c	0.08

Literales ^{a, b, c} indican diferencias entre tratamientos (P<0.05)

Los resultados de CT en yogurt, antes de su elaboración (leche cruda), durante y posterior a su elaboración (0 a 120 h) determinaron que, la adición de EN_{BF} o EN_{BS} a la leche cruda mejoró (P<0.05) la calidad bacteriológica, específicamente en CT, en la leche cruda y mantuvo la misma carga bacteriana durante el proceso de elaboración del yogurt (0 h) (P>0.05), proceso que duró 8 h (Figura 16). Así mismo, a partir del periodo 12-120 h post-elaboración y almacenamiento (4 °C), las UFC ml⁻¹ de CT contabilizadas en el yogurt proveniente de los tres tratamientos tuvieron una tendencia a disminuir (P<0.05). Sin embargo, el yogurt proveniente de leche tratada con EN_{BF} en la 120 h post-elaboración, contabilizó <1 (Log₁₀) UFC ml⁻¹ de dicho indicador, en comparación con el yogurt elaborado a partir de la leche testigo y la tratada con EN_{BS} (Figura 16).



Literales ^{a,b,c} indican diferencia ($p < 0.05$) entre tratamientos dentro de hora

Figura 16. Medias de mínimos cuadrados (Log_{10}) de UFC ml^{-1} para CT de acuerdo a la interacción tratamiento*horas post-elaboración del yogurt artesanal.

8. DISCUSIÓN

8.1 Primera etapa: Efecto del nopal (*O. ficus-indica*) en la dieta de vacas Holstein bajo confinamiento total sobre la producción y calidad bacteriológica de la leche cruda y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal)

Producción de leche

Los resultados sobre producción de leche y, en donde el grupo de vacas sometidas a la dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ (grupo 2) mostraron un mejor comportamiento (19 kg) en comparación con la producción (15.8 kg) de las vacas sometidas a la dieta convencional (grupo1) (Figura 1), concuerda con los resultados obtenidos por Ortiz *et al.* (2010, 2012), quienes encontraron un aumento del 12.7% en la producción de leche de vacas complementadas con *O. ficus-indica*, tanto en época de estiaje como en temporada de lluvia y en vacas bajo condiciones de semi-estabulación (50% pastoreo).

Cabe destacar que en las investigaciones de Ortiz *et al.* (2010, 2012) se utilizó como fuente principal de la dieta, los esquilmos de maíz (33%). Mientras que, en la presente investigación, la dieta de las vacas contenía como principal insumo la alfalfa (41.75%). Para el caso de los esquilmos de maíz, estos poseen alrededor del 35% de digestibilidad (Hinojosa, 2013), mientras que la alfalfa tiene una digestibilidad del 68% (Torres *et al.*, 2007; Giovanna, 2016). Este elemento (digestibilidad de los insumos de la dieta) pudiera sugerir que, dicha cactácea mejora la digestión del resto de los insumos de la dieta de los bovinos productores de leche (Mendoza, 2015), sobre todo cuando se compara la productividad de las vacas cuando reciben o no, una dieta complementada con nopal (Figura 1). No obstante, el incremento de la producción de leche, debido a la ingesta del nopal, puede deberse a otros factores además del ya referido.

García (2013), al evaluar 200 mg de la dieta complementada con *O. ficus-indica* bajo la técnica gas en *in-vitro* y bajo el ajuste de la presión de gas (PG) *in vitro* (función de Orskov y McDonald, 1979) mostró que la degradación de la fracción soluble del sustrato (a) fue más elevada para la dieta complementada con *O. ficus-indica* ($P < 0.05$) al presentar un mayor promedio de producción de gas: 26.1 ml 200⁻¹ mg vs 22.8 ml/200 mg en la dieta sin complementar con nopal. Mientras que la tasa degradable de la fracción insoluble del sustrato (b) fue de 74.1 y 72.1 ml 200 mg⁻¹, para la dieta complementada y sin complementar, respectivamente. Además, la tasa de degradación de la fracción potencialmente degradable (c) fueron de 0.05 ml 200⁻¹ mg, para ambas dietas. Así mismo, la degradabilidad potencial del sustrato a 72 h de incubación ruminal (a + b) fue de 100% para la dieta complementada con nopal y 94.9% para la dieta sin complementar, siendo estadísticamente iguales ($P > 0.05$). Para García (2013) el efecto positivo del nopal en la PG, posiblemente se puede relacionar al aporte de carbohidratos solubles de fácil degradación a la dieta por parte de *O. ficus-indica* (Magalhães *et al.*, 2004; Deysi 2016), aporte que permitió mayor actividad microbiana y en consecuencia una mayor eficiencia en fermentación de los sustratos de la dieta. Puesto que, la elevada concentración de carbohidratos solubles (30 a 50 % /MS) del nopal se fermentan eficientemente en rumen (68 % de digestibilidad *in situ* en 48 h) (Herrera *et al.*, 2014). Así, una mayor eficiencia en la fermentación ruminal podría incrementar la producción de los ácidos grasos volátiles (AGV's) (propiónico, butírico y acético, principalmente); mismos que se absorben desde la pared interna del rumen (Ruíz *et al.*, 2015; Elghandour *et al.*, 2015; Gao y Oba, 2016) para ser utilizados como fuente de energía o para la síntesis de leche (Dieho *et al.*, 2017).

Otra posible explicación para el incremento de la producción de leche por efecto de la ingesta de nopal, puede deberse a la interacción entre los metabolitos secundarios, presentes en dicha

cactácea (Mostafa *et al.*, 2014), y las poblaciones microbianas del rumen (Guo *et al.*, 2016). Se ha documentado que los metabolitos secundarios tales como saponinas, flavonoides, taninos, entre otros más tienen la capacidad de modular la fermentación ruminal de manera favorable para que el hospedados (bovino) obtenga los nutrientes necesarios e incrementar sus indicadores productivos (leche y carne) (Spanghero *et al.*, 2009; Salem *et al.*, 2014; Wencelová *et al.*, 2015). Puesto que estos metabolitos son capaces de modificar las microbiota ruminal; dado que pueden reducir cierto tipo de microorganismos (protozoarios) lo que favorece la proliferación de otros (*Ruminococcus* sp, *Bacteroides* sp, *Butyrivibrio* sp., *Streptococcus* sp) (Guyader *et al.*, 2017). Estos cambios de la población ruminal mejoran la dinámica ruminal puesto que propician una mayor degradación de la fibra y se incrementa la producción de AGV's (Liu *et al.*, 2016).

Un aspecto importante entre los metabolitos secundarios de las plantas y su efecto en la modulación de las poblaciones ruminales, es que algunos de estos metabolitos inhiben la población de hongos (Garcia, 2003; Pratap y Ram, 2014). Así mismo, se ha observado que los metabolitos, como fenoles, terpenos y alcaloides son capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de las bacterias metanogénicas y protozoarios (Hess *et al.*, 2003; Sirohi *et al.*, 2014; Jayanegara *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2015), lo que explicaría la mayor producción de AGV's y en consecuencia el incremento de la producción de leche. Cui *et al.* (2015), observaron que al adicionar 3 mg kg^{-1} de rutin (metabolito secundario presente en *Opuntia* sp) a la dieta de bovinos productores de leche, incremento: la concentración total de AGV's (de 83.12 a 96.72 mM), la proteína de origen microbiana y redujo: el número de protozoarios ruminales, pH del líquido ruminal y, la concentración de nitrógeno de amonio ($\text{NH}_3\text{-N}$) en líquido ruminal (-9.04 mg/100ml) ($P < 0.05$). Lo que genero a su vez, el incrementó la producción láctea (10.06 %).

Además, algunos compuestos presentes en el nopal (Isoquercetin, Rutin, Quercetin, entre otros) con estructura similar al estrógeno mitógeno (17- β -estradiol) estimulen la mitosis celular de la glándula mamaria de las vacas, ocasionando un incremento en la síntesis de leche (Zheng *et al.*, 2002; Tan *et al.*, 2004; Suman *et al.*, 2008), aspecto que no se descarta en la posible explicación del incremento de la producción de leche del grupo de vacas, analizadas, que se sometieron a la dieta complementada con nopal. Puesto que Schedin *et al.* (2000), Xu *et al.* (2002), Guo *et al.* (2012), Wang *et al.* (2015), observaron en la glándula mamaria proliferación de las células epiteliales, crecimiento y desarrollo lobular y alveolar al suministrarles rutin en la dieta de los animales analizados.

Calidad bacteriológica de la leche cruda

Respecto a la calidad bacteriológica de la leche cruda conforme transcurrió el periodo experimental (21 días), los resultados mostraron que a partir de la 2^a semana, post-adaptación a la dieta complementada con nopal, las UFC ml⁻¹ de las diferentes bacterias analizadas en la leche proveniente del Grupo 2 mostró menor número de UFC ml⁻¹ para BMA, CT y *E. coli* (P<0.05), ello en comparación con la carga bacteriana (UFC ml⁻¹) de la leche proveniente del Grupo 1 (Tabla 6). La posible explicación del efecto positivo de la ingesta de nopal, por parte de las vacas, sobre la calidad microbiológica de la leche cruda, así como para sus sub-productos (como el QFA y el yogurt), gira entorno a la modulación del sistema inmunitario innato del organismo a través de compuestos de plantas, como las saponinas, quienes pueden estimular significativamente la actividad de neutrófilos y linfocitos de la sangre periférica y de la leche fenómeno observado en investigaciones *in vitro* (Concha, 2010; Joven *et al.*, 2012; Seo and Shin, 2012; Pereyra *et al.*, 2014)

Por otra parte, las plantas medicinales pueden jugar un papel importante en la estimulación y desarrollo de bacterias, tanto ruminales como de otras partes del tracto digestivo, que son consideradas como benéficas (bacterias ácido lácticas) (Fontecha *et al.*, 2009; Hernández y Vélez, 2014), estimulación debida a los metabolitos secundarios, como los que posee el nopal (Moussa *et al.*, 2016), y que pueden ejercer una selección indirecta sobre éstas bacterias, al suprimir ciertas bacterias, hongos y protozoos (Berger *et al.*, 2015; Ramírez *et al.*, 2016; Guyader *et al.*, 2017) eliminando así, la competencia entre las diferentes poblaciones del microbiota digestiva por los sustratos alimenticios, como podría ser los pectin-oligosacáridos (Guevara, 2009; Lieber *et al.*, 2012; Ke *et al.*, 2015). Por su parte, Cui *et al.* (2015), observaron un incremento (>50%) de lisozima en sangre en vacas que consumieron 3 mg de rutin kg⁻¹ de alimento. Hallazgo que pudiera explicar el incremento en la calidad bacteriológica de la leche, puesto que, la lisozima es una enzima excretada por los mamífero en leche con capacidad bactericida, debido a su acción (lisis) sobre el péptido glucano de las bacterias Gram positivas y la membrana externa de los Gram negativos (Niyonsaba y Ogawa, 2005; You y Col., 2010).

En cuanto a los compuestos metabólicos secundarios presentes en *O. ficus-indica* se ha demostrado su actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, entre otros) y en algunos casos éste efecto perdura hasta por diez semanas (Kim *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2005; Mokbel and Suganuma, 2006; Castillo *et al.*, 2011; Young *et al.*, 2012; Lou *et al.*, 2012; Umar *et al.*, 2013).

Se ha documentado la presencia de moléculas orgánicas en cladodio de *O. ficus-indica* como el ácido gálico, ácido p-coumérico 3,4-dihydroxybenzoic, ácido ferúlico, ácido salicílico, Isoquercetin, Isorhamnetin-3-*O* glucoside, nicotiflorin, rutina y narcissin (Valente *et al.*,

2010; Bensadón *et al.*, 2010; Guevara *et al.*, 2010; Mostafa *et al.*, 2014). De estos compuestos, Sánchez (2012) señala que el ácido p-coumérico puede ser el principal compuesto que afecta la permeabilidad de la membrana celular de *Vibrio cholerae* y *Clostridium perfringens*, lo que provoca la pérdida de componentes celulares como iones (K⁺ y Ca⁺), ácido nucleico, aminoácidos, entre otros (Ultee *et al.*, 1999; Lambert *et al.*, 2001; Cox *et al.*, 2012). Además de provocar cambios en el pH citoplasmático y la disminución del ATP celular, en su conjunto resultando en la actividad antimicrobiana (Duran *et al.*, 1997). Lo que en conjunto explicaría porque la ingesta de nopal mejora la calidad de la leche cruda.

En relación a *S. aureus* en leche cruda proveniente para del Grupo 1 y Grupo 2, no se encontraron diferencias en las cuentas bacterianas de dicha bacteria, en la leche cruda producida durante la fase experimental. Sin embargo, se pudo observar que la leche proveniente del Grupo 2 contenía 1.8×10^3 UFC ml⁻¹ de *S. aureus* menos que la leche cruda proveniente de vacas alimentadas convencionalmente (Grupo 1) (Tabla 7). Hu *et al.*, (2001) observaron en vacas con mastitis subclínicas provocada por *S. aureus* que, la administración de saponinas (también presente en *Opuntia* sp; Rodríguez *et al.*, 2007; Mostafa *et al.*, 2014), vía subcutánea, durante seis días, provocó una disminución de: cuartos infectados por *S. aureus* y de las células somáticas de la leche. La fagocitosis y la capacidad de matar fue significativamente aumentada una semana después del tratamiento con saponinas del en los neutrófilos. De aquí que, las saponinas sean consideradas como moduladores del sistema inmune de la glándula mamaria de la vaca. Otra posible explicación se centra directamente en los metabolitos secundarios presentes en el nopal (Delgado, 2016), mismos que se absorben en el intestino, pasando al torrente sanguíneo donde, posteriormente, son secretados

en leche y actúan en contra de *Staphylococcus aureus* adheridos al canal y/o esfínter del pezón o en la misma leche (Nogueira, 2011; Gohlke *et al.*, 2013; Cruz y Lizarado, 2015).

Calidad bacteriológica del queso fresco artesanal

Para el caso de la calidad bacteriológica del queso fresco artesanal (Tabla 9) se observó que dicho producto lácteo, provenientes de las vacas que consumieron una dieta complementada con 12 kg de *O. ficus-indica* vaca⁻¹ día⁻¹, en general, cuantificaron menor número de UFC ml⁻¹ o g⁻¹ de BMA, CT, *E. coli* y *S. aureus* (P<0.05). En leche cruda, los resultados fueron similares a los observados por Ortiz *et al.* (2012): la leche proveniente de vacas complementadas con nopal (*O. ficus-indica*) contenía 1.6 y 2.2 Log₁₀ UFC ml⁻¹ de BMA y CT, respectivamente. En comparación con 3.5 y 3.7 Log₁₀ UFC ml⁻¹ de BMA y CT, respectivamente; en la leche cruda proveniente de vacas sin complementación de nopal.

El QFA elaborado a partir de leche cruda producida por las vacas del grupo 2 durante la 2^a y 3^{er} semana de la fase experimental, presentó menor cantidad de cuentas (UFC g⁻¹) bacterianas de BMA, CT y *E. coli* (P<0.05), con respecto a las cargas promedio de dichas bacterias en QFA elaborado con leche cruda producida por las vacas del Grupo 1 durante la 2^a y 3^{er} semana de la fase experimental (Tabla 10). Este comportamiento (calidad bacteriológica) en QFA concuerda con lo observado por Ortiz *et al.* (2012), quienes señalan que el queso elaborado con leche proveniente de vacas que consumieron 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹, fue de mayor calidad microbiológica (3.5 y 4.0 Log₁₀ UFC g⁻¹ para BMA y CT, respectivamente) en comparación con el QFA elaborado a partir de leche cruda proveniente de vacas bajo una dieta convencional (4.0 y 5.1 Log₁₀ UFC g⁻¹ para BMA y CT, respectivamente).

Smith *et al.* (2001) observaron inhibición de crecimiento bacteriano en queso elaborado de leche proveniente de cabras a las cuales en su dieta se les adicionó aceite de *Thymus vulgaris*, la cual se caracteriza por poseer grandes cantidades de metabolitos secundarios. Ejechi y Akpomedaye (2005), Elegir *et al.*, (2008), Corrales *et al.*, (2009; citados por Sánchez *et al.*, 2011) no solo sugieren que, los metabolitos secundarios de las plantas tienen acción bacteriostática, sino también, han comprobado que pueden ser útiles para mejorar la calidad microbiológica de los sub-productos lácteos y como conservantes de estos alimentos. Esto sugiere, que la ingesta de nopal no solo afecta positivamente la producción y calidad de la leche si no que éste efecto perdura durante el proceso de elaboración y almacenamiento (2 días) del QFA.

En síntesis, una vez que al animal se ha adaptado a la dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ mejora la calidad bacteriológica del QFA, ello de acuerdo con los resultados obtenidos a partir de los quesos elaborados de la leche producida por éstas vacas (Figura 4, 6, 8 y 10). No obstante, es necesario establecer que, dichos quesos de ambos grupos no cumplieron con las especificaciones microbiológicas para el número de UFC ml⁻¹ de CT, el cual es de 2 (Log₁₀) UFC ml⁻¹, que marca la NMX-F-700-COFOCALEC-2004. Ni para *E. coli* o para *Staphylococcus aureus*, las cuales deben estar ausentes (NOM-243-SSA1-2005). No obstante, para aspectos de UFC para BMA, la norma establece que la leche cruda no debe de contener más de 6.1 (Log₁₀) UFC ml⁻¹ para que ésta sea considerada apta para la elaboración de subproductos lácteos: estándar que si cumplió el QFA elaborado a partir de la leche derivada de las vacas que consumieron nopal como parte de su dieta.

Por último, y en lo que respecta a la variación de las cuentas bacterianas de BMA, CT y *E. coli* en QFA (Tabla 15) dentro de cada grupo analizado en la presente investigación, dicha

variación posiblemente se debió, en primera instancia, a los cambios medio ambientales (época de lluvia) a los que este sistema se enfrentó (Hidalgo *et al.*, 2014; Van, 2014) y en segunda instancia, al cambio semanal del ordeñador y sus consecuentes diferencias en pericia en el momento de aplicar las técnicas de higiene de la ubre, tiempo de ordeña vaca⁻¹, limpieza y desinfección de la sala y del equipo de la ordeña.

Fuentes *et al.* (2013), señalan que la presencia de conteos de BMA y CT por encima de lo establecido en las normas oficiales en leche y queso artesanal, reflejan un manejo inadecuado de la rutina del ordeño; puesto que la mala higiene de las manos del operador, maquina ordeñadora, almacenamiento y el entorno (medio ambiente del sistema), son el principal medio de contaminación de dichos productos lácteos (FDA, 2012; Hernández y Vélez, 2014; Yubero, 2015). Así mismo, diversas investigaciones señala que el QFA elaborado a partir de leche cruda proveniente de sistemas que presentan deficiencias en la salud e higiene de la ubre alcanzan cifras >5 (Log_{10}) UFC g⁻¹ de CT y >7 (Log_{10}) UFC g⁻¹ de BMA, (Maldonado *et al.*, 2011; Josipović *et al.*, 2015; Da Silva *et al.*, 2015).

Calidad microbiológica del yogurt artesanal

En relación a los resultados de calidad microbiológica del yogurt artesanal, se debe señalar que el proceso y análisis microbiológico solo correspondió a la última semana de experimentación, específicamente en los días 20 y 21. En los cuales se observó que el yogurt elaborado a partir de la leche cruda proveniente de las vacas del grupo 2, contenía en promedio menor ($P<0.05$) carga bacteriana (6.1 Log_{10} UFC ml⁻¹) de BMA y de CT (6.61 Log_{10} UFC ml⁻¹) (Tabla 14). Así mismo, durante de monitoreo del yogurt (120 h post-elaboración) elaborado a partir de leche producida en el día 20 (Figura 11) y en el día 21 (Figura 12), se observó que, el yogurt artesanal elaborado a partir de las vacas del grupo 2 presentó menores cuentas de UFC ml⁻¹ para BMA y CT ($P<0.05$). No obstante, los resultados

revelaron variación en las UFC ml⁻¹, de ambos indicadores, dentro de grupo. La posible causa de esta variación en el comportamiento bacteriano (BMA y CT) en yogur, fue el grado de cuentas bacterianas en la materia prima (leche cruda) de acuerdo al día de producción, la cual pudo estar afectada por aspectos ambientales como los descritos en los párrafos dedicados a la discusión del queso fresco artesanal.

Gibert (2016), señala que en alimentos que reciben un adecuado tratamiento térmico (pasteurización) y son sometidos a procesos de fermentación como lo es el yogurt no se realizan pruebas para determinar el número de UFC ml⁻¹ para el indicador BMA. Sin embargo, para el caso del yogurt artesanal ha habido reportes de la presencia de bacterias patógenas, tales como *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* y *Staphylococcus aureus*, relacionando principalmente a un inadecuado proceso térmico y a malas prácticas durante el proceso de manufactura, almacenamiento y comercialización de dicho producto lácteo (López, 2011; Evrendilek *et al.*, 2011; Gundogan y Avci, 2014; Al-Nabulsi *et al.*, 2015; Tirloni *et al.*, 2015).

Así pues, la presencia de mesófilas aerobias en alimentos, advierten un inadecuado manejo o contaminación, que al ser detectados se incrementa la probabilidad del desarrollo de gérmenes patógenos, siendo el consumo de alimentos con inadecuado proceso térmico la primera causa de toxiinfecciones (Alerte *et al.*, 2012; OMS, 2015; Gia, 2016). En síntesis, se puede establecer que la dieta complementada con 12 kg de nopal vaca⁻¹ día⁻¹ mejora la calidad bacteriológica de la leche y de sus subproductos como el yogurt durante el proceso de almacenamiento (Figura 11 y 12). No obstante, es necesario establecer que para el caso de coliformes totales derivados de la leche cruda de ambos grupos no cumplieron con las especificaciones microbiológicas para el número de UFC ml⁻¹ de CT, el cual debe ser de <1 (Log₁₀) UFC ml⁻¹, que marca la NOM-181-SCFI-2010.

8.2. Segunda etapa: efecto de la adición directa de epidermis *O. ficus-indica* (fresca y deshidratada) y extractos etanólicos de *O. ficus-indica* y *O. atropes* a la materia prima (leche cruda) para la elaboración de subproductos

Respecto a los resultados del contacto directo por dos horas de epidermis de nopal o extractos etanólicos de nopal (*O. ficus-indica* y *O. atropes*) con la leche cruda (Tabla 17 y 18), se observó que ésta fue mejor calidad microbiológica, puesto que el número de UFC ml⁻¹ de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y coliformes totales (CT) fueron menores que la leche cruda sin tratamiento. Resultados similares fueron observados por Ortiz *et al.* (2013), al adicionar directamente epidermis de cladodios y fracciones anatómicas diferentes de cladodios de *O. ficus-indica* en base fresca, a la leche cruda las UFC ml⁻¹ de BMA y CT se redujeron en comparación a la leche testigo (P<0.05). Delgado, (2016) observó que la leche tratada con extracto metanólico de epidermis de nopal *O. ficus-indica* y *O. atropes* proveniente de dos parcelas (con y sin prácticas culturales) contenía menor número de UFC ml⁻¹ de BMA y CT, en comparación con la leche cruda sin tratamiento (P<0.05). Así mismo, se ha observado de manera *in-vitro* que los extractos fenólicos de *O. ficus-indica*, son capaces de reducir el crecimiento de bacterias gram-negativas como *Vibrio cholera* y gram-positivas como *Listeria monocytogenes* (Sánchez *et al.*, 2010; Na-Kyoung *et al.*, 2016).

Existen evidencias de que el nopal (*Opuntia* sp) tiene propiedad que inhibe o suspende el crecimiento bacteriano en productos lácteos (Ortiz *et al.*, 2013; Aguilar *et al.*, 2016). Al respecto, *Opuntia* sp posee metabolitos secundarios capaces de mezclarse con los compuestos polares (agua, K-caseína, fosfolípidos) y no polares (glóbulos de grasas, α y β -caseína) de la leche, mezcla que facilita la liberación de polifenoles presentes en esta planta, los cuales actúan en el medio como bacteriostáticos (Gad y El- Salam, 2010; Gyawali *et al.*, 2014; Jung *et al.*, 2015). Dicho extracto, al perturbar (despolarizar) y traspasar la membrana

de la bacteria ocasiona la reducción del pH citoplasmático y, ello a su vez, provoca el incremento en el consumo de ATP y la muerte celular (Sánchez, 2012).

Las propiedades antimicrobianas tanto de *Opuntia* sp, como de otras plantas, ya han sido descritas por diversos investigadores (Adiguzel *et al.*, 2009). No obstante, la mayoría de estos estudios han sido reportados en sistemas líquidos como la leche e *in-vitro* en donde los compuestos del nopal interactúan directamente con las membranas de la bacteria (Umar *et al.*, 2013). Por lo contrario, Mendoza *et al.* (1997), señalan que los extractos de plantas exhiben menores efectos inhibidores en matrices sólidas o semi-sólidas como es el caso del QFA, puesto que la interacción de los metabolitos secundarios con las bacterias se interrumpe. Pues si bien el QFA llega a contener hasta un 50 % de humedad se caracteriza por ser una pasta semi-sólida con alto contenido de grasa (>15%), capaz de formar una barrera entre la superficie de la membrana de las bacterias, lo que a su vez evita dicha interacción (Qiao *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2016).

Teniendo en cuenta lo anterior, hipotéticamente se determinó que, el efecto antimicrobiano de la adición de epidermis y extractos de dicha cactácea en leche, observado por otros autores, pudiera verse reflejado en subproductos como el yogurt y el QFA. Al respecto, se observó que tanto el QFA (Tabla 17 y 18) como el yogurt (Tabla 20 y 21) elaborados a partir de leche cruda tratada con extractos de epidermis y con la propia epidermis de nopal (*O. ficus-indica* y *O. atropes*) fueron de mejor calidad microbiológica que el QFA y el yogurt elaborados a partir de leche cruda sin tratamiento. Puesto que contenían menor UFC g⁻¹/ml⁻¹ de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y coliformes totales (CT), en comparación con los testigo. Además, durante el monitoreo post-elaboración y almacenamiento (4°C), se observó que los

tratamientos con epidermis y extracto de nopal, tenían menor crecimiento promedio conforme transcurrió el tiempo.

Para aspecto de calidad microbiológica existen regulaciones sanitarias que establecen los estándares mínimos de contaminación bacteriológica para que la leche y sus subproductos como es en este caso el QFA y el yogurt, sean aptos para el consumo humano (CANILEC, 2011). En este sentido, los resultados encontrados en esta investigación determinaron que la calidad microbiológica de la leche cruda proveniente de las vacas que consumieron en su dieta 12 kg de nopal y las que consumieron una dieta convencional y la leche cruda tratada con extractos y epidermis de nopal, cumplieron con las especificaciones microbiológicas para el número de UFC ml⁻¹ de BMA que marca la NMX-F-700-COFOCALEC-2004, la cual establece que la leche cruda no debe de contener más de 6.1 (Log₁₀) UFC ml⁻¹ para que esta sea considerada apta para el consumo y/o elaboración de subproductos lácteos. Dicha norma también establece el máximo permitido de UFC ml⁻¹ de CT, el cual es de 2 UFC ml⁻¹ por lo que la leche de todos los experimentos no cumplió con dicha norma.

Referente a la calidad bacteriológica del QFA la NOM-243-SSA1-2010 establece que dicho producto no debe de cuantificar más de 6.2 UFC g⁻¹ de BMA para ser considerado apto para el consumo humano, valor que solo cumplió el QFA elaborado a partir de leche cruda tratada con extractos etanolicos de epidermis (*O. ficus-indica* y *O. atropes*) y epidermis fresca y deshidratada (*O. ficus-indica*) (Figura 13 y 14). No obstante, los QFA de todos los tratamientos, cumplió con los 2 (Log₁₀) UFC g⁻¹ de CT que marca dicha norma. Referente a la calidad del yogurt artesanal la NOM-185-SSA1-2002 establece que dicho producto lácteo no debe de contener más de 1 (Log₁₀) UFC ml⁻¹ de CT, indicador que ninguno de los yogurt ha cumplido con lo que marca dicha norma.

Hay que hacer notar que en campo los artesanos de productos lácteos si calientan la leche para consumirla y/o fabricación de yogurt así como, utilizan porcentajes mayores de sal para la fabricación de QFA en comparación a los métodos utilizados en este experimento. Sin embargo, el utilizar leche cruda para la elaboración de yogurt e implementar bajo contenido de sal (2.5 %), es la simulación de malas prácticas de manejo, mismas que se dan cotidianamente en dichos sistemas, y en relación al porcentaje de sal es lo recomendado con los manuales de elaboración descritos por diversas organizaciones (FAO, 2012; INTI, 2014; SAGARPA, 2010).

9. CONCLUSIÓN

La inclusión de 12 kg de *O. ficus-indica* vaca⁻¹ día⁻¹ a la dieta de bovinos productores de leche bajo condiciones de confinamiento total en época de lluvia, incrementa la producción y la calidad microbiológica de la leche y sus subproductos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal). Sin embargo, la mejora de la calidad microbiológica de la leche cruda específicamente en lo que se refiere a coliformes totales, no es suficiente para alcanzar los estándares de calidad que marca las normas oficiales mexicanas. En este sentido, los subproductos lácteos (queso fresco artesanal y yogurt artesanal) elaborados tanto de la leche cruda proveniente de vacas alimentadas con la dieta complementada con nopal o elaborados con leche cruda en contacto directo con epidermis de cladodio de *O. ficus-indica* (fresca o deshidratada o en extractos etanólicos) tampoco logran los estándares de calidad establecidos para coliformes totales. Caso contrario para las mesófilas aerobias en donde la dieta con nopal o los tratamientos con epidermis logran cumplir los estándares que marcan las normas oficiales mexicanas. No obstante, estas alternativas, como primer acercamiento a la solución de los problemas de los sistemas familiares relacionados con la seguridad sanitaria del consumidor, pero no lo suficiente como para recomendar dichas estrategias. Por lo tanto, se requiere seguir investigando estas alternativas en conjunto con estrategias de salud de la ubre de las vacas para el caso de la dieta e incrementar los niveles de adición de epidermis de cladodio de nopal al momento de ponerla en contacto directa con la leche para determinar si con estas modificaciones en el diseño experimental se logra cumplir con los estándares de calidad que marcan las normas oficiales mexicanas para estos productos.

10. CONSIDERACIONES GENERALES

Comparación de la calidad microbiológica de la leche y sus sub-productos entre tratamientos (ingesta de nopal vs contacto directo de nopal y leche cruda)

Respecto del establecimiento de la forma de implementar el uso del nopal, en los sistemas de producción de bovinos productores de leche, que garantice una mayor calidad microbiológica de la leche cruda y sus sub-productos, los resultados de las etapas 1 y 2 de la presente investigación, mostraron que, la leche cruda proveniente de vacas alimentadas con 12 kg de *O. ficus-indica* vaca⁻¹ día⁻¹, podría ser la mejor opción, puesto que se observó mayor efecto (disminución de UFC ml⁻¹ de bacterias analizadas en leche) al compararse con el efecto del contacto directo de los tratamientos de epidermis de cladodio de nopal (EN_{BF} o EN_{BS}) o de los extractos etanólicos de epidermis (E_{OFI} o E_{OA}) con la leche cruda. Puesto que la estrategia de complementar la dieta con nopal generó una disminución del 68% de UFC ml⁻¹ de BMA en leche cruda con respecto al testigo. Mientras que para CT en leche cruda, tanto la complementación de la dieta con nopal como los extractos etanólicos logran reducir la carga de este tipo de bacterias en 36.9% (Tabla 22).

En lo que respecta al queso fresco artesanal, la estrategia que pudiera mejorar la calidad bacteriológica de este subproducto lácteo es el contacto directo de la epidermis del nopal (EN_{BF} o EN_{BS}) con la leche cruda durante 2 h previo al proceso de la elaboración del queso, puesto que esta alternativa logra reducir hasta en 87.4% la cuentas bacterianas (UFC g⁻¹) de BMA con respecto al testigo. Pero, para CT, la implementación de la dieta con nopal ofrece mejores resultados: disminución de UFC g⁻¹ de CT de hasta 84.1% (Tabla 22). Finalmente, para lograr mayor calidad bacteriológica del yogur artesanal, los resultados de la presente investigación apuntan hacia la dieta complementada con nopal, como la mejor alternativa

puesto que reducen en 87.4 y 90.0% las UFC g⁻¹ de BMA y CT en yogurt, respectivamente. Reducciones establecidas a partir de los valores de sus respectivos testigos (Tabla 22). Sin embargo, se ha establecido que el incremento de nopal por arriba de 20 kg no favorece el incremento en la producción de leche y en este sentido se tendría que analizar si es conveniente sacrificar cantidad por calidad, para efectos de la reducción de coliformes totales en leche cruda y sus sub-productos.

Tabla 22. Diferencias porcentuales para cada tratamiento con respecto a su testigo para la leche cruda, queso fresco artesanal y yogurt

Producto	Leche cruda						Queso fresco artesanal						yogurt artesanal					
Tipo de bacteria	Mesófilas aerobias			Coliformes totales			Mesófilas aerobias			Coliformes totales			Mesófilas aerobias			Coliformes totales		
	Test	Trat	Dif. (%)	Test	Trat	Dif. (%)	Test	Trat	Dif. (%)	Test	Trat	Dif. (%)	Test	Trat	Dif. (%)	Test	Trat	Dif. (%)
Vacas con nopal	31.6	10	68.3	3.2	2	36.9	1000	251.2	74.9	501.2	79.4	84.1	3162.3	398.1	87.4	125.9	12.6	90
ENBF	10	4	60.2	6.31	5	20.6	158.5	4	87.4	4	5.0	60.2	10	6.3	36.9	1.6	0.1	92.1
ENBS	10	4	60.2	6.31	5	20.6	158.5	4	87.4	4	5.0	60.2	10	6.3	36.9	1.6	0.6	60.2
EOFI	10	6.3	36.9	6.31	4	36.9	158.5	15.8	49.9	15.8	7.9	36.9	-	-	-	-	-	-
EOA	10	6.3	36.9	6.31	4	36.9	158.5	10	68.4	10	7.9	36.9	-	-	-	-	-	-

Test= testigo de cada tratamiento, Trat= tratamiento, Dif (%)= diferencia en porcentaje entre tratamiento y testigo correspondiente

11. BIBLIOGRAFÍA

Adiguzel, A., H. Ozer, M. Sokmen, M. Gulluce, A. Sokmen, H. Kilic, F. Sahin, and O. Baris. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. *Pol. J. Microbiol.* 58: 69–76.

Adlercreutz H., Fotsis T., Bannwart C., Makela T., Wahala K., Brunow G. and Hase T. 1985. Assay of lignans and phatoestrogens in urine of women and in cow's milk by GC/ MS (SIM). Todd JFJ, editor. *Advances in mass spectrometry*. Precedente del 10th International Mass Spectrometry Conference. Chichester. UK

Administración de Drogas y Alimentos (FDA). 2012. Los peligros de la leche cruda: la leche sin pasteurizar puede representar un riesgo grave para la salud. [en línea] <https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM316383.pdf>.

Administración de Drogas y Alimentos (FDA). 2015. Los peligros de la leche cruda: La Leche sin Pasteurizar Puede Representar un Riesgo Grave Para la Salud. Recuperado de: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm210577.htm>

Agarwal A., Awasthi, V., Dua, A., Ganguly, S., Garg, V., & Marwaha S. S. 2012. Microbiological profile of milk: impact of household practices. *Indian journal of public health*, 56(1), 88.

Agudelo L. M. 2013. Los quesos mexicanos genuinos. Patrimonio cultural que debe rescatarse. *Sociedades rurales, producción y medio ambiente*. Vol.13 núm. 26.

Agudelo L. N., Torres T. M., Alvarez L. C. y Vélez A. L. 2015. Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Revista alimentos hoy*. No 36. Vol 23. Pp. 186 – 197.

Aguiar, M. D. S. M. A., da Silva, F. F., Donato, S. L. R., de Oliveira Rodrigues, E. S., Costa, L. T., Mateus, R. G., and Da Silva, V. L. 2015. Forage cactus in diets of confined dairy cattle: performance and economic viability. *Semina: Ciências Agrárias*, No. 36, Vol. 2, Pp. 1013 1030.

Aguilar B. J. L., Valdez A. J.J., Val A. D., Martinez F. H.E, Pérez S. R.E y Ortiz R. R. 2016. Efecto de la adición de mucilago de dos variedades (*Opuntia ficus-indica* y *Opuntia atropes*) en leche cruda sobre el contenido de mesófilas aerobias y coliformes totales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Vol. 1, No.1, Pp. 573-578

Alaniz de la O R., Martín del Campo Moreno C. I, Morales A. L. y Rosas B. B. T. 2006. Aislamiento de bacterias ácido lácticas con acción antagonica en contra de patógenos bacterianos de importancia en salud pública. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA, XVII Semana de la Investigación Científica*.

Aldrete T. A., Escobar R. M. C., Tamplin, M. L., and Hernández I. M. 2014. High-throughput sequencing of microbial communities in Poro cheese, an artisanal Mexican cheese. *Food microbiology*, Vol. 44. Pp. 136-141.

Alerte , V., Cortés, S., Díaz, J., Vollaire, J., Espinoza, M., Solari, V., . . . Torres, M. (febrero de 2012). Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). *Chilena Infectología*, 29(1), 26-31.

Al-Nabulsi A. A., Olaimat A. N., Osaili T. M., Ayyash M. M., Abushelaibi A., Jaradat Z. W. and Holley R. A. 2016. Behavior of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* during fermentation and storage of camel yogurt. *Journal of dairy science*, No. 99, Vol. 3, Pp. 1802-1811.

Amagliani G., Petruzzelli A., Carloni E., Tonucci F., Foglini M., Micci E. & Brandi G. 2016. Presence of *Escherichia coli* O157, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in

Raw Ovine Milk Destined for Cheese Production and Evaluation of the Equivalence Between the Analytical Methods Applied. *Foodborne pathogens and disease*, No. 13, Vol. 11, Pp. 626-632.

Arango F. O. D., Eraso J. C. C., y Gutiérrez L. F. M. 2016. Modelo de gestión de la inocuidad del sector lácteo en el Departamento de caldas (Colombia). *Alimentos Hoy*, 24(39), 168-184.

Arango, A.G.J. 2010. Metabolismo Ácido de las Crasuláceas CAM. Introducción al metabolismo secundario. Facultad de Química Farmacéutica. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. [En línea] <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/shikimico.pdf>

Arriaga J. C., Heredia N. D., Martínez G. C. y Rayas A. A. 2013. “Importancia de los Sistemas de Producción de Leche a Pequeña Escala en México”. 1er Congreso Nacional de Producción, Calidad, Transformación, Comercialización y Nutrición de la Leche y sus Derivados. Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto de Ciencias Agropecuario y rural (ICAR).

Bargel H, K Koch, Z Cerman, C Neinhuis (2006) Structure-function relationships of the plant cuticle and cuticular waxes—a smart material? *Funct. Plant Biol.* 33:893-910.

Barrantes X., Railey D., Arias M. y Chaves C. 2004. Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*O157:H7. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. P. 4.

Bastida M. C. 2014. Caracterización del Sistema de Producción de Leche en la Comunidad de Loma Blanca, Almoloya de Juárez, Estado de México (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Toluca, Estado de México. Pp. 10-12.

Beiza M. I., Ramírez G. R. E., Tzintzun R. R. y Val A. D. 2007. Efecto de la calidad de la leche en el rendimiento del queso. 1er Congreso Regional de BUIATRIA. Memorias. Morelia Michoacán. Pp. 161-168.

Belaqziz R., Bahri F., Romane A., Antoniotti, S., Fernandez X. and Dunach, E. 2013. Essential oil composition and antibacterial activity of the different parts of *Thymus maroccanus* Ball: an endemic species in Morocco. *Natural Product Research*, 27, Pp. 1700-1704.

Bensadón, S.; Hervert-Hernández, D.; Sáyago-Ayerdi, S.G.; Goñi, I. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Food Hum. Nutr.* No. 65. Pp. 210–216.

Beresford T.P., Fitzsimons N.A., Brennan N.L. and Cogan T.M. 2001. Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J.* Vol. 11, Pp. 259-274.

Berger, L. M., Blank, R., Zorn, F., Wein, S., Metges, C. C., & Wolfram, S. (2015). Ruminant degradation of quercetin and its influence on fermentation in ruminants. *Journal of dairy science*, 98(8), 5688-5698.

Beristain B. S. C., Palou E. y López M. A. 2012. Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. No 6 Vol. 2 Pp. 64-78.

Busanello, M., Velho, J. P., Alessio, D. R. M., Haygert-Velho, I. M. P., Tambara, A. A. C., & Neto, A. T. (2017). In situ ruminal degradability of protein feeds with distinct physical forms: a meta-analysis. *South African Journal of Animal Science*, 47(1), 91-95.

Calasso M., Ercolini D., Mancini L., Stellato G., Minervini F., Di Cagno R. and Gobetti M. 2016. Relationships among house, rind and core microbiotas during manufacture of traditional Italian cheeses at the same dairy plant. *Food Microbiology*, No. 54, Pp. 115-126.

Calderón G. R., Guerrero P. S., Ramírez A. L. M., Viveros H. T., y Villabazo García, G. (1999). Contaminación microbiológica del yogur no pasteurizado y su relación con los utensilios y envases, que se utilizan en los puestos fijos y móviles en la zona 2 de Xalapa, Ver.

Calixto O. C., Gómez O. J. Peralta G. C., Sánchez O. Y. Sangabriel J. C. 1999. Regulación Sanitaria Y Calidad Microbiológica del Yogurt no Pasteurizado, que se Expone en la Ciudad de Xalapa (Tesis de licenciatura). Universidad Veracruzana, Unidad de Ciencias de la Salud, Facultad de Bio-análisis. Xalapa, Veracruz, México. Pp. 55-57.

Cámara Nacional de Industriales de la Leche (CANILEC). 2011. El libro blando de la leche y los productos lácteos. Litho Offset Imprenta, 1er Ed. Vol. 1. D.F. México. Pp.

Cámara Nacional de Industriales de la Leche (CANILEC). 2011. El libro blando de la leche y los productos lácteos. Litho Offset Imprenta, 1er Ed. Vol. 1. D.F. México. Pp.

Cámara Nacional de Industriales de la Leche (CANILEC). 2016. Estadísticas. [en línea, <http://www.canilec.org.mx/estadisticas.html>].

Campos R. G. y Hernández E. A. 2008. Relación nutrición fertilidad en bovinos. Un enfoque bioquímico y fisiológico. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.

Carrión G.M., Flores M.R., Caravero D.J.M., Núñez S.M., 2009. Aparición de mastitis bovina en dos establos del Estado de Michoacán, México, sus agentes etiológicos y la resistencia a antimicrobianos. 5to Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología. Morelia, Michoacán. P 144.

Castillo V. V. y Escudero G. A. 2010. Obtención de yogurt enriquecido con mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y chocho (*Lupinus mutabilis*) como aporte a la recuperación y revalorización de los cultivos andinos en la comunidad Santa Isabel (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Chimborazo Facultad de Ingeniería Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Riobamba, Ecuador. Pp. 74-75.

Castillo, C., Pereira, V., Abuelo, Á., & Hernández, J. 2013. Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *The Scientific World Journal*, 2013.

Celis M. y Juárez D. 2009. Seminario de Procesos Fundamentales Físico-Químicos y Microbiológicos Especialización y Maestría en Medio Ambiente. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional. Laboratorio de Química F.R. Bahía Blanca-U.T.N.

Chougui, N., Djerroud, N., Naraoui, F., Hadjal, S., Aliane, K., Zeroual, B., & Larbat, R. (2015). Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food chemistry*, 173, 382-390.

Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., Barras, A., Richard, T., & Larbat, R. (2013). Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food chemistry*, 139(1), 796-803.

CODEX ALIMENTARIU. 2011. Leche y Productos Lácteos. 2ª. Ed. Roma, Italia. Pp.187

Commenil P, Brunet L, Audran JC. 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *Journal of Experimental Botany*;48:1599-1607.

Concha C. B. 2010. Perspectivas de estimulación de la respuesta inmune de la glándula mamaria bovina. APROCAL. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.

Coronado, M. H. E., Castillo, A. M., Cerecedo, M. S., Romo, R. C., & Castro, J. J. (2012). Emergencia y sobrevivencia de gramíneas con diferentes secuencias de humedad-sequía en tres tipos de suelo. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, No. 43, Vol. 1, Pp. 101-115.

Cox S. D., J. E. Gustafson, C. M. Mann, J. L. Markham, Y. C. Liew, R. P. T. 2012. Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT e Food Science and Technology*, No. 47. Pp. 167-174.

Cruz C. A y Lizarazo C. C. S. 2015. Efectos de la inclusión de dietas ricas en flavonoides en la calidad de la leche bovina. *Rev Med Vet*. No 31. Pp. 137-150.

Cui K., Guo X. D., Tu Y., Zhang N. F., Ma T. and Diao Q. Y. 2015. Effect of dietary supplementation of rutin on lactation performance, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, No. 99, Vol. 6, Pp. 1065-1073.

Da Silva D. F., Matumoto P. T., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2015). Effect of commercial grape extracts on the cheese-making properties of milk. *Journal of dairy science*, 98(3), 1552-1562.

Da Silva F. I., De Souza J. V., Ramos C. L., Da Costa, M. M., Schwan R. F. and Dias F. S. 2016. Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. *Food Microbiology*, No. 60, Pp. 29-38.

Da Silva, D. F., Matumoto-Pintro, P. T., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2015). Effect of commercial grape extracts on the cheese-making properties of milk. *Journal of dairy science*, 98(3), 1552-1562. }

David, J. R. D., Steenson, L. R., and Davidson, P. M. 2013. Expectations and applications of natural antimicrobials to foods: a guidance document for users, suppliers, research and development and regulatory agencies. *Food Protection Trends*. No. 33. Pp. 238-247.

Davidson, P. M., Critzer, F. J. and Taylor T. M. 2013. Naturally occurring antimicrobials for minimally processed foods. *Annual Review of Food Science and Technology*. No. 4. Pp. 163-190

De Andrade F.M., Bispo, S.V., Rocha, F.R.R., Urbano, S.A., y Costa, C.T.F. 2012. The use of cactus as forage for dairy cows in semi-arid regions of Brazil. *Organic Farming and Food Production*. 169- 189.

De Figueiredo M. C., De Melo A. A, Ferreira M. A., De Souza C. J., Souza J. R., Dos Santos S. T. & Da Silva, E. C. 2014. Replacement of wheat bran with spineless cactus (*Opuntia ficus indica* Mill cv Gigante) and urea in the diets of Holstein x Gyr heifers. *Tropical animal health and production*, No. 46, Vol. 7, Pp. 1149-1154.

Delgado R. C y Maurtua T. D. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* sp. *Rev Panam Salud Publica* Vol. 14, No. 3. P. 159.

Delgado S. L. A. 2016. Efecto de ácidos fenólicos y flavonoides del nopal (*Opuntia ficus-indica* y *O. Atropes*) sobre la microbiología de leche proveniente de sistemas de producción a escala familiar (Tesis de maestría). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Pp. 40- 88.

Deysi, G. L. (2016). Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(1).

Díaz F. O., León L., y Mejía L. F. 2016. Aseguramiento de la inocuidad de leche cruda y pasteurizada en el departamento de Caldas. *Agronomía Colombiana*, 34(1Supl), S984-S989. Doi: 10.15446/agron.colomb.v34n1supl.58203.

Dieho, K., Dijkstra, J., Klop, G., Schonewille, J. T., & Bannink, A. (2017). The effect of supplemental concentrate fed during the dry period on morphological and functional aspects of rumen adaptation in dairy cattle during the dry period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 343-356.

Domínguez L. A., Villanueva C. A., Arriaga J. C. M., y Espinoza O. A. 2011. Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del Centro de México. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, Vol. 19, No. 38, Pp. 165-193.

Duce J. A., Bordenave S. A., Ybarra L. R. 2012. Investigación sobre la presencia de *Bacillus cereus* en Yerba Mate elaborada. *Rev. Ciencia y Tecnología*. Núm. 17 Vol. 012. Pp. 5-8.

Duran Q. O., Romero B. O., García G. P., Brenes B. y Garrido F. A. 1997. Bacterias del ácido láctico en la fermentación de aceitunas de mesa. *Rev. Grasas y Aceites*. Vol. 48. No. 5. Pp. 297-311 }

Echeverría P. M. 2006. Evaluación Y Mejoramiento De La Calidad Microbiológica De Yogur Artesanal Comercializado En La Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia De La Universidad De San Carlos De Guatemala (Tesis De Licenciatura.) Universidad De San Carlos De Guatemala. Guatemala.

Elghandour, M. M., Salem, A. Z., Castañeda, J. S. M., Camacho, L. M., Kholif, A. E., & Chagoyán, J. C. V. (2015). Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(3), 526-533.

Escamilla J. C., Cuevas M. E. y Guevara F. G. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*. No 52. Vol. 2. Pp. 5- 73.

Espinosa O. V., Rivera H. G y García H. L. 2008. Los canales y márgenes de comercialización de la leche cruda producida en sistema familiar (estudio de caso). *Revista Veterinaria México* Vol. 39 No. 1. P. 2.

Esteban C. M., Martínez C. E., Sánchez V. E., Espinoza O. A. 2012. Producción Artesanal: Los Quesos Mexicanos Situación del Mercado de Quesos en México. 13er. Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y Ambiental de la Producción Pecuaria. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Puebla, México.

Evrendilek, G. A., & Balasubramaniam, V. M. (2011). Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in yogurt drink applying combination of high pressure processing and mint essential oils. *Food Control*, 22(8), 1435-1441.

FAO, FIDA y PMA. 2013. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2013. Las múltiples dimensiones de la seguridad alimentaria. Roma, FAO. E-ISBN 978-92-5-307917-9.

Flores M. R., Carrión G.M., Nuñez S. M. y Basrreera C.H., 2009. Calidad sanitaria del proceso de extracción de la leche cruda entera del municipio de Sahuayo, Michoacán. 5to Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología. Morelia, Michoacán. P 323.

Florio L. P., Pineda M., Polanco M., Mendoza J., Díaz N. y Florio L. G. 2015. estrategias de prevención y control de mastitis como apoyo para preservar un rebaño bovino en los llanos centrales, Venezuela. *Revista AICA* No 6. Pp. 598-616.

Fontán M. C. G., I. Franco B., Prieto M. E. Tornadijo, and J. Carballo. 2001. Microbiological changes in 'San Simón' cheese throughout ripening and its relationship with physico-chemical parameters. *Food Microbiol*. No. 18, Pp. 25-33.

Fontecha, J., Recio, I., & Pilosof, A. M. R. (2009). Funcionalidad de los componentes lácteos. Juárez M, Fontecha J. España: CEE Limencop, SL, 251-273.

Fuentes C.F., Ruiz R. R., Sánchez G J., Ávila R. D. y Escutia S. J. 2013. Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación agricultura, sociedad y desarrollo (ASyD), VOL. 10, NÚM. 4. Pp. 419-420.

Gad, A. S., & EL- SALAM, M. H. A. (2010). The antioxidant properties of skim milk supplemented with rosemary and green tea extracts in response to pasteurisation, homogenisation and the addition of salts. *International journal of dairy technology*, 63(3), 349-355.

Gao, X., & Oba, M. (2016). Characteristics of dairy cows with a greater or lower risk of subacute ruminal acidosis: Volatile fatty acid absorption, rumen digestion, and expression of genes in rumen epithelial cells. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8733-8745.

Garcés R., Brito C., Cabello, M., Orellana A., Brandl. E. López J.L. 2005. Determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda y del queso artesanal elaborado en una cooperativa de campesinas en una zona del centro-sur de Chile. *Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos* 366: 62-69.

García G. R. A. 2013. Efecto del nopal (*Opuntia ficus-indica*) como complemento de la dieta de vacas Holstein durante la época de estiaje sobre la cinética de fermentación ruminal, producción y calidad de la leche cruda.). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Michoacán, México. Pp.

García R. A. G., Roman B. M. R., Val A. D., Sánchez, R. E. P. y Ortiz R. R. 2013. Caracterización y modelación de la curva de lactancia de vacas holstein complementadas con nopal (*Opuntia ficus-indica*) durante la época seca. *Revista Científica*, No. 23, Vol. 5. Pp.1-5.

García, H.L.A, Aguilar, V.A, Luévano, G.A. y Cabral, M.A. 2005. La globalización productiva y comercial de la leche y sus derivados. Articulación de la ganadería intensiva lechera de la Comarca Lagunera. Plaza y Valdés editores, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, México, 278 pp

Gia G. M. V. 2016. Incidencia de los microorganismos mesófilas en las Enfermedades transmitidas por alimentos que se Presentan en los grupos vulnerables. Unidad académica de ciencias químicas y de la Salud. Facultad de bioquímica y farmacia. MACHALA

Gibert, C. (2016). Food Poisoning: Epidemiology. *Encyclopedia of Food and Health*, 67–71.

Giner R. A., Fierro L C., y Negrete L F. 2011. Análisis de la Problemática de la Sequía 2011-2012 y sus Efectos en la Ganadería y Agricultura de Temporal. México: Comisión Nacional de Zonas Áridas (CONAZA), SAGARPA. Pp. 11. [en línea] <http://www.conasa.gob.mx/boletin5.pdf>

Giovanna, T. G. (2016). Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (celulasa) para estimar la digestibilidad de forrajes en ovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 20(1).

Gitz V. 2013. Inversión en la agricultura a pequeña escala en favor de la seguridad alimentaria. HLPE. Informe del Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial, Roma.

Glazebrook, J. 2005. Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic And Necrotrophic Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 43(1), 205-227.

Gohlke A, Ingelmann CJ, Nümborg G, Starje A, Wolfram S, Metges C. C. 2013. Bioavailability of quercetin from its aglycone and its glucorhamnoside rutin in lactating dairy cows after intraduodenal administration. *J Dairy Sci.* No. 96. Vol. 4. Pp. 03-13.

Gómez B. J. P. 2016. Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la Ciudad de Milagro, Octubre–Noviembre 2013. *Cumbres*, 2(2).

Goncalvez de Oliveira E., Paz, N. F., Budde, E. N., Cravero, A. P., y Ramón A. N. 2012. Utilización de inulina en la formulación de yogur descremado de leche de cabra. *Diaeta*, No. 30, Vol. 140, Pp. 25-30.

González M. L. and Franco F. M. J. 2015. Microbiological profile of aro cheese consumed in Oaxaca, Mexico. *Brazilian Journal of Food Technology*, No. 18, Vol. 3, Pp. 250-257.

González M. M. T. 2013. Evaluación del desarrollo de aminas biógenas en queso chihuahua durante la vida de anaquel (tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona. Pp. 7-11.

Gruenwald, J. 2009. Novel botanical ingredients for beverages. *Clinics in Dermatology*, 27, Pp. 210-216.

Guevara A.J.C., 2009. Efectos biofuncionales del Nopal y la Tuna. *Tecnología de Producción. Revista Horticultura* 71:18-19 [en línea <http://www.horticom.com/revistasonline/horticultura/rhi71/rhi71.pdf>]

Guevara F.T., Jiménez I. H., Reyes E. M., Mortensen A. G., Laursen B. B., Lin L.W., De León R. A., Fomsgaard I.S. and Barba de la Rosa A. P. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*. No 23. Pp. 525-532.

Gundogan, N., & Avci, E. (2014). Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 67(4), 562-569.

Guo L., Pan F. Fei, Maosheng Yong. Quercetina mecanismo de acción farmacológico y su aplicación en la producción de las vacas lecheras [J] *Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29 (1):. 42-49

GUO X., DIAOQ W., TUYan1, DENGKai dong3, WANGXin-jian2, FUTong2 and YANGui-long4 The Effect of Administration of Rutin on Plasma Levels of Estrogen, Prolactin, Growth Hormone and Gene Expression of Their Receptors in Mammary Glands in Ovariectomized Rats. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(10), Pp.1700-1706

Gutiérrez O. Y., Hernández L. C., L. E. Pérez C. F., Bon R. y Valdivia F. A. 2007. Identificación y caracterización fisicoquímica y nutrimental de quesos asaderos análogos producidos en Jesús María y Pabellón de Arteaga, Aguascalientes. *Rev Salud Pública & Nut.* Núm. 12 Pp. 518-525

Gutiérrez, L. Z., y Zuñiga, J. J. R. 2016. Conceptos sobre inocuidad en la producción primaria de la leche. *Revista Ciencias Veterinarias*, 33(2), 51-66.

Guyader, J., Eugène, M., Doreau, M., Morgavi, D. P., Gérard, C., & Martin, C. (2017). Tea saponin reduced methanogenesis in vitro but increased methane yield in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 1845-1855.

Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429.

Halmi S., Benlakssira B., Bechtarzi K., Djerrou Z., Djeaalab H., Riachi F. and Pacha Y. H. 2012. Antihyperglycemic actividad de tuna (*Opuntia ficus-indica*) extracto acuoso. *Intl J Med Arom Plantas* No. 2, Vol. 3, Pp. 540 -546.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. No 86 Vol. 6 Pp. 985.

Heredía M. M. 2006. Aplicación de antibiótico (bactericida) para eliminar bacterias del grupo *Coli aerogenes* en la elaboración de queso andino (tesis de licenciatura). Riobamba, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Pecuarias Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias.

Hernández M. P., Estrada F. J. G., Avilés N. F. Yong A. G., López G. F., Solís M. A. D. y Castelán O. O. A. 2013. Tipificación de los sistemas campesinos de producción de leche del sur del estado de México. *Universidad y ciencia*, No. 29 Vol. 1, Pp. 19-31.

Hernández, M. y Vélez R. J. F. 2014. Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. U. d. Américas, Programa de Maestría en Ciencia de Alimentos, 13-22.

Herrera-Torres, E., Murillo, M., Berumen, L., Páez, J., & Villarreal, G. (2014). Efecto de *Sacharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces marxianus* durante el tiempo de fermentación en la calidad nutritiva del nopal forrajero. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(1), 33-40.

Hess H.D. M. Kreuzer T.E. Díaz C.E. Lascano J.E. Carulla, Carla R. 2003. Soliva a, Andrea Machmüller a Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*

Hidalgo F., Francisco, ed. *Agriculturas campesinas en Latinoamérica: propuestas y desafíos* / Francisco Hidalgo F., François Houtart, Pilar Lizárraga A., editores —1.ª ed.—. Quito: Editorial IAEN, 2014

Hinojosa, A. M. (2013). Digestibilidad aparente de rastrojo de maíz y soca de sorgo en cabras en crecimiento suplementadas con pollinaza-melaza. *Agrofaz*, 13(1).

Hoikkala, A. 2016. Determination and identification of polyphenols and their metabolites in biological matrices (Tesis de Doctorado). Department of Organic Chemistry University of Helsinki Finland. Pp. 24-44. ISBN 978-951-51-2562-0.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Coordinadora Nacional de las Fundaciones Produce (COFUPRO). 2010. Programa de documentación de casos de éxito. Fundación Produce Michoacán A. C. México.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 1999. *La Ganadería Familiar en México*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Colegio de Postgraduados, México

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2012. *La Ganadería Familiar en México*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Colegio de Postgraduados, México

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2010. Anuario estadístico del estado de Michoacán. 127-142

Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). 2013. *Elaboración Artesanal de Yogur*. Gerencia de Asistencia Tecnológica para la Demanda Social. Buenos Aires, Argentina.

Jayanegara, A., Wina, E., & Takahashi, J. (2014). Meta-analysis on methane mitigating properties of saponin-rich sources in the rumen: influence of addition levels and plant sources. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(10), 1426-1435.

Jiménez V. R., González C. G., Magaña C. A. y Mosqueda J. H. 2008. Calidad microbiológica de yogur elaborado con sustratos agroindustriales. *Semana de Divulgación y Video Científico 2008*. Pp. 852-857.

Josipović, R., Knežević, Z. M., Frece, J., Markov, K., Kazazić, S., & Mrvčić, J. (2015). Improved Properties and Microbiological Safety of Novel Cottage Cheese Containing Spices. *Food technology and biotechnology*, 53(4), 454.

Joven, J., Espinel, E., Rull, A., Aragonès, G., Rodríguez-Gallego, E., Camps, J., & Segura-Carretero, A. (2012). Plant-derived polyphenols regulate expression of miRNA paralogs miR-103/107 and miR-122 and prevent diet-induced fatty liver disease in hyperlipidemic mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(7), 894-899.

Juárez A. M., Reyes S. F., Sinagawa G. R. y Torres C. J. 2014. El nopal como fuente de compuestos de interés biotecnológico. XIII Simposium-Taller Nacional y VI Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal y Maguey". Campus de Ciencias Agropecuarias, UANL. Escobedo, Nuevo León, México

Jung, J. E., Yoon, H. J., Yu, H. S., Lee, N. K., Jee, H. S., & Paik, H. D. (2015). Short communication: Physicochemical and antioxidant properties of milk supplemented with red ginseng extract. *Journal of dairy science*, 98(1), 95-99.

Júnior, G. B., Da Silva J. B. A. Morais J. H. G. & De Lima, R. N. (2014). Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. *Acta Veterinaria Brasilica*, No. 8, Vol. 2, Pp. 78-85.

Jusidman R. C. 2014. El derecho a la alimentación como derecho humano. *Salud pública de México*. No. 56, Pp. 86-91.

Ke, W. C., Yang, F. Y., Undersander, D. J., & Guo, X. S. (2015). Fermentation characteristics, aerobic stability, proteolysis and lipid composition of alfalfa silage ensiled with apple or grape pomace. *Animal Feed Science and Technology*, 202, 12-19.

Keenan D. F., Brunton N. P. Mitchell M., Gormley R., and Butler, F. 2012. Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis. *Food Research International*, No 45. Vol. 1. Pp. 17-25.

Kim I. S., Yang M., Lee O. H., and Kang S. N. 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *LWT-Food Science and Technology*. No. 44. Vol. 5. Pp. 1328 - 1332.

Kim I. S., Yang M., Lee O. H., and Kang S. N. 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *LWT-Food Science and Technology*. No. 44. Vol. 5. Pp. 1328 - 1332.

Kim, H.S., Kwon, N.H., Kim, J.Y., Lim, J.Y., Bae, W.K., Mim, J.M., Hoh, K.M., Hur, J., Jung, W.K., Park, J.E., Lee, J.E., Ra, J.C. and Park, Y.H. (2002). Antimicrobial activity of natural product made by *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* against *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 *Journal of Food Hygienic Safety* 17 71-78.

Knoche, M.; Beyer, M.; Peschel, S.; Oparlakov, B.; Bukovac, M. J.; 2004. Changes in strain and deposition of cuticle in developing sweet cherry fruit. *Physiol. Plant.* 120, 667-677.

Kolattukudy PE .1996. Biosynthetic pathways of cutin and waxes, and their sensitivity to environmental stresses. In G Kerstiens, ed, *Plant Cuticles*. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK, pp 83–108

Lambert R. J. W., P. N. Skandamis P. Coote, and G. J. E. Nychas. 2001. A

Lara, J. D., Bello, G., Terminiello, L., Lemoine, M. L., Darré, M., Ortiz Araque, L. C. y Vicente, A. R. 2014. Tecnología de la elaboración de quesos: experiencias de investigación aplicada y capacitación para estudiantes, técnicos, pequeños productores y la comunidad en general. Universidad Nacional de La Plata. (LIPA) Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales Facultad de Ciencias agrarias y Forestales

Lee, Y. S., & Rho, J. O. (2012). Quality characteristics of kimchi with added Backryeoncho (*Opuntia ficus-indica* var. saboten) extract and its acceptability by middle school students. *Korean Journal of Human Ecology*, 21(6), 1211-1222.

Leiber, F., Kunz, C., & Kreuzer, M. (2012). Influence of different morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its major secondary metabolite rutin on rumen fermentation in vitro. *Czech Journal of Animal Science*, 57(1), 10-18.

Leite H. F., Pagnocca F., Silva F. S. y Vinturim T. 1997. Estudo Higiénico-Sanitário de Diferentes Tipos de Iogurte. B. Ceppa, Curitiba, Vol. 15, No. 2, Pp. 187-196.

linea]: www.cofocalec.org.mx/internaproductos.php

Littell, C.R., Milliken, A.G., Stroup, W.W., Wolfinger, D.R. y Schabenberger, O. 2006. SAS® for Mixed Models. Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 733-735.

Littell, C.R., Stroup, W.W., Freund, J.R. 2002. SAS® for Linear Models, Fourth Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 191-194.

Liu, Y., Peñuelas-Rivas, C. G., Tenorio-Borroto, E., Rivas-Guevara, M., Buendía-Rodríguez, G., Tan, Z., & González-Díaz, H. (2016). Chemometric approach to fatty acid metabolism-distribution networks and methane production in ruminal microbiome. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 151, 1-8.

Livrea, M.A., y Tesoriere, L. 2006. Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 8, 73-90.

López D. M. A. 2011. Evaluación de la calidad del yogurt elaborado artesanalmente en el Municipio de Ixhuacán de los Reyes, Veracruz, México

López R. P., Pichardo O. E., Avila N. A., Vázquez M. N., Tovar A. R., Pedraza C. J. & Torres N. 2014. The effect of nopal (*Opuntia ficus indica*) on postprandial blood glucose, incretins, and antioxidant activity in Mexican patients with type 2 diabetes after consumption of two different composition breakfasts. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, No. 114, Vol. 11, Pp. 1811-1818.

Lou Z., Wang H., Rao S., Sun J., Ma C and Li J.. 2012. p-Coumaric acid kills bacteria *Microbiol.* No. 26 Pp. 355–358.

MAGALHÃES, M.C. DOS S.; VÉRAS, A.S.C.; FERREIRA, M.DE A. 2004. Inclusão de cama de frango em dietas à base de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) para vacas mestiças em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. No. 33, Vol. 6, Pp. 1897-1908

Magaña D., López V., Lara J. y Tejada F. 2016. La Transmisión de Precios Internacionales de Referencia de Alimentos al Mercado de México: Los Efectos de El Niño en 2016. *Compendium: Cuadernos de Economía y Administración*, Vol. 3 No. 5, Pp.

Maldonado G. R., Rodríguez M., Llanca C. L., Román M. Y., Isturiz V. R., Giménez A. O., Gámez M. L. y Meléndez B. 2011. Esquema tecnológico general y caracterización del queso hilado tipo telita. *Agronomía Tropical*. Vol. 61. Pp.177-188

Maldonado L. E. 2013. Determinación del Efecto de *Lactobacillus acidophilus* con Potencial Prebiótico Sobre la Bacteria Patogena: *Salmonella typhimurium* y su Tiempo de Sobrevivencia a los Ácidos Biliares y Ph Acido del Estómago (Tesis de licenciatura). Universidad de el Salvador, Facultad de Química Y Farmacia. San Salvador, El Salvador

Maldonado R. y Llanca L. 2007. Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* en queso de mano. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* Vol. 33 Laboratorio de Bioquímica de Alimentos del Instituto de Química y Tecnología, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay, estado Aragua, Venezuela. Pp. 147- 163.

Malek M., Akter J., Ahmed T., & Uddin M. A. 2015. Isolation and quantification of microorganisms from some common milk products within Dhaka city, Bangladesh. *Stamford Journal of Microbiology*, No. 5, Vol. 1, Pp. 13-17.

Medeiros Da S., J. G., da Costa Lima, G. F. & Rêgo M. M. T. 2014. Cactáceas Nativas na Alimentação de Ruminantes. *Revista Científica de Produção Animal*, No. 15, Vol. 1, Pp. 53-62.

Medina, T.L., Vernon, C.E. J., Gallegos, I.J. A., Rocha, G.N. E., Herrera, V.E. E., Calderas, F., y Jiménez, A.R. 2011. Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(6), 1001-1005.

Melgar, L. M. 2009. Desarrollo de un método quimiométrico acoplado FTIR- HATR para la determinación de las principales propiedades químicas del queso panela. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias de los Alimentos. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F

Méndez L. F. 2014. Utilización de opuntias en la alimentación de animales domésticos (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. Pp. 3-6.

Méndez L. M., Rodríguez R. E. J., and Sánchez Z. L. M. 2015. Brucelosis, una zoonosis presente en la población: estudio de series de tiempo en México. *Salud Pública de México*, Vol. 57, No. 6, Pp. 519-527.

Mendoza O. J. L. 2015. Producción de gas in vitro y modificación cualitativa de las poblaciones bacterianas del rumen por efecto del nopal (*Opuntia ficus-indica*) como complemento de la dieta de vacas Holstein (tesis de maestría). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Michoacán, México. Pp.

MENDOZA- YEPES, M. J., SANCHEZ- HIDALGO, L. E., MAERTENS, G., & MARIN- INIESTA, F. U. L. G. E. N. C. I. O. (1997). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by a plant essential oil (DMC) in Spanish soft cheese. *Journal of Food Safety*, 17(1), 47-55.

Moctezuma L. G., Espinoza A. J. J., Espinosa G. J. A., Jolalpa B. J. L. and Vélez I. A. 2014. National and international context variables in the dairy Mexican production systems. *AGROFAZ*. Vol. 14, No. 1, Pp. 15-30.

Mokbel M.S. and Sukanuma T. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts from pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) fruit albedo tissues. *European Food Research and Technology* 224:39-47

Moreno G. A., Herrera A. G., Carrión G. M., Álvarez B. D, Pérez S. R. y Ortiz R. R. 2012. Caracterización y modelación esquemática de un sistema familiar de bovinos productores de leche en la Ciénega de Chapala, México. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. Vol. 20, Núm. 3-4. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán, Instituto Politécnico Nacional. Jiquilpan, Michoacán, México Pp. 85-94.

Mostafa E. K., El-Kharrassi Y., Badreddine A., Andreoletti P., Vamecq J., El-Kebbaj M. S., Latruffe N., Lizard G., Nasser B. and Cherkaoui M. 2014. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Rev. Molecules*. No. 19. Pp. 14879-14901.

Moussa-Ayoub, T. E., Jaeger, H., Youssef, K., Knorr, D., El-Samahy, S., Kroh, L. W., and Rohn, S. 2016. Technological characteristics and selected bioactive compounds of

Opuntia dillenii cactus fruit juice following the impact of pulsed electric field pre-treatment. Food chemistry, No. 210, Pp. 249-261.

Na-Kyoung L., Byeong Su Jung , Da Som Na , Hwan Hee Yu , Joo-Sung Kim , Hyun Dong Paik. 2016. The impact of the antimicrobial effect of extracts of brown inner cover against *Campylobacter jejuni* in chicken meat, LWT. Food Science and tecnología, No. 65, P 746

Navas B. y Arciniegas P. 2008. Estudio del proceso de elaboración del yogurt batido con extracto natural de albahaca (*Ocimum basilicum* L) (tesis de licenciatura). Universidad industrial de Santander. Instituto de educación a distancia. Producción agroindustrial. Bucaramanga, Colombia.

Negi P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology. No 156. Pp. 7 - 17.

Nelson G.C., Rosegrant M.W., Koo J., Robertson R., Sulser T., Zhu T., Ringler C., Msang, S., Palazzo A., Batka M., Magalhaes M., Valmonte S. R., Ewing M. y Lee D. 2009. Climate Change Impact on Agriculture and Costs of Adaptation. International Food Policy Research Institute (IFPRI). Food policy report doi: 10.2499/0896295354

Nelson JM, Chiller TM, Powers JH and Angulo FJ, 2007. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. Clinical Infectious Diseases, No. 44, Pp. 977-980.

Niyonsaba, F and Ogawa, H. 2005. Protective roles of the skin against infection: Implication of naturally occurring human antimicrobial agents b-defensins, cathelicidin LL-37 and lysozyme. J. Dermatol. Sci. , 40: 157-168.

NMX-F-700-COFOCALEC, 2012. Sistema producto leche - alimento lácteo -. Leche cruda de vaca - Especificaciones físico-químicas, sanitarias y métodos de prueba.

NMX-F-700-COFOCALEC, 2012. Sistema producto leche - alimento lácteo -. Leche cruda de vaca - Especificaciones físico-químicas, sanitarias y métodos de prueba.

NMX-F-700-COFOCALEC-2004. Counting of somatic cells by flowcy to metry. [en NMX-FF-068-SCFI-2006 HORTALIZA FRESCA - NOPAL VERDURA (*Opuntia* spp.)

NOM-093-SSA1-1994. Buenas prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos

NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.

NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba

NOM-243-SSA1-2005. Productos y servicios. Leche, formula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

NOM-251-SSA1-2009. NORMA Oficial Mexicana, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.

NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba

Ochoa P. I. 2013. Caracterización de los procesadores y análisis de la calidad de la leche y el queso del municipio de Técpatan, Chiapas (Tesis de Licenciatura). Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Universidad Autónoma De Chiapas. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. P. 1.

OMS. (Diciembre de 2015). Inocuidad de los alimentos. Nota descriptiva (399).

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2005. Beneficios y riesgos potenciales del sistema de la lactoperoxidasa en la conservación de la leche cruda. Informe de la reunión técnica de la FAO/OMS. Roma, Italia. Pp. 5 – 12.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2015. Panorama de la Inseguridad Alimentaria en América Latina y el Caribe. La región alcanza las metas internacionales del hambre. Roma, Italia. Pp. 2 – 60. ISBN 978-92-5-308782-2.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2014. Agricultura Familiar en América Latina y el Caribe: Recomendaciones de Política. Santiago, Chile

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2013a. Inocuidad de la quesería artesanal mexicana. Agro noticias de las América latina y caribe. EN LINEA. <http://www.fao.org/agronoticias/agro-noticias/detalle/es/c/203136/> [Citada el 15/06/2015]

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA) y Programa Mundial de Alimentos (PMA). 2013b. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2013. Las múltiples dimensiones de la seguridad alimentaria. Roma, FAO.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2009. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Roma, Italia.

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2013. Perspectivas Agrícolas 2013-2022, Texoco, Estado de México, Universidad Autónoma de Chapingo. doi: 10.1787/agr_outlook-2013-es.

Ortiz R. R., Aguilar B. J., Valdez A. J., Val A. D., Esquivel C. J., Martínez F. H. and Pérez S. R. 2016. Effect of adding mucilage from *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia atropes* to raw milk on mesophilic aerobic bacteria and total coliforms. *Revista Electrónica Nova Scientia*, Vol. 8, N° 16, Pp. 106-122.

Ortiz R. R., Valdez A. J., Chávez M., Val A. D. & Sánchez, R. E. 2013. Effect of added nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) on microbial content in raw milk. *African Journal of Microbiology Research*, No. 7, Vol. 28, Pp. 3675-3680.

Ortiz R. R., Valdez A. J., Garcidueñas P. R., Chávez M. M., Val A. D., Hernandez V. E. and Pérez S. R. 2013. Effect of added nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) on microbial content in raw milk. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7 No. 28, Pp. 3675-3680.

Ortiz R. R., Valdez, A.J.J., Gómez, R.B., López, M.J., Chávez, M.M.P., García, S.P.A., Pérez, S.R.E. 2012. Yield and microbiological quality of raw milk and fresh cheese obtained from Holstein cows receiving a diet supplemented with nopal (*Opuntia ficus-indica*). *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(2).

Ortiz R. R., Valdez, A.J.J., Gómez, R.B., López, M.J., Chávez, M.M.P., García, S.P.A., Pérez, S.R.E. 2012. Yield and microbiological quality of raw milk and fresh cheese obtained from Holstein cows receiving a diet supplemented with nopal (*Opuntia ficus-indica*). African Journal of Microbiology Research Vol. 6. No 2.

Ortiz R.R., García G.R.A., Valdez A.J.J., Lara B.N. Pérez S.R.E. 2011. Estudio exploratorio del efecto de la adición de nopal (*Opuntia ficus-indica*) a la leche cruda sobre las cuentas bacterianas: *mesófilas* aerobias y *coliformes totales*. Reuniones Nacionales de Investigación e Inocuidad Pecuaria, Agrícola, Forestal y Acuícola Pesquera. Leon Guanajuato.

Pal, K., Patra, A. K., Sahoo, A., & Soren, N. M. (2015). Effects of nitrate and fumarate in tree leaves-based diets on nutrient utilization, rumen fermentation, microbial protein supply and blood profiles in sheep. *Livestock Science*, 172, 5-15.

Pangallo D., Šaková N., Koreňová J., Puškárová A., Kraková L., Valík L., and Kuchta T. 2014. Microbial diversity and dynamics during the production of May bryndza cheese. *International journal of food microbiology*, No. 170, Pp. 38-43.

Pereyra, E. A., Dallard, B. E., & Calvino, L. F. (2014). Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por *Staphylococcus aureus* en bovinos. *Revista argentina de microbiología*, 46(4), 363-375.

Poméon T., y Escoto I. C. 2010. El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local (No. Folleto 841 v. 89).

Poméon, T. y F. Cervantes (2010) "El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local" en Reporte de Investigación. (89): 1-47.

Prado F. C., Parada J. L., Pandey A. and Soccol C. R. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, No. 41. Vol. 2. Pp. 111-123.

Pratap, R., & Ram, V. J. (2014). Natural and synthetic chromenes, fused chromenes, and versatility of dihydrobenzo [h] chromenes in organic synthesis. *Chemical reviews*, 114(20), 10476-10526.

PROFECO. 2006. Yogurt y otros lácteos fermentados. *Revista del consumidor*. Laboratorio Profeco. México. Pp. 26 – 36.

Qiao, S., Luo, P., Zhao, Y., Zhang, XC, y Huang, Y. 2014. Base estructural para la inserción lipopolisacárido en la membrana externa bacteriana. *Naturaleza*, 511 (7507), 108-111.

Quintero S. B. 2010. Reseña del libro: Los quesos mexicanos genuinos: Patrimonio cultural que debe rescatarse. *Culinaria Revista Virtual Gastronómica*. Núm. 6. UAEM. Pp. 53-59

Raj V. 2015. Plant *Opuntia dillenii*: A Review on Its Traditional Uses, Phytochemical and Pharmacological Properties. *EC Pharmaceutical Science*, No. 1, Pp. 29-43.

Ramírez R. J., Rosas U. P., Velázquez G. M., Ulloa J., Arce R. F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, No. 7. Centro de Tecnología de Alimentos, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nayarit. Pp. 1-16.

Ramírez-Restrepo, C. A., Tan, C., O'Neill, C. J., López-Villalobos, N., Padmanabha, J., Wang, J., & McSweeney, C. S. (2016). Methane production, fermentation characteristics, and microbial profiles in the rumen of tropical cattle fed tea seed saponin supplementation. *Animal Feed Science and Technology*, 216, 58-67

Revels, H.M., Flores, O. M., Blanco, M. F. y Valdez, C. R. 2010. El Manejo Del Nopal Forrajero En La Producción Del Ganado Bovino. VIII Symposium- Taller Nacional y 1er

Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal". RESPYN Revista Salud Pública y Nutrición. Edición Especial No. 5.

Reyes J. J., García C. M. y Hernández E. L. 2011. Aplicación de los conceptos de inocuidad en la producción de leche en Sinaloa. Resultados de proyecto. Fundación Produce Sinaloa, A.C. Pp. 7-8.

Reyes J. J., García C. M. y Hernández E. L. 2011. Aplicación de los conceptos de inocuidad en la producción de leche en Sinaloa. Resultados de proyecto. Fundación Produce Sinaloa, A.C. Pp. 7-8.

Reyes J. J., García C. M. y Hernández E. L. 2011. Aplicación de los conceptos de inocuidad en la producción de leche en Sinaloa. Resultados de proyecto. Fundación Produce Sinaloa, A.C. Pp. 7-8.

Ribeiro, E. M, Silva, N. H, Lima Filho, J. L., Brito, J. Z., y Silva, P. C. 2010. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according 1 to age and season. Food Science and Technology (Campinas), No. 30, Vol. 4, Pp. 933-939.

Rodríguez S. E. N. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra Ximhai. No 1. Vol. 7. Pp. 153-163.

Román S., Guerrero L. y Pacheco L. 2003. Evaluación de la calidad físico-químico, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII, N° 2, 146-152. Laboratorio de Productos Lácteos, Núcleo Universitario "Rafael Rangel" (NURR), Universidad de los Andes. Trujillo, Venezuela. Pp. 146-147.

Ruíz, L. D., Valenzuela, R. B., Ibarra, E. L. E., Bañuelos, H. G., Arellano, F. J. C., & Reyes, A. M. (2016). Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 2099-2103.

Salcedo R. C., Font M. A. y Martínez R. M. 1988. Yogur: elaboración y valor nutritivo. Publicaciones: serie <<Divulgación>>, Núm. 10. Fundación Española de la Nutrición. Unidad de nutrición y bromatología, departamento de ciencias fisiológicas humanas y de la nutrición. Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Madrid, España. Pp. 33-37.

Salem, A. Z., Kholif, A. E., Elghandour, M. M., Buendía, G., Mariezcurrena, M. D., Hernandez, S. R., & Camacho, L. M. (2014). Influence of oral administration of *Salix babylonica* extract on milk production and composition in dairy cows. Italian Journal of Animal Science, 13(1), 2978.

Salvatierra M., Molina A, Gamboa M. y Arias M. 2004. Evaluación del efecto de cultivos probióticos presentes en yogurt sobre *Staphylococcus aureus* y la producción de termonucleasa. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. P. 4

Sánchez E, Heredia N, García S. 2010. Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. Applied and Environmental Microbiology 76(20), Pp. 6888-6894.

Sánchez G. E. 2012. Efecto de compuestos fitoquímicos sobre microorganismos de importancia en alimentos (tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. Nuevo León, México. Pp.

Sánchez J. V., Colín N. V., López G. F., Avilés N. F., Castelán O. A. and Estrada F. J. G. 2016. Diagnostic of health quality in artisanal cheese dairies of Zacazonapan municipality, State of Mexico. salud pública de méxico, No. 58, Vol. 4, Pp. 461-467.

Sánchez, R.G. y Sánchez A. V. 2005. La ganadería bovina del estado de Michoacán. Fundación PRODUCE Michoacán, A.C. primera edición. Pp. 1, 43,69-75

Schedin P, Mitrenga T, Kaeck M. 2000. Estrous cycle regulation of mammary epithelial cell proliferation, differentiation, and death in the Sprague-Dawley rat: a model for investigating the role of estrous cycling in mammary carcinogenesis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 211-225.

Schreiber, L. 2005. Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. *Annals Bot.* 95: 1069-1073.

Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2016. La comarca lagunera, primer lugar en producción de leche, carne de ave y forrajes: SAGARPA. [online] Available at: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/regionlagunera/boletines/2016/septiembre/Documents/2016B071.PDF> [Accessed 7 Mar. 2017].

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación (SAGARPA). 2007. Sistema de producción de leche en granjas bovinas familiares. Ficha técnica. Subsecretaría de Desarrollo Rural Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. [en línea <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Sistema%20de%20producci%C3%B3n%20de%20leche%20en%20granjas%20bovinas%20familiares.pdf>].

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación (SAGARPA). 2007. Sistema de producción de leche en granjas bovinas familiares. Ficha técnica. Subsecretaría de Desarrollo Rural Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. [en línea <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Sistema%20de%20producci%C3%B3n%20de%20leche%20en%20granjas%20bovinas%20familiares.pdf>]

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación (SAGARPA). 2010. Fondo de fomento agropecuario del estado de Michoacán Comité técnico estatal de evaluación. Proyecto: diagnóstico sectorial. Pp. 25. [En línea: http://2006-2012.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/Lists/Evaluaciones%20Externas1/Attachments/36/comp_b_leche.pdf?Mobile=1]

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2014. Manejo del ganado bovino adulto en establos familiares/semi-tecnificados de producción de leche. Centro de Investigación Regional Pacifico. Centro Campo Experimental, Jalisco, México. Folleto para productores No.1. ISBN: 978-607-37-0311-6. Pp. 1-17.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación" (SAGARPA) e Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agricultura y Pecuarias (INIFAP). 2012. Manual para incrementar la producción de leche en el trópico seco de México. México, D.F. Pp. 10- 15. ISBN: 978-607-425-912-4.

Seo YS and Shin KS. 2012. Immune system-stimulating activities of mucilage polysaccharides isolated from *Opuntia humifusa*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41, 95-102. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.1.095>.

Setchell K. D. R., Faughnan M. S., Avades T., Zimmer N. L., Brown N. M. and Wolfe B. E. 2003. A comparison of the pharmacokinetics of labeled daidzein and genistein in premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* No. 77. Vol. 2. Pp. 9- 411.

Sirohi, S. K., Goel, N., & Singh, N. (2014). Utilization of saponins, a plant secondary metabolite in enteric methane mitigation and rumen modulation. *Annual Research & Review in Biology*, 4(1), 1.

Soria M. G. 2010. Calidad microbiológica de leche cruda y queso fresco proveniente de vacas suplementadas con nopal (*Opuntia ficus-indica*) en un sistema de producción familiar en el estado de Michoacán (tesis de licenciatura). Instituto tecnológico superior de Uruapan, Uruapan, Michoacán. Pp. 14-50.

Spangheroa M., Salemb A.Z.M. and Robinsond P.H. 2009. Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science and Technology*, No.152, Pp. 243-255

Suman R, Saffron A W. 2008. Phytoestrogens oestrogen synthesis and breast cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 3, 186-195.

Szczawiński J., Szczawińska M. E., Łobacz A. & Jackowska T. A. 2016. Modeling the effect of temperature on survival rate of *Listeria monocytogenes* in yogurt. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, No. 19. Vol. 2, Pp. 317-324.

Tan K P, Chen J, Wend W E, Thompson L U. 2004. Mammary gland morphogenesis is enhanced by exposure to flaxseed or its major lignan during suckling in rats. *Journal of Society for Experimental Biology and Medicine*, 2, 147-157.

Tapia R. N. 2013. Caracterización de la calidad tecnológica e inocuidad del queso seco de cabra producido en el oasis de san miguel y san José de Comondú B.C.S. (tesis de licenciatura). La Paz, B. C. S., MÉXICO. Universidad autónoma de Baja california sur, Área de conocimientos de ciencias Agropecuarias, Departamento académico de zootecnia. Pp.

Taylor T. M. 2015. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. Woodhead Publishing. (faltan datos – libro-)

Taylor, M. (Ed.). (2014). *Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality*. Elsevier.

Teixeira, A. D. M., Junior, R., de Oliveira, G., Velasco, F. O., Faria Júnior, W. G. D., Rodriguez, N. M., ... & Gonçalves, L. C. (2014). Intake and digestibility of sorghum (*Sorghum bicolor*, L. Moench) silages with different tannin contents in sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(1), 14-19.

Thatcher, L.F., Anderson, J.P. y Singh, K.B. 2005. Plant defence responses: what have we learnt from *Arabidopsis*? *Functional Plant Biology*, 32(1), 1-19.

Tirloni, E., Bernardi, C., Colombo, F., & Stella, S. (2015). Microbiological shelf life at different temperatures and fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* inoculated in unflavored and strawberry yogurts. *Journal of dairy science*, 98(7), 4318-4327.

Tornadijo, M. E., Marra, A. I., Fontán, M. G., Prieto, B., & Carballo, J. (1998). La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química milk quality for cheese production: chemical quality a calidade da leite destinada á fabricación de queixo: calidade química. *CYTA-Journal of Food*, 2(2), 79-91.

Torres S. A. 2010. Composición química del nopal y sus implicaciones en la nutrición de rumiantes (experiencias de Brasil). *Revista Salud Pública y Nutrición. Edición Especial*, No.5, Pp. 143-151.

Torres. 2007. Caracterización físico-química de las pastillas de nopal (*Opuntia ficus indica*) y polvos de nopal de vacío en seco como una función de la maduración. *Planta de Alimentos Hum. Nutr.*, 62 (2007), pp. 107-112 <http://dx.doi.org.etechnicryt.idm.oclc.org/10.1007/s11130-007-0049-5>

Ultee, A., E. P. W. Kets, and E. J. Smid. 1999. Mechanisms of action of study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91:453–462.

Umar, M. I., Javeed, A., Ashraf, M., Riaz, A., Mukhtar, M. M., Afzal, S., y Altaf, R. 2013. Polarity-based solvents extraction of *Opuntia dillenii* and *Zingiber officinale* for in vitro antimicrobial activities. *International Journal of Food Properties*. 16(1), 114-124.

Urquía-Fernández, N. 2014. La seguridad alimentaria en México. *Salud pública de México*, Vol. 56, Pp. 92-98.

Valares M. V. C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Universidad de Extremadura. Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra. Badajoz, España. Pp.

Valente L. Paixão D., Do Nascimento A. C., Dos Santos, P., Scheinvar L., Moura, M., Tinoco L., Gomes L. and Da Silva J. 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem.* No 123. Pp. 1127–1131

Vásquez M. S, Suárez M. H. y Zapata B. S. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Rev Chil Nutr.* No. 1. Vol. 36. Pp. 64-69.

Vázquez A., Valdez C., Gutiérrez O. y Blanco M. 2007. Caracterización e identificación de nopal forrajero en el norte de México. *Memorias del VI Simposium Taller Producción y Aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México.* 7 y 8 de diciembre de 2007, Marín, N.L. México.

Vázquez O. E., Pérez M. E., Hurtado A. L. y Alcántara J. L. 2014. Evaluación de la calidad microbiológica de la leche. Revisión Sistemática de 2003 a 2013. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, Vol. 1 No. 3. Programa de Maestría en Ciencias de la Salud, Facultad Ciencias Químicas e Ingeniería. Universidad Autónoma de Baja California Tijuana, B.C., México. Pp. 91 - 99.

Vera A. H., Hernández A. L. Espinoza G. J., Ortega R. L., Díaz A. E., Román P. H., Núñez H. G., Medina C, M. y Ruiz L. F. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema familiar. INIFAP. CIRGOC. Libro técnico No. 24. Veracruz, México.

VERARDO G, PAGANI E, GEATTI P, and MARTINUZZI P. 2003. A thorough study of the surface wax of apple fruits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376: 659–667.

Veraverbeke EA, Verboven P, van Oostveldt P, Nicolaï BM. 2003. Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. *Mitis* (Wallr.)) during storage: part 2. Model simulations and practical applications. *Postharvest Biol Technol.* 2003;30:89–97. doi: 10.1016/S0925-5214(03)00082-6. [Cross Ref

Vilela A.E., González P. L. y Ravetta D. A. 2011 *Metabolismo Secundario De Plantas Leñosas De Zonas Áridas: Mecanismos De Producción, Funciones Y Posibilidades De Aprovechamiento.* *Ecología Austral.* No. 21. Pp. 317-327.

Villalobos A. C. 2006. Tecnologías de membranas en la agroindustria láctea. *Agronomía Mesoamericana*, Vol. 17, No. 2. 243-264.

Villegas de Gante, A. y F. Cervantes Escoto (2011) “La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos” *Estudios Sociales.* No. 38, Vol. 19, Pp. 146-164.

Wagner, P., Fürstner, R., Barthlott, W. y Neinhuis, C. 2003. Quantitative assessment to the structural basis of water repellency in natural and technical surfaces. *Journal Experimental Botany.* 54:1-9

Wanderley W. L., Ferreira M. D. A., Andrade D. D., Vêras A. S. C., Farias I., Lima L. E., & Dias, A. D. A. 2002. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à

silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, No. 31, Vol. 1, Pp. 273-281.

Wang, G. Y., Yang, C., Yang, Z., Yang, W., Jiang, S., Zhang, G., ... & Wei, M. (2015). Effects of dietary star anise (*Illicium verum* Hook f) supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating multiparous sows and nursing piglets. *Animal Science Journal*, 86(4), 401-407.

Wencelová, M., Váradyová, Z., Mihaliková, K., Čobanová, K., Plachá, I., Pristaš, P., ... & Kišidayová, S. (2015). Rumen fermentation pattern, lipid metabolism and the microbial community of sheep fed a high-concentrate diet supplemented with a mix of medicinal plants. *Small Ruminant Research*, 125, 64-72.

Wiermer, M., Feys, B.J. y Parker, J.E. 2005. Plant immunity: the EDS1 regulatory node. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(4), 383-389

Xu X, Gong Q Y, Lu Y Q, Yao M H. 2002. Effects of soy isoflavones on bone density and estrogen activity in ovariectomized rats. *Chinese Journal*

Yang, Z., Wu, Y., Wang, J., Cao, B., y Tang, CY. 2016. La reducción in situ de plata por polydopamine: una nueva modificación antimicrobiana de una membrana de poliamida compuesta de película delgada. *Reinar. Sci. Technol.* , 50, 9543 hasta 9550

Yeats T H, K J Howe, A J Matas, G J Buda, T W Thannhauser, J K C Rose (2010) Mining the surface proteome of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit for proteins associated with cuticle biogenesis. *J. Exp. Bot.* 61:3759-3771

Yost, C.K. 2014. Biopreservation. *Encyclopedia of Meat Sciences*, Reino Unido: Academic Press. Pp. 76-82.

Yubero, M. Á. D. 2015. Leche y seguridad alimentaria. *Nutrición Hospitalaria*, Vol. 31, No. 2. Pp. 33-37.

Zalán, Z. (Ed.). (2015). *Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality*. Elsevier.

Zamora V. R., Martínez F. H., Montañez S. J., Huerta S. U. y Pérez S. R. 2012. Estudio microbiológico de queso fresco adicionado con el probióticos *Saccharomyces boulardii*. *Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*. Vol. 14. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Pp. 37-41

Zheng G. 2002. Estrogen like effects of puerarin and total isoflavones from pueraria lobata. *Chinese Medicinal Materials*, 8, Pp. 566-568.

Zucali M., Bava L., Colombini S., Brasca M., Decimo M., Morandi S., Tamburini A. and Crovetto M. 2014. Management practices and forage quality affecting the contamination of milk with anaerobic spore-forming bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 95, No 6. Pp.1294–1302.

Zumbado G., L., and Romero Z. J. J. 2016. Food Safety Concepts in Primary Production of Milk. *Rev. Ciencias Veterinarias*, Vol. 33, N° 2, Pp.51-66. ISSN: 2215-4507, [Doi: 10.15359/rcv.33-2.1].