



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**ESTUDIO EXPLORATORIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A LA LECHE CRUDA SOBRE LAS CUENTAS BACTERIANAS:
*Mesófilas aerobias y Coliformes***

Para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

PRESENTA:

PMVZ. EVA MARÍA CHÁVEZ LOEZA

Asesor

Dr. Juan José Valdez Alarcón

Co-Asesores

Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez

MC. Ruy Ortiz Rodríguez

MORELIA, MICHOCÁN. MARZO DE 2012



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**ESTUDIO EXPLORATORIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A LA LECHE CRUDA SOBRE LAS CUENTAS BACTERIANAS:
*Mesófilas aerobias y Coliformes***

Para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

PRESENTA:

PMVZ. EVA MARÍA CHÁVEZ LOEZA

Asesor

Dr. Juan José Valdez Alarcón

Co-Asesores

Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez

MC. Ruy Ortiz Rodríguez

MORELIA, MICHOACÁN. MARZO DE 2012

INDICE.

INDICE DE CONTENIDOS	PAGINA
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Sistemas de Producción bovinos productores de leche en las zonas rurales.	5
2.2 Características generales del Nopal (<i>Opuntia</i>)	6
2.3 Uso de nopal en las dietas de bovinos productores de leche	7
2.4 Estudios preliminares sobre el efecto del nopal sobre la producción y calidad de la leche.	9
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
4. HIPOTESIS	12
5. OBJETIVO GENERAL.	12
5.1 Objetivos específicos	12
6. MATERIAL Y METODOS	13
6.1 Localidad	13
6.2 Tratamiento de la leche con componentes del nopal	13
6.3 Obtención de los componentes del nopal	14
6.4 Conteos de bacterias	15
6.5 Análisis estadístico	16
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
7.1 Efecto de la adición de diferentes componentes del nopal a la leche cruda sobre la concentración de Mesofilas aerobias y Coliformes totales	17
7.2 Efecto de la concentración (%) de la adición del nopal o sus componentes	18
8. CONCLUSIONES	20
9. BIBLIOGRAFIA	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Nopal	7
Tabla 2. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Mesofilas Aerobias y Coliformes en leche cruda de acuerdo al tratamiento	17
Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Mesofilas Aerobias en leche cruda de acuerdo al tratamiento y a la inclusión de nopal	18
Tabla 4. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Coliformes en leche cruda de acuerdo al tratamiento y a la inclusión de nopal	19

RESUMEN.

El objetivo fue determinar el efecto de la adición directa a la leche cruda (LC) de mucílago de nopal (MuN), epidermis de nopal (EN) y nopal molido (NM), para evaluar su efecto sobre las unidades formadoras de colonias (UFC/ml) de bacterias Mesofilas aerobias (MA) y Coliformes totales (CT). Se utilizó la LC de 16 vacas, previamente homogenizada, para obtener 28 muestras de 100 ml/día. A cada muestra se le aplicó EN, MuN y/o NM de diferente edad (joven, maduro y viejo) y a concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0% (peso a volumen; p/v). Se utilizó una muestra/día de LC como testigo. El contacto entre LC y los componentes de nopal fue de 2hrs. La preparación y el análisis de las muestras se realizó bajo las normas oficiales mexicanas para MA y CT. La información se analizó con la metodología de Efectos Fijos. Las UFC/ml de MA con NM y EN (6×10^5 y 7×10^5 UFC/ml) fueron menores ($P < 0.05$) a las obtenidas en MuN (2×10^6 UFC/ml) y en el testigo (12×10^6 UFC/ml). Para CT, el NM (5×10^5 UFC/ml) y EN (1×10^6 UFC/ml) fueron diferentes entre sí ($P < 0.05$) y al testigo (5×10^6 UFC/ml), pero iguales a MuN (6×10^5 UFC/ml). La inclusión de 0.5 y 1.0% de componentes de nopal produjeron menor conteo de UFC/ml de MA y CT. Para cuestiones de calidad de la LC en Mesofilas aerobias se cumple con la Norma Oficial Mexicana, más no así para Coliformes totales. Los componentes del nopal (EN o MN) pueden ser una alternativa viable para mejorar la calidad de la leche cruda en la elaboración de quesos artesanales.

1. INTRODUCCIÓN.

De acuerdo con una serie de investigaciones sobre el sector pecuario del estado de Michoacán, México, específicamente en las zonas rurales, uno de los problemas fundamentales que impiden el desarrollo de los sistemas de producción de bovinos productores de leche, es la escasez de forraje de calidad; lo que provoca un comportamiento productivo deficiente de los hatos explotados en zonas rurales con periodos de estiaje prolongados (Medina *et al.*, 2006). Por ello, las dietas del ganado criado bajo condiciones de pastoreo están sujetas a fluctuaciones frecuentes en cuanto a calidad y cantidad del forraje consumido. Estas características ambientales prevalentes en Michoacán, no solo ocasionan bajos rendimientos productivos de las explotaciones ganaderas extensivas, sino que además, contribuyen notablemente con el deterioro del ecosistema, pues el sobre-pastoreo origina erosión del suelo, escasez de agua y desertificación. Sin embargo, la ganadería en Michoacán es una de las tres actividades más importantes en el estado (Rodríguez, 2008), por lo cual se requiere mejorar la producción y los ingresos de los productores; sin dejar de lado la restauración de la fertilidad de los suelos y la protección del agua de la entidad.

Ante este escenario algunos productores han intentado solucionar el problema de la alimentación de su ganado mediante la utilización de forrajes autóctonos, tales como las especies del género *Opuntia*. Sin embargo, los productores al utilizar *Opuntia* como forraje en época de estiaje, lo hacen debido a la falta de insumos básicos de la

dieta de su ganado: esquilmos y/o pasto nativo. No obstante, en investigaciones sobre la complementación de dietas de ganado bovino con forraje *Opuntia* se ha establecido que el nopal, como complemento de las dietas, incrementa la producción de leche, mejora la calidad de la misma y aumenta la vida de almacén de subproductos lácteos (García *et al.* 2005). Esta propiedad de *Opuntia* como complemento de las dietas del ganado lechero es trascendental, debido a que la inocuidad de los alimentos es uno de los conceptos clave ya que los pequeños productores, que obtienen leche de sus propios animales, la utilizan para consumo familiar y para la fabricación de quesos frescos artesanales destinados ya sea a la venta o para autoconsumo, conformando de esta forma una práctica sin controles sanitarios (Garcés *et al.*, 2005). De aquí la importancia de la presente investigación, pues por un lado ya se tienen antecedentes de que el uso del nopal como complemento de las dietas del ganado lechero ocasiona un aumento de producción de leche y mejora la calidad de la misma, sin embargo el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de la adición directa a la leche cruda (LC) de mucilago de nopal (MuN), epidermis de nopal (EN) y nopal molido (NM), para evaluar su efecto sobre las unidades formadoras de colonias (UFC/ml) de bacterias Mesofilas aerobias (MA) y Coliformes totales (CT). Y establecer si la disminución de UFC/ml -en MA y CT- producto de la adición directa a la LC es suficiente para lograr los niveles permitidos por las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) para la calidad de la LC.

Para el logro del objetivo planteado, se utilizó la LC de 16 vacas, previamente homogenizada, para obtener 28 muestras de 100 ml/día. A cada muestra se le aplicó epidermis de nopal, Mucilago de nopal y/o nopal molido de diferente edad (joven, maduro y viejo) y a concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0% (peso a volumen; p/v). Se utilizó una muestra/día de LC como testigo. El contacto directo entre LC y los componentes de nopal fue de 2 h. La preparación y el análisis de las muestras se realizaron bajo las NOM para Mesofilas aerobia y Coliformes totales. La información se analizó con la metodología de Efectos Fijos. Los resultados mostraron un efecto sobre la disminución ($P<0.05$) de UFC/ml en Mesofilas aerobias con epidermis de nopal y nopal molido, en comparación con mucilago de nopal y el testigo. Para el conteo de UFC/ml de Coliformes totales, el nopal molido y la epidermis de nopal fueron diferentes entre sí ($P<0.05$) y al testigo, pero iguales a mucilago de nopal. En relación a la inclusión de 0.5 y 1.0% de componentes de nopal, estos produjeron menor conteo de UFC/ml de Mesofilas aerobias y Coliformes totales. Por último, se encontró que la calidad de la LC mejoro con la adición directa del nopal o sus componentes, específicamente para Mesofilas aerobias, lo que permitió cumplir con los criterios establecidos por la NOM: NMX-F-700-COFOCALEC-2004, más no así para Coliformes totales. Ante estos hallazgos, se puede establecer que la adición directa del 0.5 y 1.0% de los componentes del nopal (EN o MN) a la LC son una alternativa viable para mejorar la calidad de la leche.

2. ANTECEDENTES

2.1 Sistemas de Producción bovinos productores de leche en las zonas rurales.

En las zonas rurales de México los sistemas de producción bovina se han caracterizado por ser de tipo extensivo y con poca o nula tecnificación (Macedo *et al.*, 2006). Para el caso de la zona rural del estado de Michoacán, México, uno de los problemas fundamentales que impiden el desarrollo de la industria ganadera, incluidos los sistemas de producción de bovinos productores de leche, es la escasez de forraje de calidad (Medina *et al.*, 2006). Además, las diferentes regiones agroecológicas de Michoacán, definidas en base a la precipitación pluvial, determinan la oferta de recursos forrajeros, lo que provoca un comportamiento productivo deficiente de los hatos explotados en zonas con estiaje prolongados (Medina *et al.*, 2006). Por ello, las dietas del ganado criado bajo pastoreo están sujetas a frecuentes fluctuaciones en cuanto a calidad y cantidad del forraje consumido (Gutiérrez *et al.*, 2008). Estas fluctuaciones pueden afectar la rentabilidad de los sistemas de producción de bovinos productores de leche.

Bajo el contexto ambiental de Michoacán, las explotaciones ganaderas extensivas contribuyen notablemente con el deterioro acelerado del ecosistema, erosión del suelo, escasez de agua y desertificación. Sin embargo, la ganadería es una de las tres actividades más importantes en el estado, por lo cual se requiere mejorar la producción y los ingresos de los productores; sin dejar de lado la restauración de la fertilidad de los suelos, la protección del agua y los trópicos de la entidad (Rodríguez, 2008).

Ante este escenario algunos productores han intentado solucionar el problema de la alimentación de su ganado mediante la utilización de forrajes autóctonos, tales como las especies del género *Opuntia*.

2.2 Características generales del Nopal (*Opuntia*)

En México se encuentran más de 100 especies del género *Opuntia*, y es en las zonas semiáridas donde existe la variación más amplia (INE, 2010). Los principales Estados productores de nopal son: Distrito Federal, San Luis Potosí, Michoacán, Oaxaca, Baja California, Jalisco, Aguascalientes, Puebla y Zacatecas.

Según su clasificación taxonómica, el género *Opuntia* pertenece a la familia *Cactaceae* que presenta 125 géneros y 2,000 especies (Tabla 1). Estas se caracterizan por ser plantas arborescentes, arbustivas o rastreras, simples o cespitosas, generalmente espinosas con tronco bien definido, cladodios carnosos o leñosos, espinas solitarias o en grupos, flores generalmente hermafroditas y fruto en baya seco o jugoso. El género *Opuntia* se divide en dos subgéneros: el *Cilindropuntia* y el *Platyopuntia* (INE, 2010).

Con respecto al nopal (*Opuntia sp*), esta planta se caracteriza por ser un forraje fresco, succulento, de buena palatabilidad y susceptible de explotarse durante todo el año (Carranza, 2001). Así mismo, en los estudios bromatológicos, *Opuntia* ha demostrado ser un alimento que suministra 2.25 mcal/kg, lo que lo hace un alimento energético. En cuanto a proteína cruda (PC), el nopal aporta un 3.5%; porcentaje

bajo en comparación con otros insumos forrajeros como la alfalfa (21.3%). En lo referente a contenidos minerales posee los siguientes: Ca^{2+} 2.01% y P 0.11%. La digestibilidad *in situ* es del 68% a 48 horas y se estima un 47% de fibra detergente neutra (FDN) y un 16% de fibra detergente acida -FDA-. No obstante, en la dieta del ganado, el nopal debe ser combinado con otros ingredientes debido al pobre contenido de proteína, a pesar de ser rico en calcio (Medina *et al.*, 2006).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Nopal

Reino	Vegetal
Subreino	Embryophyta
División	Angioserma
Clase	Dicotiledoneae
Subclase	Dialipetalas
Orden	Opuntiales
Familia	Cactaceae
Tribu	Opuntiae
Subfamilia	Opuntioideae
Género	<i>Opuntia</i>
Subgénero	<i>Platyopuntia</i>

Fuente: Briton y rose, (1963), citado por Bravo, 1978.

2.3 Uso de nopal en las dietas de bovinos productores de leche

El nopal (*Opuntia spp.*) es una planta originaria de México, que ha sido utilizada para la alimentación humana y animal desde antes de la Conquista. El nopal (*Opuntia spp.*) ha tenido mayor relevancia en las regiones desérticas y semidesérticas del Norte de México, ya que es común observar cambios extremos en temperaturas y períodos prolongados de sequía (Soria, 2010).

El nopal siempre se ha utilizado en la alimentación de bovinos productores de carne y leche, caprinos y ovinos en las zonas del norte, principalmente. Los pequeños productores son los que comúnmente utilizan al nopal en la alimentación de su ganado, ya que en épocas críticas del año, es el único alimento que tienen disponible para la alimentación de sus animales. Algunos expertos consideran que el manejo (corte y acarreo) y utilización del nopal, es muy voluminoso y costoso en relación al valor nutritivo. Sin embargo, en el caso de los animales domésticos el nopal se usa como una dieta de mantenimiento junto con esquilmos agrícolas e industriales. La opinión de algunos investigadores es que el nopal se justifica como fuente forrajera, ya que existen especulaciones en el sentido de que el nopal estimula la producción de leche; aunque aun no queda claro que elemento o elementos de nopal promueve el aumento en la síntesis de leche (Soria, 2010).

García *et al.* (2005) determinaron que al complementar la dieta de los bovinos con *Opuntia*, se incrementa no solo la producción de leche, sino que mejora la calidad y vida de almacén de los subproductos lácteos. En cuanto a la calidad de la leche y sus subproductos, es un hecho que la leche al interior de la cisterna (órgano de depósito de almacenamiento de leche de la vaca), es estéril. Sin embargo, una vez realizado el ordeño, ésta es susceptible de contaminarse con altas cargas bacterianas -parte de estas pueden ser patógenas- provenientes de la tierra y el estiércol presente en las ubres de las vacas (Magariños, 2000).

Dentro de la seguridad alimentaria, la inocuidad de los alimentos es uno de los conceptos clave, pues los pequeños productores, que obtienen leche de sus propios

animales, la utilizan para consumo familiar y para la fabricación de quesos frescos artesanales destinados ya sea a la venta o para autoconsumo, conformando de esta forma una práctica sin controles sanitarios (Garcés *et al.*, 2005). De hecho, la posibilidad de crear marcas regionales para los quesos artesanales obligaría a que las cargas bacterianas fueran disminuidas, lo cual atentaría con las prácticas de producción del queso artesanal, con lo cual se podría modificar la calidad del producto artesanal. Es por ello que se hace necesario establecer estrategias que disminuyan los conteos de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales a los niveles permitidos por las Normas Oficiales Mexicanas.

2.4 Estudios preliminares sobre el efecto del nopal sobre la producción y calidad de la leche.

En estudios preliminares sobre el efecto de la inclusión de nopal a la dieta de bovinos productores de leche sobre la calidad de la leche cruda se encontraron valores de UFC/ml, para mesófilas aerobias, de 4×10^1 y 5×10^3 en leche cruda proveniente de vacas alimentadas con nopal y sin nopal, respectivamente; ambos promedios fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). De acuerdo con la NMX-F-700-COFOCALEC-2004, la leche cruda se considerada dentro de los parámetros de calidad cuando el número de bacterias mesofilas aerobias sea $< 1 \times 10^6$ UFC/ml. Por lo tanto, la leche cruda derivada de ambos tratamientos es de calidad microbiológica aceptable en lo que respecta a mesófilas aerobias. Sin embargo, la leche cruda derivada de vacas alimentadas con nopal presentó valores inferiores en UFC para mesófilas aerobias (Pérez *et al.*, 2011).

En lo referente a UFC/ml de Coliformes, se encontró que la leche cruda obtenida de vacas alimentadas con nopal fue 2×10^2 vs 3×10^3 obtenido en leche cruda de vacas alimentadas sin nopal. Al respecto, la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 establece que la leche cruda no debe de presentar un valor > 100 UFC/ml (1×10^2), valor que no concuerda con los resultados del estudio, por lo que los valores encontrados en la leche cruda, no cumplen con los criterios de calidad microbiológica para Coliformes. No obstante, el menor número de Coliformes se encontró en la leche cruda obtenida de vacas alimentadas con una dieta complementada con nopal (Pérez *et al.*, 2011; sin publicar).

Las conclusiones de las investigaciones preliminares citadas anteriormente determinan que el nopal como complemento de la dieta de bovinos productores de leche incrementa la producción y calidad de leche y sus subproductos (queso fresco). No obstante, no determinan dichas investigaciones cómo es que el nopal tiene ese efecto del nopal producción y calidad de la leche.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con los antecedentes, la problemática de los sistemas de producción de bovinos productores de leche -en zonas rurales con estiaje prolongado- se centra en la disminución de forrajes de calidad. Siendo una alternativa de solución el uso de forrajes autóctonos como es el caso del nopal. No obstante, no solo existe un problema de escases de forrajes de calidad, sino que además, la seguridad alimentaria y la inocuidad de los alimentos deben ser conceptos clave, pues los pequeños productores, que obtienen leche de sus propios animales, la utilizan para consumo familiar y para la fabricación de quesos frescos, conformando de esta forma una práctica sin controles sanitarios (Garcés et al., 2005). Al parecer el uso del nopal (*Opuntia ficus indica*) como complemento de las dietas para ganado bovino productor de leche mejora la producción y calidad de la leche. Sin embargo, aun y cuando en dichos estudios los conteos de bacterias Mesofilas aerobias y Coliformes totales en la leche cruda, derivada de vacas alimentadas con nopal, son menores con respecto a la leche cruda obtenida de vacas alimentadas sin nopal, no es claro y generan las siguientes preguntas: ¿cómo y cuál es el efecto del nopal sobre la disminución de las cuentas bacterianas en leche cruda?

4. HIPOTESIS

La adición de mucilago del nopal a la leche cruda disminuye las cuentas bacterianas Mesofilas aerobias y Coliformes totales en la misma, en comparación con la adición de epidermis (piel) y nopal molido.

5. OBJETIVO GENERAL.

- Determinar -mediante un estudio exploratorio- el efecto de la adición directa de componentes del nopal (mucilago, epidermis y nopal molido) a la leche cruda sobre la calidad de la misma.

5.1 Objetivos específicos.

- Evaluar el efecto de la adición directa de los componentes del nopal (mucilago, epidermis y nopal molido) a la leche cruda sobre las cuentas bacterianas de Mesofilas aerobias.
- Determinar el efecto de la adición directa de los componentes del nopal (mucilago, epidermis y nopal molido) a la leche cruda sobre las cuentas bacterianas de Coliformes totales.
- Establecer qué nivel de inclusión de nopal (0.5, 1.0 y 2.0%) presenta un mejor comportamiento sobre cuentas bacterianas de Mesofilas aerobias y Coliformes totales en leche cruda.
- Determinar si la edad del nopal (joven, maduro y viejo) adicionado a la leche cruda tiene efecto en la disminución de cuentas bacterianas de Mesofilas aerobias y Coliformes totales.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Localidad

El estudio se realizó en el Rancho Experimental de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, localizada en Uruapan Michoacán. La extensión territorial del Municipio de Uruapan, Michoacán, es de 830.28 kilómetros cuadrados, representando estos el 1.46% del total de la superficie estatal. La temperatura media anual es de 19 °C con clima templado y abundantes lluvias durante el verano (Pérez *et al.*, 2010; sin publicar).

6.2 Tratamiento de la leche con componentes del nopal

Para el logro de los objetivos se trabajó con la leche cruda obtenida de 16 vacas Holstein del Rancho Experimental ; las cuales se ordeñaron dos veces al día (5:00 y 13:00 hrs). Una vez homogenizado el total de la producción de la leche del ordeño de las 5:00 hrs, se obtuvieron 2.800 litros y fueron divididos en 28 muestras de 100 ml y depositados en frascos de cristal (Gerber) de 300 ml, previamente esterilizados. En 90 de estos frascos se depositaron las fracciones de los siguientes componentes del nopal: mucilago (27 frascos), epidermis (27 frascos) y nopal molido (27 frascos), de acuerdo a la edad del nopal (joven, maduro y viejo) y a las siguientes concentraciones: 0 (testigo), 0.5, 1.0 y 2.0% de los componentes de nopal antes mencionados para que estuvieran en contacto directo con la leche durante un periodo de dos horas.

El estudio bacteriológico se realizó inmediatamente después de haberse cumplido el tiempo de contacto de los componentes del nopal o del nopal molido (2 hrs). Esta operación se repitió en tres días diferentes, para obtener tres repeticiones por muestra. La distribución de muestras produjo un arreglo factorial 3x3x3. Por lo tanto se generaron los siguientes grupos (G): **G1 (n= 27)**, este grupo recibió un tratamiento con piel de nopal de diferente edad (joven, maduro y viejo) y a diferente concentración: 0.5, 1.0 y 2.0% en base a 100 ml de leche cruda. Con tres repeticiones/tratamiento; **G2 (n= 27)**, este grupo recibió un tratamiento con mucilago de nopal de diferente edad (joven, maduro y viejo) y a diferente concentración: 0.5, 1.0 y 2.0% en base a 100 ml de leche cruda. Con tres repeticiones/tratamiento; **G3 (n= 27)**, este grupo recibió un tratamiento con nopal molido de diferente edad (joven, maduro y viejo) y a diferente concentración: 0.5, 1.0 y 2.0% en base a 100 ml de leche cruda. Con tres repeticiones/tratamiento y, **G4 o Testigo (n= 9)**, este grupo no recibió ningún tratamiento.

6.3 Obtención de los componentes del nopal

Para la obtención del mucilago el nopal se cortó en cuadros de aproximadamente 3x3 cm los cuales se colocaron en tres recipientes de plástico (uno para cada edad del nopal) al cual se añadió 200 ml de agua estéril y se dejó en reposo durante 24 hrs, los recipientes se cubrieron con bolsas estériles de nylon para la recolección del mucilago.

Para la recolección de la epidermis del nopal se utilizó un pelapapas previamente esterilizado. Posteriormente se molió durante 1 minuto con una licuadora manual para su aplicación en los tratamientos correspondientes.

Para la obtención del nopal molido se cortó en trozos de aproximadamente 3x3 cm para colocarlos en vasos de precipitado los cuales se molieron con una licuadora manual.

6.4 Conteos de bacterias

El estudio microbiológico de las muestras de leche cruda se llevó a cabo en el laboratorio experimental del Instituto Tecnológico de Uruapan, ubicado en el mismo municipio. Para el análisis de la calidad bacteriológica de la leche de las muestras recolectadas, codificadas y transportadas en bolsas nuevas de polietileno a 4 °C para su procesamiento (Christen, 1993). La preparación y análisis de las muestras se realizó bajo los criterios establecidos en las normas oficiales mexicanas NOM-120-SS1-1994; esta norma establece las prácticas de higiene y sanidad que deben observarse en el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas, NOM-113-SSA; la cual establece el método microbiológico para determinar el número de microorganismos Coliformes totales presentes en productos alimenticios por medio de la técnica de cuenta en placa, NOM-110-SSA; que establece el procedimiento para la preparación de diluciones para el análisis microbiológico de productos alimenticios). Las muestras de leche cruda se homogenizaron para posteriormente realizar una dilución inicial 10^{-1} y a partir de esta, se obtuvieron diluciones decimales consecutivas hasta una dilución 10^{-5} en agua peptonada.

La inoculación para bacterias Coliformes totales (CT) se realizó en el medio de Agar Bilis y Rojo Violeta (RVBA) y se incubó a una temperatura de 37 °C durante 24 horas. Para bacterias mesófilas aerobias (BMA), se realizó en medio líquido para inoculación de Agar Cuenta Estándar a 37°C para su incubación durante 48 horas. El conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó mediante un contador de bacterias digital (Quebec).

6.5 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se elaboró una base de datos para su análisis estadístico, previa transformación de los valores a logaritmo base 10 ($\log_{10}$).

La base de datos con los valores transformados fue analizada mediante la metodología de los Modelos de Efectos Fijos (Herrera *et al.*, 2003). Las diferencias estadísticas entre grupos se obtuvieron mediante el método de medias de mínimos cuadrados (Herrera *et al.*, 2003).

7. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Efecto de la adición de diferentes componentes del nopal a la leche cruda sobre la concentración de Mesofilas aerobias y Coliformes totales

Se encontró efecto de: tratamiento ($P < 0.0001$), interacción tratamiento*tipo de bacteria ($P < 0.0303$) y porcentaje de inclusión de nopal*tratamiento ($P < 0.0048$) sobre la cuenta de UFC/ml. Para el caso de Mesófilas anaerobias los promedios de UFC de los tratamientos con nopal molido y piel de nopal fueron estadísticamente iguales ($P > 0.05$) y obtuvieron un menor conteo de UFC/ml; 6×10^5 y 8×10^5 , respectivamente, ello en comparación con el mucilago de nopal y el testigo (Tabla 2)

Tabla 2. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Mesofilas Aerobias y Coliformes en leche cruda de acuerdo al tratamiento

Tratamiento	Tipo de bacteria			
	Mesofilas aerobias		Coliformes totales	
	Promedio	E.E	Promedio	E.E
Mucílago de Nopal	2×10^6 ^a	± 0.12	6×10^5 ^a	± 0.10
Nopal Molido	6×10^5 ^b	± 0.10	5×10^5 ^{ac}	± 0.12
Piel de Nopal	8×10^5 ^b	± 0.09	1×10^6 ^{ad}	± 0.09
Sin Nopal	13×10^6 ^c	± 0.28	5×10^6 ^b	± 0.28

^{a, b, c, d} = Diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) dentro de columna

En lo referentes al promedio de UFC/ml de Coliformes totales, todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales entre sí ($P > 0.05$) pero diferentes ($P < 0.05$) al testigo. Sin embargo, entre el nopal molido y la piel de nopal los promedios de UFC/ml fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$); (Tabla 1).

Existen evidencias que el nopal posee propiedades naturales antibacterianas, mismas que están relacionadas con el metabolismo ácido crasuláceo (CAM) de las plantas, el cual, en las cactáceas inhibe o suspende el crecimiento de varias especies bacterianas (Winter *et al* 2008). Lo que podría explicar el efecto de la adición de nopal o componentes de este, en la leche cruda sobre la disminución de UFC/ml de Mesofilas aerobias y Coliformes totales en la misma.

7.2 Efecto de la concentración (%) de la adición del nopal o sus componentes

En cuanto al efecto del tratamiento y porcentaje de adición de nopal se encontró que los promedios de UFC/ml de Mesofilas aerobias existieron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) con el tratamiento de nopal molido a 0.5 y 1% de inclusión en la leche cruda, ello con respecto a los tratamientos mucilago y piel de nopal y a los mismos porcentajes de inclusión en la leche cruda (0.5 y 1%) (Tabla 3).

Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Mesofilas Aerobias en leche cruda de acuerdo al tratamiento y a la inclusión de nopal

Inclusión (%)	Tratamiento					
	Mucilago de Nopal		Nopal Molido		Piel de Nopal	
	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.
0	13×10^6 ^a	± 0.28	13×10^6 ^a	± 0.28	13×10^6 ^a	± 0.28
0.5	2×10^6 ^{b1}	± 0.22	4×10^5 ^{b2}	± 0.17	6×10^5 ^{b2}	± 0.16
1	3×10^6 ^{b1}	± 0.22	6×10^5 ^{b2}	± 0.17	1×10^6 ^{b1}	± 0.16
2	2×10^6 ^{b1}	± 0.22	8×10^6 ^{b1}	± 0.19	8×10^5 ^{b1}	± 0.16

^{a, b} = Diferencias estadísticas ($P < 0.05$) dentro de columna.

^{1, 2} = Diferencias estadísticas ($P < 0.05$) dentro de fila.

De acuerdo con NMX-F-700-COFOCALEC-2004, la LC se considerada dentro de los parámetros de calidad cuando el número de bacterias mesófilas aerobias sea de 1×10^6 ; por lo tanto, la leche cruda de los tratamientos nopal molido y epidermis de nopal a 0.5 y 1% fue de calidad microbiológica aceptable, en lo que respecta a mesófilas aerobias (Tabla 3), ello con respecto al tratamiento con mucilago de nopal a las proporciones de inclusión de 0.5, 1 y 2%.

En lo referente a los promedios de Coliformes, tanto los tratamientos como los diferentes nivel de inclusión de nopal o sus componentes fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) al promedio del testigo o a los tratamientos con ausencia de inclusión de nopal (Tabla 4).

Tabla 4. Medias de mínimos cuadrados de UFC/ml de Coliformes en leche cruda de acuerdo al tratamiento y a la inclusión de nopal

Inclusión (%)	Tratamiento					
	Mucilago de Nopal		Nopal Molido		Epidermis de Nopal	
	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.
0	5×10^6 a	± 0.28	5×10^6 a	± 0.28	5×10^6 a	± 0.28
0.5	1×10^6 b1	± 0.17	5×10^5 b1	± 0.22	5×10^5 b1	± 0.16
1	1×10^6 b1	± 0.19	6×10^5 b1	± 0.19	8×10^5 b1	± 0.19
2	1×10^6 b1	± 0.20	5×10^5 b1	± 0.22	8×10^5 b1	± 0.15

a, b = Diferencias estadísticas ($P < 0.05$) dentro de columna.

1, 2 = Diferencias estadísticas ($P < 0.05$) dentro de fila

De acuerdo con la Tabla 4, el tratamiento de nopal molido presentó una tendencia a un menor conteo de UFC/ml de Coliformes, con respecto al resto de los tratamientos, no obstante la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 establece que la leche cruda no debe

de presentar un valor mayor a 1×10^2 UFC/ml de Coliformes totales, valor que no concuerda con los resultados encontrados. En consecuencia los valores referidos en la Tabla 3, no cumplen con los criterios de calidad microbiológica de la leche cruda en cuanto a Coliformes totales.

Para Gonzales-Córdova *et al.* (2004) las cuentas logarítmicas altas de *Staphylococcus* sp, Coliformes totales y fecales, hongos y levaduras son indicadores de la poca higiene durante la recolección y distribución de la leche, lo cual justifica la necesidad de pasteurizarla para asegurar que los quesos elaborados a partir de esta, sean inocuos y con calidad uniforme. No obstante, la tendencia hacia una reducción de valores de cuentas bacterianas en leche cruda tratada con nopal hace necesario investigar las propiedades del nopal y su efecto sobre la calidad microbiológica de la leche cruda.

8. CONCLUSIONES

- Los tratamientos con nopal molido y piel de nopal fueron los que mostraron un mejor comportamiento con respecto al conteo de UFC/ml. Ello en comparación con el tratamiento de mucilago de nopal y el testigo.
- Para el caso de UFC/ml de Mesófilas Aerobias los tratamientos con nopal molido y piel de nopal son los que se comportaron mejor al disminuir el número de UFC/ml de estas bacterias en comparación con el mucilago de nopal y el testigo
- En cuanto al efecto de la adición de nopal a la leche cruda sobre las UFC/ml de Coliformes, el nopal molido mostró una tendencia hacia un menor conteo

de UFC/ml de Coliformes totales. Sin embargo, no fue suficiente para considerar la leche cruda dentro de los parámetros de calidad que dicta la norma NMX-F-700-COFOCALEC-2004

- En relación al porcentaje de inclusión de nopal molido a la leche cruda se encontró una mayor disminución de bacterias Mesofilas aerobias con 0.5 y 1.0% de inclusión. Encontrando valores menores a los permitidos por la NMX-F-700-COFOCALEC-2004
- El uso de nopal como factor de disminución de UFC/ml en la leche cruda es una alternativa viable para mejorar la calidad de esta y así mismo obtener quesos frescos aptos para el consumo, pero debe continuarse esta investigación para contar con más elementos y establecer el uso de nopal como complemento en dietas de bovinos productores de leche.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Bravo H.H 1978. Las cactáceas de México. Tomo I. UNAM. Ciudad Universitaria. México, DF. Pp 67-71; 147; 334.
- Carranza, S.J.A. 2001. Caracterización morfológica de cladodios de *Opuntia spp.* Del campo experimental de la Uruza. U. A. CH. Tesis profesional. Chapingo. Mex. Pp 82.
- Christen, G.L.P.M. Davison.J.S. Mc Allister, and Roth L.A. 1993. Coliform and other indicator bacteria. In Marshall, R.T.(Ed) Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health. Pp 247 - 252
- Garcés R., Brito C., Cabello, M., Orellana A., Brandl. E. y López J.L. 2005. Determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda y del quesillo 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 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 p.
- Gonzales-Córdova A.F., Torres L.M. y Vallejo C. B. 2004. Tecnificación del proceso artesanal para la obtención de queso fresco mexicano. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Coordinación de Tecnología de los Alimentos de Origen Animal. Laboratorio de Química y Tecnología de Productos Lácteos. [En línea] http://www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_04g.asp?page=04e

- Instituto Nacional de Estadística INE. 2010. Nopal verdura. [en línea] <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/71/nverdura.html> (Consulta 26 de Octubre de 2010).
- Macedo A, Gutiérrez E y Salas G 2006. Efecto de suplementación con bloques multinutricionales de melaza urea en vacas anéstricas en Carácuaro, Michoacán. *Livestock Research for Rural Development*. 18:11
- Magariños H. 2000. Contaminación de la leche. En: Producción higiénica de la leche cruda. Una guía para la pequeña y mediana empresa. 1ª ed. Guatemala, Guatemala: Producción y Servicios Incorporados S.A. Pp 14-16
- Medina, M.R., Tirado G.E., Mejía H. I., Camarillo S.I. y Cruz, V.C. 2006. Digestibilidad *in situ* de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas. *Pesq. Agropec. Bras, Brasília*. 41:7. 1173-1177
- México Calidad Suprema en leche (PC-031-2005). Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en leche [en línea] <http://www.cofocalec.org.mx/interna.php?tipo=1&id=192>
- NMX-F-700-COFOCALEC-2004. Conteo de Células somáticas por citometría de flujo. www.cofocalec.org.mx/internaproductos.php
- Pérez S.R.E., Valdez J.J., García S.P.A., Gómez R.B. y Ortiz R.R. 2010. Producción y calidad microbiológica de la leche cruda y del queso fresco provenientes de vacas Holstein bajo una dieta complementada con nopal (*Opuntia Ficus-Indica*). Sin publicar
- Rodríguez L J. (2008). Urge aumentar la producción e ingresos de ganaderos: diputados. [en línea] <http://www.lajornadamichoacan.com.mx/2008/11/10/index.php?section=politica&article=006n1pol>
- SAS 2000. Statistical Analysis System. Institute Inc. North Caroline.USA
- Winter K., García M., and Holtum J.A.M. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: Expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë*, and *Opuntia*.

Journal of Experimental Botany, Vol. 59 Pp. 1829 – 1840.