



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA
POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN
AERÓBICA SEMISÓLIDA DE NOPAL PARA LA
ALIMENTACIÓN ANIMAL

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

VERÓNICA MARIANA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

Bajo la supervisión de: **Gilberto Aranda Osorio, Dr.**



Chapingo, Estado de México, junio de 2025

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN AERÓBICA SEMISÓLIDA DE NOPAL PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Tesis realizada por **VERÓNICA MARIANA HERNÁNDEZ RAMÍREZ**, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



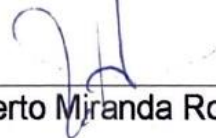
Dr. Gilberto Aranda Osorio

ASESORA:



Dra. Edith Ponce Alquicira

ASESOR:



Dr. Luis Alberto Miranda Romero

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	iii
LISTA DE CUADROS EN EL ARTÍCULO.....	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE FIGURAS EN EL ARTÍCULO.....	iv
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	iv
LISTA DE ILUSTRACIONES EN EL ARTÍCULO.....	iv
ABREVIATURAS	v
DEDICATORIAS	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
DATOS BIOGRÁFICOS	viii
RESUMEN GENERAL	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Impacto del cambio climático en la oferta de alimento en zonas áridas y semiáridas	4
2.2 El nopal.....	5
2.2.1 Clasificación taxonómica del nopal	5
2.2.2 Usos del nopal.....	7
2.2.3 Zonas productoras de nopal.....	8
2.2.4 Composición nutricional	11
2.2.5 Composición microbiológica	13
2.2.6 Variedades para producción de verdura, forraje y tuna	13
2.3 Alternativas de aprovechamiento del nopal para la alimentación animal.	17
2.3.1 Proceso de fermentación aeróbico del nopal	19
2.4 Fermentación de nopal	20
2.5 Factores fisicoquímicos y biológicos que influyen en la fermentación	21
2.6 Uso de microorganismos en alimentación de rumiantes	22
2.6.1 Levaduras.....	22
2.6.2 Hongos.....	24

2.6.3 Consorcio de levaduras y hongos	25
2.7 Literatura citada	26
3. CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN AERÓBICA SEMISÓLIDA DE NOPAL PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL.....	37
3.1 Resumen	37
3.2 Abstract	38
3.3 Introducción	39
3.4 Materiales y métodos.....	40
3.4.1 Localización.....	40
3.4.2 Ingredientes utilizados.....	40
3.4.3 Fermentación aeróbica semisólida	41
3.4.3.1 Fermentaciones evaluadas.	43
3.4.4 Muestreo	44
3.4.5 Determinaciones de pH y temperatura	44
3.4.6 Determinaciones de densidad	44
3.4.7 Liofilización y análisis proximal.....	45
3.4.8 Determinaciones de poblaciones	45
3.4.9 Cinética de la producción de gas, degradabilidad de la materia seca y fracciones fermentables <i>in vitro</i>	45
3.4.10 Diseño experimental.....	46
3.5 Resultados y discusión	47
3.5.1 pH, temperatura y densidad	47
3.5.2 Análisis proximal.....	55
3.5.3 Conteo de población microbiana	57
3.5.4 Cinética de la producción de gas, degradabilidad MS y fracciones fermentables <i>in vitro</i>	63
3.5.5 Cinética de la producción de gas de fermentación: Vm, S, L y DIVMS72	67
3.5.6 Parámetros de digestibilidad <i>in vitro</i> : DIVMS24, Vt y % CH ₄	70
3.5.7 Costos de producción de la fermentación aeróbica semisólida de nopal	74
3.6 Conclusiones	77
3.7 Literatura citada	78

LISTA DE CUADROS

Cuadro RL 1. Superficie total cultivada y volumen de producción de nopal (Opuntia spp.) en el país.....	10
Cuadro RL 2. Composición nutricional del nopal (Opuntia spp.).....	12

LISTA DE CUADROS EN EL ARTÍCULO

Cuadro AC 1. Composición porcentual de inóculos utilizados en la fermentación aeróbica semisólida de nopal.....	44
Cuadro AC 2. Comportamiento del pH, temperatura de la muestra (TM) y densidad durante la fermentación aeróbica semisólida de nopal.....	48
Cuadro AC 3. Promedios (%) obtenidos del análisis químico proximal y fracciones de fibras en base seca de las fermentaciones aeróbicas del nopal.	56
Cuadro AC 4. Tendencia poblacional de hongos durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.....	58
Cuadro AC 5. Tendencia poblacional de levaduras durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.....	60
Cuadro AC 6. Tendencia poblacional de bacterias ácido lácticas (BAL) durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.....	61
Cuadro AC 7. Fracciones fermentables in vitro de nopal tratado durante la fermentación aeróbica de nopal.....	66
Cuadro AC 8. Comportamiento de las variables volumen máximo (Vm); tasa de fermentación (S); fase LAG (L); digestibilidad in vitro a 72 horas (DIVMS72) en nopal durante la fermentación aeróbica en cinco diferentes fermentaciones. ..	68
Cuadro AC 9. Indicadores de impacto ambiental: volumen total (Vt), digestibilidad in vitro de la materia seca a las 24 h (DIVMS24) y porcentaje de metano (CH ₄) en nopal durante la fermentación aeróbica del nopal (mL g ⁻¹) ...	71
Cuadro AC 10. Indicadores de impacto ambiental: producción de metano (CH ₄); indicador de impacto ambiental (IIA), índice potencial de calentamiento global (IPCG) durante la fermentación aeróbica del nopal.....	73
Cuadro AC 11. Costos de producción de la fermentación aeróbica semisólida de nopal.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura RL 1. Mapa de los lugares donde se tiene una mayor producción de nopal verdura, tuna y nopal forrajero (CONABIO, 2023).	9
--	---

LISTA DE FIGURAS EN EL ARTÍCULO

Figura AC 1. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida (F1).....	50
Figura AC 2. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación líquida (F2).	51
Figura AC 3. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida sin hongo (F3).	51
Figura AC 4. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida sin levadura (F4).	52
Figura AC 5. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida con cambio de levadura (F5).....	52
Figura AC 6. Comportamiento de la densidad (g/cm ³) durante la fermentación aeróbica semisólida de nopal para cinco tratamientos: fermentación semisólida (F1), fermentación líquida (F2), fermentación semisólida sin hongo (F3), fermentación semisólida sin levadura (F4) y fermentación semisólida con cambio de levadura (F5).	53

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración RL 1. Nopal variedad Atlixco	14
Ilustración RL 2. Nopal variedad Blanco	14
Ilustración RL 3. Nopal variedad Copena F1	15
Ilustración RL 4. Nopal variedad Milpa Alta.....	15
Ilustración RL 5. Nopal variedad COPENA V1	16
Ilustración RL 6. Nopal variedad cristalina	16

LISTA DE ILUSTRACIONES EN EL ARTÍCULO

Ilustración AC 1. Molino picador de carne eléctrico de acero inoxidable de 2800 W	42
Ilustración AC 2. Medidas de la maquina mezcladora horizontal abierta	42
Ilustración AC 3. Aspas y vistas de la maquina mezcladora horizontal abierta .	43

ABREVIATURAS

AGV	Ácidos grasos volátiles
AC	Artículo científico
BAL	Bacterias ácido lácticas
Cen	Cenizas
CH ₄	Metano
CPM	Conteo de población microbiana
DAP	Fosfato diamónico
DIVMS	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca
DIVMS24	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca a las 24 horas
DIVMS72	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca a las 72 horas
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra detergente neutro
FDN	Fibra detergente ácido
FFL	Fracción fermentable lenta
FFM	Fracción fermentable media
FFR	Fracción fermentable rápida
FFT	Fracción fermentable total
IIA	Indicador de impacto ambiental
IPCC	Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (siglas en inglés - Intergovernmental Panel on Climate Change)
IPCG	Índice potencial de calentamiento global
L	Fase lag
MS	Materia seca
PC	Proteína cruda
RL	Revisión de literatura
S	Velocidad/tasa de acumulación de gas/tasa de fermentación
UFC	Unidades formadoras de colonias
TPG	Técnica de producción de gas
TM	Temperatura (° C)
Vm	Volumen máximo
Vt	Volumen total

DEDICATORIAS

A mis padres, **Mariana Ramírez y Félix Hernández** por ser esa lámpara encendida que me guía en cada paso de este camino y por ser el pilar fundamental de mi vida. Gracias por su amor incondicional, sus consejos siempre sabios y su paciencia infinita me han dado la fuerza para superar cada obstáculo; me han enseñado con su ejemplo a luchar por mis metas y a no rendirme nunca. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más inciertos, por seguirme sostenido y motivando a seguir adelante

A mi novio, **Javier Herrera Godoy**, mi compañero incondicional, por estar a mi lado en cada desafío, brindándome apoyo, ánimo y comprensión. Gracias por ser mi refugio en los momentos difíciles, mi fuerza cuando lo he necesitado y una fuente constante de inspiración para dar lo mejor de mí. Gracias también por recordarme, que no hay metas imposibles cuando se persiguen con pasión y perseverancia, tu forma de impulsarme a seguir adelante ha sido fundamental para llegar hasta aquí. Gracias por tu paciencia, tus palabras de aliento y por recordarme siempre que soy capaz de alcanzar mis sueños. Este logro también es tuyo.

A todos mis **seres queridos** que han partido y que me dejaron grandes enseñanzas.

- A mi amada abuelita Carmen Ramos Espejel
- Prima María Félix Ramírez Ortega
- Amigo Gustavo Benítez Blancas
- Tío Carlos Hernández Fernández

SINCERAMENTE...

Hernández Ramírez Verónica Mariana

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, mi alma mater, por ser la institución que me permitió crecer al brindarme todas las oportunidades y facilidades para lograr metas académicas y personales.

Al Posgrado en Producción Animal, por brindarme la oportunidad de formarme en sus aulas, gracias por las facilidades otorgadas para el término de este proyecto.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el apoyo financiero otorgado durante mis estudios de maestría.

Al DEIS Zootecnia, por ser una pieza clave en mi formación académica.

A mis profesores, gracias por compartir conmigo su conocimiento, su tiempo y su dedicación, porque sin su orientación, dedicación, apoyo y observaciones nunca habría sido posible culminar esta etapa; cada lección impartida dejó en mí aprendizajes que trascienden las aulas; gracias por su orientación, paciencia y su compromiso para que este trabajo reflejara lo mejor de mí.

A mis amigos y compañeros, gracias por los momentos de apoyo, risas y aprendizaje compartidos. Su amistad ha sido un recordatorio constante de que, aunque el camino puede ser arduo, siempre hay espacio para disfrutarlo en buena compañía.

Y a los encargados del laboratorio Fabián, Laura y Carmen, gracias por su paciencia, su disposición y su esfuerzo. Su colaboración fue una pieza clave para que este proyecto se materializara, y estoy profundamente agradecida por todo lo que hicieron posible.

A todos, gracias de corazón. Este logro es tan mío como de cada uno de ustedes, porque sin su apoyo, comprensión y generosidad, este sueño no habría sido posible.

Gracias por su generosidad y por ser parte de este sueño hecho realidad.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	Verónica Mariana Hernández Ramírez
Fecha de nacimiento	03 de febrero de 1999
Lugar de nacimiento	Ciudad de México, México.
CURP	HERV990203MDFRMR07
Profesión	Ingeniera Agrónoma Especialista en Zootecnia
Cédula Profesional	13018940

Desarrollo académico

Maestría en Ciencias (2023-2024)	DEIS en Zootecnia Posgrado en Producción Animal Universidad Autónoma Chapingo
Licenciatura (2017-2021)	DEIS en Zootecnia Universidad Autónoma Chapingo
Preparatoria (2014-2017)	Universidad Autónoma Chapingo Preparatoria Agrícola

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN AERÓBICA SEMISÓLIDA DE NOPAL PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

CHARACTERIZATION OF THE SEMI-SOLID AEROBIC FERMENTATION PROCESS OF NOPAL FOR ANIMAL FEED

Resumen

En la fermentación aeróbica semisólida del nopal (*Opuntia spp.*), se evaluó el efecto de la adición de inóculo: hongo *Aspergillus oryzae*, levadura *Saccharomyces cerevisiae* y bacterias lácticas *Lactobacillus plantarum*. Muestras de nopal finamente molidas, se colocaron en una mezcladora horizontal abierta con movimiento intermitente, incorporando: urea (60 g), fosfato diamónico (60 g), sulfato de amonio (8 g) e inóculos. Fermentaciones (10 kg): F1: fertilizantes + hongo 10 g + levadura 1 (5 g), BAL (0.05 g); F2: fertilizantes + hongo (38 g), levadura 1 (40 g), BAL (10 g); F3: F1, sin hongo, F4: F1, sin levadura y F5: F1 sustituyendo levadura 1 por 2. Cada fermentación se realizó en ciclos de 6 h (media hora movimiento, media hora descanso) y 18 h de reposo (total 24 h). Se tomaron muestras (0, 6, 12 y 24 h) y midió pH, temperatura, densidad y contenido UFC (muestras frescas) y análisis proximal (MS, PC, FDN, FDA, EE, Cen) y pruebas de producción de gas *in vitro* para determinar digestibilidad y características fermentativas (muestras liofilizadas). Análisis estadístico, con diseño de completamente al azar (DCA) para pH, TM, Dens y análisis proximal y bloques completamente al azar (DBCA) para fermentación *in vitro*, para el segundo se consideraron dos repeticiones en el tiempo, los tratamientos (F1 a F5), tres repeticiones por tratamiento de cada tiempo (0, 6, 12, 24 h) y los frascos como unidades experimentales. En F1 y F2, las BAL y levaduras mostraron crecimiento óptimo inicial con pH favorable (4.5-5.0), mejorando el contenido de PC (22.2 %), la calidad y digestibilidad se mejoró con uso de levadura; F1 aumentó FFR, pero no FFM; F3 destacó en fermentación y digestibilidad (87.12 %). F1, mejora el valor fermentativo del nopal, representando una alternativa de alimentación animal, aumentando el valor nutricional (6.45 % a 21.6 % de PC en 24 h).

Palabras clave: *Opuntia*, fermentación semisólida, proteína cruda, cinética ruminal.

Abstract

In the semi-solid aerobic fermentation of prickly pear cactus (*Opuntia spp.*), the effect of inoculum addition was evaluated, including the fungus *Aspergillus oryzae*, the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, and the lactic acid bacteria (LAB) *Lactobacillus plantarum*. Finely ground cladode samples were placed in an open horizontal mixer with intermittent motion, incorporating urea (0 g), diammonium phosphate (60 g), ammonium sulfate (8 g), and the respective inocula. The fermentation batches (10 kg each) were as follows: F1: fertilizers + fungus (10 g) + yeast strain 1 (5 g), LAB (0.05 g); F2: fertilizers + fungus (38 g), yeast strain 1 (40 g), LAB (10 g); F3: same as F1, without fungus; F4: same as F1, without yeast; F5: same as F1, substituting yeast strain 1 with strain 2. Each fermentation was carried out over 24 hours, consisting of 6 hours of cycling (30 minutes agitation, 30 minutes rest) followed by 18 hours of rest. Samples were collected at 0, 6, 12, and 24 hours to measure pH, temperature, density, and CFU content (from fresh samples). Proximate analyses (dry matter, crude protein, NDF, ADF, ether extract, ash) and *in vitro* gas production tests were conducted on freeze-dried samples to assess digestibility and fermentation characteristics. Statistical analyses were performed using a completely randomized design (CRD) for pH, temperature, density, and proximate composition, and a randomized completely block design (RCBD) for *in vitro* fermentation. Two-time repetitions were considered for the latter, with treatments (F1-F5), three replicates per treatment per time point (0, 6, 12, and 24 h), and the fermentation flasks considered experimental units. In treatments F1 and F2, both LAB and yeast exhibited optimal initial growth under favorable pH conditions (4.5-5.0), improving crude protein content (up to 22.2%). The use of yeast enhanced both quality and digestibility; F1 increased rapidly fermentable fiber (RFF) but not slowly fermentable fiber (SFF). F3 stood out for fermentation performance and digestibility (87.12%). F1 improved the fermentative value of prickly pear cactus, representing a viable alternative for animal feeding by increasing its nutritional value (from 6.45 to 21.6% crude protein in 24 hours).

Key words: *Opuntia*, semi-solid fermentation, crude protein, ruminal kinetics.

Tesis de Maestría en Ciencias en innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal,
Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Verónica Mariana Hernández Ramírez
Director de Tesis: Gilberto Aranda Osorio

Master Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program in Animal Production, Universidad
Autónoma Chapingo
Author: Verónica Mariana Hernández Ramírez
Advisor: Gilberto Aranda Osorio

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La problemática en las zonas áridas y semiáridas es la limitada producción de alimento de calidad para los animales. El nopal (*Opuntia spp.*) es una planta que se adapta a dichas zonas y representa una opción de alimentación para el ganado; se ha buscado incorporar el nopal en dietas de producción animal e incrementar su calidad para obtener beneficios al ser consumido por los animales; este recurso se aprovecha de diversas formas: nopal fresco picado como fuente de hidratación (Torres-Ponce et al., 2015), seco para favorecer su conservación y hacer uso de este en períodos críticos de escasez (Sáenz et al., 2006), ensilado como método de conservación y con la finalidad de preservar sus nutrientes (Araiza-Rosales et al., 2021), en fermentación líquida para aprovechar el contenido de humedad incrementando el porcentaje de proteína (Hernández & Boyzo, 2020), fermentación aeróbica semisólida logrando incrementar el contenido de proteína cruda y la energía metabolizable en función del material disponible (Hernández et al., 2019) y harina de nopal para facilitar su inclusión en raciones balanceadas (Torres-Ponce et al., 2015).

Sin embargo, su composición nutricional puede ser limitada por la baja proporción de proteína cruda; para superar esta restricción, el proceso de fermentación se ha convertido en una herramienta biotecnológica clave, al incrementar el valor proteico y mejorar la digestibilidad del nopal. La fermentación con aditivos como urea y sulfato de amonio ha demostrado potenciar su calidad como forraje, contribuyendo en dietas equilibradas y sostenibles, este enfoque no solo promueve la productividad ganadera, sino que también ofrece una alternativa viable frente a insumos alimenticios más costosos.

Entre los microorganismos utilizados para enriquecer el nopal están: hongo (*Aspergillus oryzae*) que actúa como enzima para facilitar la degradación de polisacáridos, proteínas y lípidos (Casas, 2018); y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ya que su incorporación en dietas aumenta la proteína (Herrera-Torres et al., 2014).

Además, en el proceso de enriquecimiento del nopal se utilizan fertilizantes (urea, sulfato de amonio y DAP fosfato diamónico) (Díaz-Plascencia et al. 2012). Se han realizado investigaciones como la de Rodríguez, A., Calderón, F., & López, G. (2010); Campos (2012) y Martínez-Méndez et al. (2019), entre otras, para aumentar la proteína en este forraje, caracterizando dicho proceso de enriquecimiento a través de una fermentación líquida aeróbica, utilizando cladodios de nopal licuados y colocados en un biodigestor con agitación constante, incorporando microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) y encontrando que la fermentación aumenta la proteína y la digestibilidad mediante la disminución de carbohidratos solubles por la acción de los microorganismos.

El problema principal de la caracterización realizada por Martínez-Méndez et al. (2019) es que al presentar la fermentación líquida como alternativa, el hongo utilizado no se encuentra de forma comercial y esto dificulta la transferencia tecnológica, así como la adopción de dicha innovación por parte de productores agropecuarios, debido a que ellos buscan soluciones accesibles, prácticas y de bajo costo, por ello, la presente investigación se justifica por la necesidad de abordar este problema mediante la evaluación, caracterización y ajuste de los ingredientes de la fermentación aeróbica semisólida del nopal.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la cantidad de microorganismos, el retiro del hongo, la levadura, y la sustitución de fuentes de levadura en fermentaciones de nopal, para obtener información sobre la calidad del nopal enriquecido en función del estado de los recursos disponibles.

En el Capítulo 2 se presenta la revisión de literatura, donde se describe la problemática ambiental, composición nutricional del nopal, utilización de microorganismos y estudios sobre enriquecimiento de nopal.

El Capítulo 3 muestra información de las variables analizadas en las fermentaciones como pH, temperatura (TM), materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), cenizas (Cen), extracto etéreo (EE) y conteo de población microbiana (CPM), la caracterización del proceso de fermentación aeróbica semisólida del nopal para la alimentación animal y la

adaptación ruminal de las fermentaciones de nopal (F1, F2, F3, F4, F5) mediante parámetros de fermentación ruminal *in vitro* y producción de metano.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Impacto del cambio climático en la oferta de alimento en zonas áridas y semiáridas

El cambio climático representa uno de los principales retos ambientales y socioeconómicos actuales. De acuerdo con el Panel intergubernamental sobre el cambio climático (IPCC por sus siglas en inglés - Intergovernmental Panel on Climate Change), según sus investigaciones, se afirma que desde inicios del siglo XX las temperaturas globales han subido aproximadamente 1.1 °C, con efectos significativos en los patrones climáticos y los ecosistemas; entre los impactos del cambio climático se encuentran el aumento en la frecuencia e intensidad de fenómenos climáticos extremos, como sequías, inundaciones y tormentas (IPCC, 2021).

En las regiones donde predomina la sequía, el cambio climático intensifica los problemas de disponibilidad de agua y degradación del suelo, impactando negativamente en la producción agrícola y la seguridad alimentaria (CONAGUA, 2020). Se espera que estas regiones enfrentarán variabilidad climática, lo que complica la adaptación de los sistemas agrícolas tradicionales (Magrin et al., 2014) lo cual conlleva a incrementar la escasez de alimento. El 60 % del territorio nacional (zonas áridas y semiáridas) es susceptible a cambios climáticos (SEMARNAT, 2017); en estas áreas el acceso a tecnologías agrícolas avanzadas es deficiente y los pequeños productores dependen de métodos agrícolas tradicionales para enfrentar dichas condiciones extremas (FAO, 2019).

El cambio climático ha tenido fuerte impacto en muchas de las variables climáticas y de producción de alimentos en las regiones áridas y semiáridas de México, incluidos los estados de Coahuila, Zacatecas y la región Mixteca de Puebla; por ejemplo, en Coahuila, en la Comarca Lagunera el cambio climático se traduce en la disponibilidad de agua y en la producción de maíz; la temperatura creciente y la variación de las precipitaciones han dado lugar a la disminución de la productividad agrícola, aumentando así la vulnerabilidad de los sistemas de producción locales y

como resultado, se produce un aumento en la demanda de agua para riego y una reducción de las cosechas de maíz, entre otros (Roblero, 2009; Hernández, 2022).

En el estado de Zacatecas, la temperatura media anual ha presentado incremento y la precipitación media anual ha reflejado una disminución en el periodo 2011-2020 principalmente; estos cambios en las condiciones climáticas han generado carencia hídrica mayormente reflejado en la actividad agrícola, viéndose afectada la producción de cultivos importantes en la región y llevando a reducir la superficie sembrada, así como a conflictos socioambientales relacionados con el uso de este líquido vital (García-Bandala et al., 2022).

En cultivos como el maíz y las hortalizas la producción más afectada se refleja en la región Mixteca de Puebla, la variabilidad climática ha afectado la agricultura, estas alteraciones provocan alteraciones en los patrones de precipitación para ello se introducen estrategias de adaptación, diversificación de cultivos y prácticas agrícolas para mitigar los efectos negativos del cambio climático (Ramírez-Huerta et al., 2021).

2.2 El nopal

2.2.1 Clasificación taxonómica del nopal

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Género: *Opuntia* y *Nopalea*

Especie: *Opuntia ficus-indica*

(Griffith, 2004; Scheinvar, 2007).



Dentro de la familia Cactaceae, el género con mayor número de especies registradas es *Opuntia*, y en México destaca principalmente: *Opuntia ficus-indica* (para su uso como nopal tunero o nopal verdura), *Opuntia robusta* y *Opuntia streptacantha* (conocido también como nopal cardón). El otro género con gran importancia (económica) es *Nopalea*, destacando con *Nopalea cochenillifera* (para su uso en la producción de cochinilla) (Bravo-Hollis, & Sánchez-Mejorada, 1991; Guzmán et al., 2003; Scheinvar, 2007).

Las principales variedades utilizadas a lo largo del territorio mexicano y según el propósito comercial son:

- Para nopal verdura: Atlixco, Milpa Alta, Copena F1, Copena V1 y Villanueva.
- Para nopal destinado para tuna: nopal Rojo pelón, Cristalina, Blanca Burrón y Amarilla Olorosa.
- Nopal para xoconostle: Cuaresmeño, Rosa, Blanco y Xoconostle prieto.
- Nopal forrajero: Copena F1, Copena R1, Copena R2, Amarillo y Rojo Coyame (Elizondo-Elizondo & Aguirre-Rivera, 2000; Scheinvar, 2007; Hernández-Bonilla et al., 2020).

Dentro de los componentes estructurales del nopal encontramos los cladodios o pencas que son los responsables de realizar la fotosíntesis y almacenar agua; las espinas que ayudan con la reducción de pérdida de agua y el sistema radicular el cual es el encargado de optimizar la captar de agua de lluvias (Zúñiga-Tarango et al., 2009).

La adaptación del nopal para minimizar la pérdida de agua es gracias a su metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), recordando que, durante la noche, los estomas se abren para captar CO₂, que se almacena y la regulación osmótica controla la apertura y cierre de los estomas (Andrade et al., 2007).

El fotoperiodo y la temperatura son factores que influyen en la inducción de la floración, esto dependiendo de la duración del día y las temperaturas durante éste (Víctor-Gómez et al., 2020).

El nopal es una planta que hace un uso eficiente del agua pues ha desarrollado adaptaciones fisiológicas y morfológicas, lo cual aporta a la producción de biomasa, siendo esta significativa aun en condiciones de sequía y esto debido principalmente a la apertura nocturna de estomas, ya que, durante la noche, abren los estomas para captar dióxido de carbono (CO_2), pero también para reducir la pérdida de agua por transpiración; la fotosíntesis diurna ayuda a liberar el CO_2 almacenado, dando paso a la producción de biomasa con una mínima pérdida de agua (Nobel, 2001; Snyman, 2006; Bacarrillo-López et al., 2021).

2.2.2 Usos del nopal

En el ámbito alimenticio el nopal es utilizado en la gastronomía para una gran diversidad de platillos, como ensaladas y guisados calientes ya que aporta fibra, proteína y vitaminas A, C y K; la harina de nopal, es valorada por su aportación de fibra dietética, compuestos fenólicos y flavonoides, pues contribuyen a disminuir el riesgo de enfermedades crónicas degenerativas y cardiovasculares (Torres-Ponce et al., 2015; Diego-Zárate et al., 2021; Luna-Zapién et al., 2023).

El nopal cuenta con propiedades medicinales que han sido reconocidas ya que una dieta basada en este podría beneficiar a pacientes con obesidad o diabetes; contribuyendo a la regulación de los niveles de glucosa en sangre por su alto contenido de fibra y mucílago, valorando este alimento como un alimento funcional con beneficios directos sobre la salud (Zou et al., 2005; Torres-Ponce et al., 2015).

En la industria para cosméticos, la "baba de nopal", como comúnmente se conoce al mucílago de esta planta, ha despertado gran interés en la investigación debido a su capacidad para hidratar y regenerar la piel de forma natural; el nopal también es utilizado en productos por sus componentes nutritivos como las vitaminas A y C para contribuir a la regeneración celular, debido a que ayudan a revitalizar y fortalecer las células, promoviendo un aspecto más saludable; estas vitaminas y nutrientes favorecen la reparación, hidratación y regeneración de la piel, y son empleados en productos destinados a pieles dañadas, con cicatrices o para antienviejecimiento, sin embargo, también se le atribuyen beneficios como: control de grasa y acné, protección contra factores ambientales (rayos UV), propiedades antioxidantes

(capacidad para eliminar impurezas y toxinas y propiedades calmantes), desintoxicación y purificación de la piel, así como propiedades nutritivas para tratamientos capilares (Stintzing & Carle, 2005; Gómez-Mascaraque & Martínez-Villaluenga 2021; Andrade-Linares & Sánchez-Ávila, 2022).

En la elaboración de bebidas el nopal juega un papel importante, no sólo por sabor sino también por sus beneficios para la salud, pues su jugo se consume por sus propiedades antioxidantes y su capacidad para regular los niveles de azúcar en sangre y al ser un ingrediente con gran versatilidad también se ha incorporado en bebidas alcohólicas siendo productos innovadores (Zegbe et al., 2015).

2.2.3 Zonas productoras de nopal

El nopal (*Opuntia spp.*) crece en zonas áridas y semiáridas; destaca por su diversidad de especies y su amplia distribución geográfica en México (Torres-Ponce et al., 2015). Según el SIAP (2023), se destinan 12,630 hectáreas al cultivo de nopal verdura distribuidas en 27 estados con una producción anual de 796,953 toneladas para producción intensiva y semi intensiva de tuna y nopal verdura.

Debido a las características fisiológicas, el nopal puede ser cultivado a bajo costo y su amplia adaptabilidad ha permitido un notable incremento en las plantaciones comerciales destinadas a la producción de fruta y verdura, especialmente en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Jalisco y el Estado de México (Blanco et al., 2006). Sin embargo, los principales estados productores de nopal verdura son: Morelos, que aporta a la producción nacional con el 46.6 %, Ciudad de México con 22.7 % y Estado de México, Jalisco, Puebla y Michoacán con un 21.5 % (SIAP, 2023).



Figura RL 1. Mapa de los lugares donde se tiene mayor producción de nopal verdura, tuna y nopal forrajero (CONABIO, 2023).

En cuanto a la producción de nopal para tuna, Zacatecas aporta a la producción nacional con un 48.3 % (siendo el principal productor), Puebla lo hace con el 24.1 %, el Estado de México con el 14.6 %, San Luis Potosí aportan el 13 % y otros estados el resto. Para la producción de nopal forrajero encontramos que Coahuila contribuye con una producción del 84.5 %, Aguascalientes lo hace con el 11.4 % y Zacatecas con el 4.2 % de la producción nacional. Teniéndose una superficie total de 45,000 hectáreas para producción de tuna, 12,799 hectáreas para producción de nopal verdura y 12,081 hectáreas para producir nopal forrajero a nivel nacional (SIAP, 2024).

En el Cuadro 1 de superficie total cultivada y volumen de producción de nopal (*Opuntia spp.*) en el país, se considera una superficie de producción nacional total para: nopal verdura de 12,799 ha, tuna 45,000 ha y forraje 12,081 ha considerado una producción nacional total para: nopal verdura 872,300 ton, tuna 444,000 ton y forraje 130,000 ton (SIAP, 2023; SIAP, 2024).

Cuadro RL 1. Superficie total cultivada y volumen de producción de nopal (*Opuntia spp.*) en el país.

Objetivo de producción	Estado	Superficie (ha)	Volumen de producción (ton)
Nopal verdura	Morelos	5,923	389,045.8
	Ciudad de México	2,234	19,8012.1
	Estado de México	1,088	87,767
	Jalisco	518	35,610
	Puebla	469	32,289
	Michoacán	442	21,724
Tuna	Estado de México	15,967	154,512
	Zacatecas	11,688	96,348
	Puebla	4,868	121,214
Forraje	Coahuila	10,207	109,850
	Aguascalientes	1,377	14,820
	Zacatecas	507	5,460
	Total	55,288	1,266,651.90

Fuente: SIAP, 2023; SIAP, 2024.

2.2.4 Composición nutricional

El nopal, compuesto por 90 % de agua en peso fresco, y 6 % de proteína y 4 % de calcio en peso seco (Felker et al., 2006), es valorado por su perfil nutricional (De Farias et al., 2023).

- **Macronutrientes:** contiene carbohidratos (3-7 %), principalmente en forma de fibra dietética, y posee bajo contenido de lípidos (< al 1 %).
- **Vitaminas y minerales:** fuente de vitamina C (14-30 mg por 100 g), betacaroteno (provitamina A), y minerales como calcio (80-100 mg por 100 g), magnesio (50-80 mg por 100 g) y potasio (160-220 mg por 100 g).
- **Compuestos bioactivos y antioxidantes:** contiene flavonoides (0.02-0.10 %), polifenoles (0.1-0.3 %), betacaroteno (0.001-0.004 %) y otros antioxidantes (Felker et al., 2006; De Farias et al., 2023).

Cabe mencionar que los valores de nutrientes, vitaminas, minerales y otros compuestos cambian con la edad de la penca.

En el Cuadro 2, se muestra la composición nutricional del nopal (*Opuntia spp.*) con su valor promedio para cada uno de los componentes.

Cuadro RL 2. Composición nutricional del nopal (*Opuntia spp.*)

Componente	Valor promedio	Fuente
Humedad	91 %	Quishpi et al., 2024
	89 %	Ayala & Calderón, 2015
	91 %	Gallegos-Vázquez et al., 2011
	91 %	Ramírez-Moreno et al., 2016
Proteínas*	1.50 %	Sáenz et al., 2010
	2.25 %	Contreras-Padilla et al., 2016
	1.60 %	Medina-Torres et al., 2005
	2.50 %	Esquivel et al., 2011
Grasas	0.20 %	Bautista et al., 2015
	0.20 %	Echeverría & Arias, 2009
	0.15 %	Martínez et al., 2013
	0.175 %	García-De-Alba et al., 2018
Carbohidratos	10 %	Mena et al., 2014
	4 %	Bautista et al., 2015
	5.75 %	Gutiérrez et al., 2013
Fibra	7.0 %	Gutiérrez et al., 2013
Cenizas	5.65 %*	Flores-Hernández et al., 2017
		Víctor-Gómez et al., 2020
Vitaminas	A (betacarotenos): 250 µg C: 8 mg; B2: 0.05 mg B3: 0.46 mg	Chukwuma & Islam, 2015
Minerales	Calcio: 164 mg	Gutiérrez et al., 2013
	Hierro: 164 mg	
	Magnesio: 52 mg	

Mucílago

Polisacáridos

Medina-Torres et al., 2005

Arabinosa: 10.1–44.0 %

Galactosa: 20.4–33.0 %

Xilosa: 5.1–22.1 %

* Con base en materia seca.

** Calcio (200 mg/100 g), hierro (1.5 mg) y magnesio (60 mg)

2.2.5 Composición microbiológica

El nopal está compuesto por una diversidad de microorganismos, incluyendo bacterias y hongos, que desempeñan funciones clave en el entorno ecológico de la planta y en su desarrollo. Investigaciones han identificado bacterias del género *Bacillus spp.* y *Pseudomonas spp.* en concentraciones que pueden llegar hasta 10^6 UFC por gramo de tejido de nopal; esta densidad bacteriana sugiere un papel significativo en la mejora de la resistencia de la planta frente a condiciones adversas y en la promoción de su crecimiento (Sottile et al., 2021; De Farias et al., 2023). Los hongos micorrícicos arbusculares establecen relaciones simbióticas con el nopal, representan entre el 2 y 5 % del peso seco de la biomasa de las raíces y son esenciales para la absorción de nutrientes como fósforo y nitrógeno, además de ofrecer protección contra patógenos presentes en el suelo (Gama et al., 2021).

2.2.6 Variedades para producción de verdura, forraje y tuna

Atlixco: se caracteriza por su alta capacidad de retención de agua, es adecuada para su cultivo en climas áridos. Su principal uso es en la alimentación del ganado, debido a su excelente perfil nutricional, que incluye un alto contenido de fibra y bajo nivel de lignina, esto facilita la digestión en los rumiantes; además, contribuye a la salud general del ganado al mejorar la actividad antioxidante cuando se incorpora en la dieta (Dubeux et al., 2021).



Ilustración RL 1. Nopal variedad Atlixco

Blanco Edo. Méx: la variedad Blanco tiene una capacidad de retención de agua moderada (inferior a la Atlixco), contiene menos fibra que Atlixco y posee un contenido ligeramente mayor de carbohidratos solubles, lo que la hace útil en dietas que requieren un mayor aporte energético, pero es más susceptible a plagas en comparación con Atlixco y Copena F1 (De Lima et al, 2021; Dubeux et al., 2021).



Ilustración RL 2. Nopal variedad Blanco

Copena F1: se distingue por su rápido crecimiento y alta productividad, su contenido de agua es similar al de Atlixco y tiene una capacidad de retención ligeramente menor; además, es valorada en sistemas de producción intensiva por su alta productividad por hectárea, buena tolerancia al estrés hídrico y se cultiva en áreas

con un suministro de agua más constante que Atlixco, por lo que representa una opción excelente para cultivos comerciales (Flores et al., 1995; Ali et al., 2023).



Ilustración RL 3. Nopal variedad Copena F1

Milpa Alta: Variedad utilizada para producción de nopal verdura, que se distingue por tener pencas tiernas, con bajo contenido de fibra en comparación con otras variedades, recomendada también para utilizarse en consumo de pencas frescas (Maya-Higuera, 2015; Espinosa-Chávez, 2024).



Ilustración RL 4. Nopal variedad Milpa Alta

COPENA V1: Variedad seleccionada con el objetivo de obtener un alto rendimiento en la producción de frutos (tunas) pero también de verdura y apreciada por su composición química y adaptabilidad a diversas condiciones climáticas; presenta ausencia de espinas, esta característica es benéfica para su manejo y trabajo de

cosecha, cuenta con cladodios de medianos a grandes; preciada por su fruto de color morado con sabor dulce agradable (Barrientos, 1965; Quintero-Lira et al., 2024).



Ilustración RL 5. Nopal variedad COPENA V1

Cristalina: Desarrolla tunas de pulpa blanca jugosa con cáscara delgada y de sabor dulce, así como textura suave, en la región centro de México es una variedad apreciada debido a que tiene un ciclo de maduración intermedio, resistente a plagas y enfermedades con crecimiento rápido y ligera presencia de espinas (Marín-Campos et al., 2024).



Ilustración RL 6. Nopal variedad cristalina

En el Estado de México la producción anual es liderada por la producción de tuna y xoconostle, obteniendo una cosecha cercana a las 298 mil toneladas anuales, ocupando con la producción de nopal verdura el tercer lugar. El municipio de San Martín de las Pirámides destaca por tener una producción de 15 mil toneladas anuales de tuna aproximadamente, las cuales son cultivadas en 650 hectáreas con

apoyo de 300 productores, albergando más de 15 empresas agroindustriales dedicadas a la transformación de estos productos; en la parte del uso del nopal como forraje este es utilizado aprovechando las podas y residuos de dicha planta por su alto contenido de agua y nutrientes que aporta para el ganado, especialmente en zonas áridas donde otras fuentes de forraje son limitadas (SADER, 2015; Salinas, 2022).

2.3 Alternativas de aprovechamiento del nopal para la alimentación animal

El nopal al ser una planta que se adapta a zonas con poca precipitación y largos periodos de escasez de agua es una opción de alimentación para el ganado; por ello su inclusión en la producción animal es importante. En las últimas décadas, se ha convertido en alimento para animales con potencial por la gran cantidad de agua, fibra y su capacidad de crecer en condiciones áridas (Santamaria-Estrada et al., 2018).

Una forma de utilización del nopal es ofrecerlo fresco y picado, principalmente como alimento (forraje) en épocas de sequía y para ganado bovino, caprino, ovino y equino; constituye una opción en la alimentación por su alto contenido de agua en sistemas de producción animal en zonas áridas y semiáridas (Torres-Ponce et al., 2015; Borrás-Sandoval & Torres-Vidales, 2016). El nopal de esta forma se ocupa en regiones donde no hay disponibilidad de forraje fresco, y hacer uso de este en periodos críticos (Sáenz et al., 2006), si el nopal se ofrece fresco en tiras se puede realizar una mezcla con este y otros forrajes o concentrados con la finalidad de facilitar el consumo por el ganado (Allen et al., 2011); para aumentar su composición nutricional se combina con paja, alfalfa y otros subproductos agrícolas (Tripathi et al., 2007), otra forma de emplear el nopal para alimentación de ganado es por medio de bloques multi nutricionales que ayuden al control del consumo y la energía de forma progresiva, ya que se puede combinar con melaza, urea y otros ingredientes (Castillo et al., 2009). Algunas de las ventajas de hacer uso del nopal fresco en la alimentación animal son, aporta alta digestibilidad (fibra fermentable en el rumen), es fuente de energía y minerales, como calcio, magnesio y otros oligoelementos (Tripathi et al., 2007). El nopal en harina se usa para facilitar su inclusión en raciones

balanceadas siendo más fácil su adición y teniendo efectos positivos en el incremento de peso y consumo (Torres-Ponce et al., 2015).

El proceso de elaboración del ensilaje de nopal se lleva a cabo mediante una fermentación anaeróbica controlada del material vegetal para preservar sus nutrientes y mejorar su palatabilidad; en estudio realizado por Cruz et al. (2024) analiza la elaboración de ensilaje con nopal picado y melaza como fuente energética, mezclado con otros forrajes secos para tener un mejor ensilado.

La fermentación líquida aeróbica del nopal trabaja con microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* y urea, entre algunos otros aditivos, para potenciar la fermentación. Porcayo-Cabrera (2024) analizó el impacto de diversos aditivos en la calidad nutricional de la fermentación de nopal, incluyendo melaza, inóculos bacterianos y urea; los hallazgos indicaron que la adición de urea aumentó casi tres veces el contenido de proteína cruda después de 72 horas de fermentación y mejoró la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, lo que la posiciona como una alternativa viable en la alimentación de rumiantes.

La fermentación aeróbica semisólida del nopal con la adición de urea, sulfato de amonio y aditivos como levadura, hongos y bacterias, incrementa significativamente el contenido de proteína cruda de 2 a 3 veces y la energía metabolizable, mejorando su valor como suplemento alimenticio para rumiantes. Para ser más precisos, con ayuda de la fermentación aeróbica semisólida se ha logrado elevar su contenido de proteína cruda de 7.08 % hasta 33.52 %. Este incremento justifica su funcionalidad para su utilización como suplemento proteico en la alimentación animal, mejorando su aporte nutricional para rumiantes; además incrementa la energía metabolizable del nopal de 2.31 a 2.64 Mcal·kg⁻¹, lo que lleva a una mejora en su aporte energético; este tratamiento fermentativo reduce la concentración de carbohidratos no fibrosos es decir solubles de 55.03 % a 25.77 % (azúcares simples como glucosa y fructosa, almidones, pectinas, ácidos orgánicos solubles), siendo benéfica esta reducción para los rumiantes, porque previene desórdenes digestivos, ayudando a mantener un pH ruminal estable, mejorando el balance nutricional y favoreciendo la digestión aumentando la utilización del alimento (Hernández et al., 2019); sin

embargo, si bajan los carbohidratos solubles, el contenido energético aumenta ya que durante el proceso de fermentación los microorganismos logran transformar parte de los carbohidratos solubles en compuestos como los ácidos orgánicos, con ello, se incrementa la disponibilidad energética de celulosa y hemicelulosa, que presentan menor digestibilidad (en condiciones normales); esta misma disminución evita el desarrollo de fermentaciones rápidas manteniendo así un pH estable, promoviendo el desarrollo de bacterias celulolíticas y mejorando la degradación de la fibra, elevando la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs), que en dietas para rumiantes representan una fuente energética predominante (Araiza-Rosales et al., 2021).

2.3.1 Proceso de fermentación aeróbico del nopal

La fermentación es un proceso metabólico donde microorganismos como bacterias, levaduras y hongos transforman los azúcares en otros productos, este proceso se clasifica en tipos, con características y aplicaciones específicas (Muck, 2013); la técnica de fermentación en estado sólido es importante en la producción de alimentos para animales, ya que favorece que se aprovechen este tipo de sustratos, entre los cuales se encuentran los residuos agroindustriales.

Tipos de fermentación (Borrás-Sandoval & Torres-Vidales, 2016):

Fermentación láctica (fermentación anaeróbica, es decir, sin oxígeno; para conservación de forrajes) en ella las bacterias transforman los azúcares en ácido láctico, mantienen el alimento libre de patógenos y con ellos se asegura una vida útil más larga, un ejemplo es la producción de yogurt y otros productos lácteos fermentados y se aplica para alimentación animal para producción de ensilados.

Fermentación alcohólica (fermentación anaeróbica), hace uso de levaduras, éstas transforman los carbohidratos en etanol y dióxido de carbono, este proceso es utilizado, por ejemplo, para la producción de etanol a partir de subproductos agrícolas como caña de azúcar y maíz para biocombustibles o suplementos alimentarios y en general para la elaboración de bebidas alcohólicas (vino, cerveza, etc.), teniendo utilidad de forma indirecta en la producción de subproductos (bagazo

de cerveza, pulpa de agave mezcal/tequila, residuos de vinificación, desechos de destilería), usados en alimentación de rumiantes y cerdos, ya sea ensilados o secos.

La fermentación en estado sólido se apoya de microorganismos los cuales son los encargados de degradar residuos fibrosos, obteniendo productos de valor nutritivo más alto como proteínas microbianas o enzimas, mejorando con ello el aporte de nutrientes, ejemplos: producción de hongos comestibles, obtención de enzimas industriales (amilasas, proteasas), ensilados de diversos forrajes como maíz, alfalfa y nopal para mejorar digestibilidad (Torres-Vidales, 2016).

La fermentación aeróbica ocurre en presencia de oxígeno, permitiendo la oxidación completa de la glucosa, como consecuencia, resulta una mayor eficiencia energética y una producción elevada de ATP, con el oxígeno como aceptor final de electrones, ejemplos: producción de compostaje con restos de productos agrícolas, biodegradación de residuos orgánicos para biofertilizantes, fermentación aeróbica semisólida de nopal para mejorar su perfil proteico (Owens & Goetsch, 2013).

2.4 Fermentación de nopal

Alrededor del 2006, se llegó a definir el proceso de enriquecimiento proteico del nopal para alimentación animal, por el Grupo de Investigadores del Programa Nopal, de la Universidad Autónoma Chapingo, incluye:

- 1.- Licuar cladodios de una madurez entre 6 y 12 meses, de variedades con y sin espinas, a través de una licuadora industrial propulsada por un motor de 15 caballos de fuerza, conectado a una bajada trifásica.
- 2.- Llenar un biodigestor con capacidad de 100 kg de cladodios licuados, propulsado por un motor de un caballo de fuerza conectado a una bajada trifásica, compuesto de dos cilindros, uno interno que contiene una banda helicoidal para dar movimiento a la mezcla, pasando del cilindro interno al externo y luego regresando.
- 3.- Inocular con el hongo (*Aspergillus oryzae*), levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias lácticas (*Lactobacillus plantarum*).
- 4.- Adicionar fertilizantes (sales minerales): urea, superfosfato simple de calcio y sulfato de amonio, como fuente de nutrientes para los microorganismos.

5.- La mezcla de fertilizantes y microorganismos se agrega cuando el licuado se encuentra en movimiento para realizar la fermentación líquida aeróbica por 48 h. Después de ese periodo se obtiene la sopa de nopal o nopal enriquecido con proteína; la mezcla pasa de 3-5 % a 20-25 % de PC. Posteriormente, se retira el 90 % del licuado del biodigestor y el 10 % restante se utiliza como inóculo para las siguientes fermentaciones, en donde sólo se añaden los fertilizantes, y la fermentación se realiza por 24 h. Este proceso se puede repetir las veces que sea necesario (2000Agro, 2007).

2.5 Factores fisicoquímicos y biológicos que influyen en la fermentación

El pH es crucial para la actividad enzimática y la estabilidad de los microorganismos, y este proceso se desarrolla de manera óptima en un rango de pH entre 5 y 7 (Muck, 2013).

En ensilados, Coblenz et al. (2022) afirman que una mayor densidad limita la entrada de oxígeno, disminuye el crecimiento de microorganismos como levaduras y hongos que descomponen los ácidos y se eleva el pH.

La temperatura también afecta la velocidad de la fermentación, siendo óptima entre 25 °C y 37 °C, dependiendo del tipo de microorganismo (Owens & Goetsch, 2013). Se debe controlar adecuadamente la temperatura en estos procesos, para prevenir la inhibición del crecimiento microbiano y como consecuencia las enzimas no participan en la división de los componentes de los sustratos alimenticios (Schulte, 2015).

La disponibilidad de oxígeno es fundamental para la fermentación aeróbica, ya que una cantidad insuficiente puede ralentizar el proceso, mientras que un exceso podría causar estrés oxidativo en los microorganismos (Weimer et al., 2016). Además, la concentración de nutrientes como carbohidratos y nitrógeno impacta la eficiencia del proceso, ya que tanto la deficiencia como el exceso de dichos nutrientes pueden afectar la fermentación (McDonald et al., 2013).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) pertenecen al grupo de bacterias Gram-positivas, cuya principal característica es la producción de ácido láctico mediante la

fermentación de carbohidratos; los mecanismos antagónicos de las BAL incluyen su capacidad para disminuir el pH del entorno, creando un ambiente desfavorable para el desarrollo de otros microorganismos que requieren un pH cercano a la neutralidad para su supervivencia (Jurado-Gómez & Jarrín-Jarrín, 2015).

2.6 Uso de microorganismos en alimentación de rumiantes

Las bacterias y los hongos que fomentan el crecimiento de otros microorganismos (probióticos), se introdujeron en la alimentación animal en la década de 1970, Reinhold J. H. Parker fue el primer científico en usar el término "probiótico" en 1974 (Casas, 2018; Reid, 2016).

2.6.1 Levaduras

Para Sahara et al. (2014) *S. cerevisiae* (de "*Saccharo*" azúcar, "*myces*" hongo y "*cerevisiae*" cerveza) es un hongo que eleva la cantidad y actividad de bacterias anaeróbicas totales y celulolíticas, lo que modifica la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), el pH ruminal y el nitrógeno amoniacal; este microorganismo aumenta el consumo de alimento, la producción de leche, la conversión alimenticia y la ganancia diaria de peso. Olmedo et al. (2015) afirmaron que su incorporación en dietas aumenta la degradabilidad de la fibra. Además, puede degradar y colonizar tejidos de alimentos altamente lignificados de forrajes tropicales y solubilizar las partes lignificadas de las paredes celulares de las plantas, sus celulasas son consideradas las más eficaces en la descomposición de la celulosa cristalina (Sosa et al., 2010; Zicarelli et al., 2016).

Elghandour (2016) sugiere que, añadir levaduras a las dietas de becerros pre-rumiantes puede ser beneficioso, ya que las levaduras favorecen la función del tracto gastrointestinal, acelerando la colonización de microorganismos ruminales e intestinales y previniendo la proliferación de patógenos intestinales. Marrero et al. (2010) estudiaron el efecto combinado de *S. cerevisiae* y el hongo *A. oryzae* en vacas lactantes, reconociendo este consorcio microbiano como el segundo más relevante en la nutrición de rumiantes y confirmaron que algunos probióticos actúan como promotores del crecimiento microbiano; además, observaron que las poblaciones de bacterias viables totales aumentan al usar cepas de levaduras como

aditivos en dietas para rumiantes. Estos hallazgos concuerdan con los resultados de Sosa et al. (2010), quienes investigaron el efecto de *A. oryzae* en dietas fibrosas para rumiantes.

Flores et al. (2019) afirmó que, añadiendo levadura (*S. cerevisiae*, 1 %) y fuentes de nitrógeno en condiciones aeróbicas, el nopal incrementó su contenido de proteína, elevándose de 7.08 % (testigo) a 33.52 % (nopel fermentado), comparado con alfalfa (25.8 %), este resultado muestra evidencia de que el nopel fermentado tiene alto valor y potencial como fuente proteica de calidad, capaz de superar a forrajes como la alfalfa que es ampliamente utilizada, es por ello, que el nopel se convierte en una alternativa estratégica en la nutrición animal.

Información obtenida por Cabrera et al. (2011) muestra que, al evaluar el crecimiento microbiano durante la fermentación sólida del nopel forrajero, la inclusión de levadura y urea favorece dicho crecimiento, dando como resultado un aumento de 4.2 a 29.4 % de PC en base seca.

En el estudio realizado por Flores-Hernández et al. (2017), en el cual se utilizó pencas de nopel sin espinas, picadas y se les adicionó levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) al 1 %, urea al 1 % y sulfato de amonio al 0.1 % controlando la temperatura a 25 ± 3 °C, con pH ajustado a un valor ácido de 4.35 ± 0.04 y un tiempo de fermentación de 10 horas (ciclos de movimiento con 45 minutos y 30 minutos de reposo), evaluaron dietas incluyendo nopel enriquecido en cabras criollas, encontrando que el efecto del enriquecimiento proteico del nopel incrementó la PC de 4 a 30 %, siendo este el resultado del proceso de fermentación del nopel, tomando en cuenta que el nopel fermentado se incluyó en un 35 % en la dieta total. La respuesta productiva en aquellos animales que consumieron nopel fermentado mostró mayor ganancia de peso, consumo de materia seca y conversión alimenticia, reportando mejores indicadores de digestibilidad y mayor eficiencia en la utilización de nutrientes, en comparación con los animales que consumieron dietas sin inclusión de nopel fermentado. Por ello, sustituir parcialmente forrajes tradicionales por nopel enriquecido es una opción viable que se puede emplear sin comprometer el rendimiento.

En el estudio de Maldonado-Quiñones et al. (2022) titulado "Calidad nutritiva y densidad microbiana de nopal duraznillo (*Opuntia leucotricha*) fermentado en estado sólido" se muestra la variación del valor nutricional del nopal duraznillo en fermentación aeróbica, ya que evaluó el efecto de la incorporación de la mezcla de melaza y urea, chamuscado (para eliminar espinas) y el tiempo de fermentación (0, 6, 12, 24, 48 y 96 horas), sobre la densidad celular microbiana total y la calidad nutritiva, se encontró que la mayor densidad celular microbiana se registró en el tratamiento que consistía en la adición de melaza (2.5 %) y urea (1.5 %), sin chamuscado y con 24 horas de fermentación mientras que la proteína cruda (PC) disminuyó después de las 24 horas de fermentación; así también que la adición de levaduras, sin chamuscado y con 24 horas de fermentación, presentó una composición favorable con 22.7 % de PC, 18.3 % de fibra detergente ácido (FDA) y un 93.8 % de digestibilidad *in vitro* (la más alta). En el tratamiento con aditivo (melaza + urea), sin chamuscar y sin fermentación (0 horas) los valores fueron menores en proteína cruda (17.2 %) y digestibilidad, que indica que el proceso de fermentación mejora la calidad nutricional del nopal duraznillo. En este estudio no se especifica por qué disminuyó la digestibilidad, aunque se puede asumir que esto sucede debido a que los nutrientes esenciales tienden a descomponerse y se producen compuestos no deseados durante la actividad microbiana (Tavares et al., 2016).

2.6.2 Hongos

El *Aspergillus oryzae* estimula el crecimiento de bacterias que consumen ácido láctico, como *Selenomonas ruminantium*, incrementa la cantidad de bacterias celulolíticas, mejora la descomposición de la fibra, es benéfico para la producción de alimentos fermentados y biomasa, y reduce la concentración de ácido láctico en el rumen elevando el pH (Cortés-Sánchez et al., 2014). Fernández (2014) sugiere que *A. oryzae* promueve la proteólisis al proporcionar nutrientes específicos para bacterias proteolíticas, gracias a la presencia de enzimas proteolíticos en su extracto o facilitando el acceso a las proteínas tras la digestión de las paredes celulares.

Los hongos ruminales exhiben una alta actividad celulolítica y desempeñan un papel estratégico en la digestión de la fibra; al abrir vías de degradación en las paredes celulares facilitan el acceso a otras bacterias celulolíticas que llevan a cabo la mayor parte de la digestión cuantitativa de la fibra (Moallem et al., 2009).

Pérez y Ramírez (2021) encontraron que el contenido proteico puede incrementar hasta un 40 % inoculando nopal con *Rhizopus oryzae*, logrando aumentos de tres o cuatro veces el contenido original; evaluaron un tratamiento testigo (nopal sin tratamiento), nopal inoculado con *Rhizopus oryzae* e incubado por 20 horas y nopal inoculado con *Rhizopus oryzae* e incubado por 72 horas; observaron un aumento significativo (40 %) en el contenido de proteína en el nopal fermentado por 72 horas, es decir, teniendo un % PC inicial de 5 a 7 alcanzando valores finales entre 15 % y 28 % de PC después de la fermentación.

2.6.3 Consorcio de levaduras y hongos

Carro y Ranilla (2002) aportaron evidencia de que los aditivos microbianos, especialmente levaduras y hongos, inducen alteraciones en el microbiota ruminal y en sus procesos fermentativos. Estas modificaciones resultan en un mayor rendimiento de ácido propiónico, reducción en la generación de metano y ácido láctico en el rumen, así como una menor degradación de proteínas y desaminación de aminoácidos; estos cambios optimizan el uso de energía y nitrógeno tanto en el rumen como en el animal y traen consigo beneficios económicos y ambientales (Arcos et al., 2007).

En la investigación realizada por Martínez-Méndez, et al. (2019) sobre fermentación líquida aeróbica de nopal integrando levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), bacterias ácido lácticas y el hongo *Aspergillus oryzae*, así como fertilizantes (urea, fosfato de calcio y sulfato de amonio), se reportó un aumento en la PC, siendo a las 12 horas de fermentación el registro más alto (28.4 %) y el nivel más bajo (8.6 %) al inicio del proceso, antes de que los microorganismos comenzaran su actividad fermentativa; además encontró que el contenido de nitrógeno ureico permaneció estable desde la etapa inicial con fertilizantes, el nitrógeno amoniacal mostró una tendencia decreciente conforme avanzaba la fermentación; en el desarrollo

microbiano, las levaduras y las bacterias lácticas alcanzaron su máximo crecimiento a las 48 horas de fermentación; el crecimiento del hongo fue mayor en las primeras 35 horas; para el pH y la temperatura se encontró que en el proceso, el pH de la fermentación de nopal permaneció en un intervalo ácido (4.9 a 5.5), lo que favoreció la actividad de los microorganismos y aseguró condiciones óptimas para la fermentación.

2.7 Literatura citada

- Ali, A. S., Atta, M., Mohamed, M. B., Fatnassi, M., Dosari, H. M. A., & Al-Shamari, H. S. (2023). Effect of feeding on different levels of crushed cactus in total mixed rations on fattening performance, carcass characteristics, and meat quality of Awassi sheep. *Letters in Animal Biology*, 3(1), 06-12. <https://doi.org/10.62310/liab.v3i1.102>
- Allen, E. B., Steers, R. J., & Dickens, S. J. (2011). *Opuntia* forage production systems: Status, trends, and prospects for rangeland application: impacts of fire and invasive species on desert soil ecology. *Rangeland Ecology & Management*, 64(5), 450–462. <https://doi.org/10.2111/rem-d-09-00159.1>
- Andrade, J. L., De la Barrera, E., Reyes, C., Ricalde, M. F., Soto, G., & Cervera, J. C. (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (81), 37-50. https://www.academia.edu/53420744/El_metabolismo_%C3%A1cido_de_la_s_crasul%C3%A1ceas_diversidad_fisiolog%C3%ADa_ambiental_y_productividad
- Andrade-Linares, D. R., & Sánchez-Ávila, J. P. (2022). Bioactive compounds from *Opuntia* species for cosmetic applications. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(2), 123–130. https://www.ishs.org/ishs-article/1343_69?utm_source
- Araiza-Rosales, E., González-Arreola, A., Pámanes-Carrasco, G., Murillo-Ortiz, M., Jiménez-Ocampo, R., & Herrera-Torres, E. (2021). Calidad fermentativa y producción de metano en ensilados de rastrojo de maíz adicionados con nopal fermentado y sin fermentar. *Abanico Veterinario*, 11, 2021–2021. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.24>
- Arcos-García, J. L., López-Pozos, R., Bernabé Hernández, A., & Hoffman, J. A. (2007). La actividad microbiana en la fermentación ruminal y el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*. <http://www.utm.mx/temas/temas-docs/nota3t32.pdf>

- Ayala, F., & Calderón, A. (2015). Contenido de agua en *Opuntia spp.* bajo diferentes condiciones climáticas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(2), 54-60.
- Bacarrillo-López, R., Pedroza-Sandoval, A., Inzunza-Ibarra, M. A., Flores-Hernández, A., & Macías-Rodríguez, F. J. (2021). Productividad de forraje de variedades de nopal (*Opuntia spp.*) bajo diferentes regímenes de humedad del suelo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(3). <https://doi.org/10.19136/era.a8n3.2878>
- Barrientos, J. (1965). Mejoramiento genético del nopal tunero (Tesis de maestría). Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Bautista, E., et al. (2015). Análisis lipídico del nopal procesado. *Food Chemistry*, 54(3), 1542-1546.
- Blanco, F., Lara A., Valdez R. D., Cortés J. O., Luna M. y Salas, L. M. A. (2006). Interacciones nutrimentales y norma de la técnica de nutrimento compuesto en nopal (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *Rev. Chapingo Ser Horticult.* 12:165-175.
- Borrás-Sandoval, L. M., & Torres-Vidales, G. (2016). Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FES. *Orinoquia*, 20(2), 47-54. <https://doi.org/10.22579/20112629.353>
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). Las Cactáceas de México (2ª ed.). UNAM.
- Cabrera, H. F., Aguilera, A., Orozco, E., Reis, T., Bernal, G., & Díaz, L. E. (2011). Evaluación del crecimiento microbiano durante la fermentación en estado sólido del nopal forrajero. Memorias del XII Encuentro Nacional de la Mujer en la Ciencia y la Tecnología, 1-6. Recuperado de https://congresos.cio.mx/12_enc_mujer_previa/archivos/extensos/sesion3/S3-BCA11.pdf
- Campos, A. G. (2012). Producción de un alimento fermentado en estado sólido a partir de la pollinaza y vitafert. Academia.edu. https://doi.org/109887575/s200_adrian
- Carro, M. D., & Ranilla, M. J. (2002). Situación actual y posibles alternativas a los aditivos promotores del crecimiento APC. *Albéitar*, 56(1), 46-49.
- Casas R., S. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*: Estimuladores y modificadores de la fermentación y crecimiento microbiano ruminal. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 1–8. https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200001
- Castillo, J. T., Martínez, K. V., Blanco-Labra, A., & Jacobo, C. M. (2009). Protease inhibitors present in *Opuntia spp.* *Acta Horticulturae*, 811, 293-298. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2009.811.39>
- Chukwuma, A., & Islam, M. (2015). Función de los carbohidratos en *Opuntia* como prebióticos. *Food Hydrocolloids*, 54, 40-48.

- Coblentz, W. K., Akins, M. S., Jaramillo, D. M., & Cavadini, J. S. (2022). Nutritive value, silage fermentation characteristics, and aerobic stability of grass-legume round-baled silages at differing moisture concentrations with and without manure fertilization and microbial inoculation. *Journal Of Animal Science*, 100(11). <https://doi.org/10.1093/jas/skac325>
- CONABIO. (2023). Nopales | Biodiversidad Mexicana. *Biodiversidad Mexicana*. <https://biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/nopales>
- CONAGUA (2020). "Informe de la Situación del Agua en México 2020."
- Contreras-Padilla, M., et al. (2016). Evaluación de proteínas en diferentes especies de *Opuntia*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(1), 35-45.
- Cortés-Sánchez, A., Guadarrama, L. M., & Díaz-Ramírez, M. (2014). Producción de biomasa a partir de *Aspergillus oryzae* en cultivo sumergido. *BIOTecnia*, 16(3), 11-15. <https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.106>
- Cruz, J. V., Murillo, W. E., García, M. O., Gabriela, L., & Carlos, J. (2024). Elaboración de ensilaje a base de nopal (*Opuntia spp*), alternativa forrajera para la alimentación de ganado. *AvaCient*, 3(1), 10–17. <https://chetumal.tecnm.mx/avacient/index.php/revista/article/view/76?utm>
- De Farias, P. M., Matheus, J. R. V., Fai, A. E. C., De Vasconcelos, L. B., & Tapia-Blácido, D. R. (2023). Global research trends on the utilization of nopal (*Opuntia spp*) cladodes as a functional ingredient for industrial use. *Plant Foods For Human Nutrition*, 78(4), 621-629. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01113-2>

- De Lima, A. S., Silva, J. F. D. S., De Carvalho Souza, M. T., Vieira, M. S. B., Praxedes, R. F., Ribeiro, J. D. S., Cardoso, D. B., Rangel, A. H. D. N., De Carvalho, F. F. R., & De Lima Júnior, D. M. (2021). Carcass characteristics and meat quality of lambs fed with cassava foliage hay and spineless cactus. *Journal Animal Science*, 92(1). <https://doi.org/10.1111/asj.13519>
- Díaz-Plascencia, D., Martínez-Yáñez, R., Mendoza-Carrillo, J., & Muela, C. (2012). Design and evaluation of a liquid beneficial yeast active additive for ruminant animal diets. Ugo. [https://www.academia.edu/14623482/Design and Evaluation of a Liquid Beneficial Yeast Active Additive for Ruminant Animal Diets?utm_source](https://www.academia.edu/14623482/Design_and_Evaluation_of_a_Liquid_Beneficial_Yeast_Active_Additive_for_Ruminant_Animal_Diets?utm_source)
- Diego-Zárate, L. M., Méndez-Zamora, G., Rivera-De Alba, J. A., & Flores-Girón, E. (2021). Efecto del nopal (*Opuntia spp.*) deshidratado en polvo en las propiedades fisicoquímicas, texturales y sensoriales de salchichas Viena. *Biotecnia*, 23(2), 89–95. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i2.1377>
- Dubeux, J. C. B., Santos, M. V. F. D., Da Cunha, M. V., Santos, D. C. D., De Almeida Souza, R. T., De Mello, A. C. L., & De Souza, T. C. (2021). Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 275, 114890. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114890>
- Echeverría, A., & Arias, A. (2009). Contenido graso de *Opuntia spp.* *Nutritional Reviews*, 67(11), 74-80.
- Elghandour, M. Y. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* y su impacto sobre la capacidad fermentativa microbiana en herbívoros (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma del Estado de México. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/59209>
- Elizondo-Elizondo, J., & Aguirre-Rivera, J. R. (2000). Producción y uso de *Opuntia* (nopal) como forraje en el centro-norte de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 6(2), 179-184. <https://bmeditores.mx/entorno-pecuario/produccion-y-uso-de-opuntia-nopal-como-forraje-en-el-centro-norte-de-mexico/>
- Espinosa-Chávez, R. J. (2024). Identificación y control de plagas y enfermedades en el cultivo de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) de la Alcaldía Milpa Alta de la Ciudad de México (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/43979>
- Esquivel, P., et al. (2011). Influencia del manejo agrícola en proteínas de *Opuntia*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(2), 115-122.
- FAO (2019). The State of Food Security and Nutrition in the World 2019, 103-105. <https://doi.org/10.18356/63e608ce-en>
- Felker, P., Paterson, A., & Jenderek, M. M. (2006). Forage potential of *Opuntia* clones maintained by the USDA, National Plant Germplasm System (NPGS) Collection. *Crop Science*, 46(5), 2161-2168. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.02.0081>

- Fernández, A. (2014). El uso de aditivos para optimizar la función ruminal en vacuno lechero. *Revista AgriNews*, 12(1), 20–17. <https://agrinews.es/2014/01/08/uso-aditivos-para-optimizar-funcion-ruminal-vacuno-lechero/#prettyPhoto>
- Flores V., C.A.; J.M. De Luna E., & P.P. Ramírez M. (1995). Mercado mundial del nopalito. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ASERCA), Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Estado de México, 115 p.
- Flores, H., A., Macías, R., F. J., Meza, H., C., García, H., G., Esquivel, A., O., Ortiz, S., J., & Hernández, B., C. (2019). Fermentación semisólida del nopal (*Opuntia spp*) para su uso como complemento proteico animal. *Revista De Geografía Agrícola*, (63), 87–100. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2019.63.04>
- Flores-Hernández, A., Araújo-Filho, J. T., Gomes da Silva, F., Ramírez-Ordoñez, S., & Murillo-Amador, B. (2017). Dietas a base de forraje tradicional y nopal (*Opuntia spp.*) enriquecido con proteínas para alimentar cabras. *Nova Scientia*, 9(18), 149-166.
- Gallegos-Vázquez, C., et al. (2011). Efecto de la variación estacional en el contenido de humedad del nopal. *Journal of Arid Environments*, 45(8), 912-918.
- García-Bandala, M., García-Beltrán, A. N., Medina-García, G., Servín-Palestina, M., & Ramírez-Cabral, N. (2022). Efecto posible del cambio climático sobre la demanda de agua de cultivos importantes en Zacatecas. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 20(2), e202104001. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2021.04.001>
- García-De-Alba, A., et al. (2018). Comparación de lípidos en diferentes variedades de nopal. *Science of the Total Environment*, 633, 62-69.
- Gómez-Mascaraque, L. G., & Martínez-Villaluenga, C. (2021). Plant-based ingredients in cosmetic formulations: Emphasis on *Opuntia* species. *Journal of Cosmetic Science*, 72(4), 455-468. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6272544/?utm_source
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(11), 1915-1921. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1915>
- Gutierrez T. J. 2013. Propiedades Físicas, Químicas y Microestructurales de Películas Comestibles a Base de Almidón de Mapuey y Yuca. Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnologías de Alimentos. Universidad Central de Venezuela.
- Guzmán, U., Arias, S., & Dávila, P. (2003). Catálogo de cactáceas mexicanas. UNAM/Conabio.
- Hernández, F. A., Macías, R., F. J., Herrera, M., C. A., Herrera, G., G., Arriaga, O. E., Salazar, J. O., & Bautista, C. H. (2019). Semi-solid fermentation of nopal (*Opuntia spp*) for use as an animal protein supplement. *Revista de Geografía Agrícola*, 63, 87–100. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2019.63.04>

- Hernández, R. J., & Boyzo, M. A. PCTI 108. 2020. Alimentos ricos en proteína: sistema nopal-proceso microbiano – PCTI – *Ciencia, Tecnología e Innovación*. (2020). Pcti.mx. <https://pcti.mx/articulos/pcti-118-alimentos-ricos-en-proteina-sistema-nopal-proceso-microbiano>
- Hernández, R., M. (2022). Efectos del cambio climático en la productividad de los cultivos C4 en México (1985-2020). <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/4e265211-909e-4a23-bbbb-33f208608afc>
- Hernández-Bonilla, M., Sandoval-Trujillo, S. J., & Hernández-López, J. (2020). Análisis de la inversión de los productores de nopal de tuna en el Valle de Teotihuacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), 345-358. https://www.researchgate.net/publication/373856970_Analisis_de_la_inversion_de_los_productores_de_nopal_de_tuna_en_el_Valle_de_Teotihuacan
- Herrera-Torres, E., Murillo, M., Berumen, L., Páez, J., & Villarreal, G. (2014). Efecto de *Sacharomyces cerevisiae* y *Kluyveromices marxianus* durante el tiempo de fermentación en la calidad nutritiva del nopal forrajero. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 1(1), 33–40. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000100004
- IPCC (2021). Sixth Assessment Report: Climate Change 2021. *The Physical Science Basis*, 78-83. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>
- Jurado-Gámez, H., & Jarrín-Jarrín, V. (2015). Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. *Biosalud*, 14(2), 49-62. <https://doi.org/10.17151/biosa.2015.14.2.5>
- Luna-Zapién, E. A., Zegbe, J. A., Meza-Velázquez, J. A., & Minjares-Fuentes, R. (2023). Mucílago de nopal (*Opuntia spp.*) y su aplicación como aditivo alimentario: una visión general. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 46(1), 1–12. <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/1477>
- Magrin, G., Marengo, J., Boulanger, J. P., Buckering, M. S., Castellano, E., Poveda, G., ... & Villamizar, A. (2014). "Central and South America" In: *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects*. Cambridge University Press, 499–566.
- Maldonado-Quñones, H., Barraza-Govea, J. M., Carrete-Carreón, F. O., Murillo-Ortiz, M., Häubi-Segura, C. U., Flores-Hernández, A., Pámanes-Carrasco, G. A., & Rosales, E. E. A. (2022). Calidad nutritiva y densidad microbiana de nopal duraznillo (*Opuntia leucotricha*) fermentado en estado sólido. *Acta Universitaria*, 32, 1-15. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3559>
- Marín-Campos, V. M., Álvarez-Sánchez, M. E., Maldonado-Torres, R., & López-Romero, R. M. (2024). Fitoquímica de las glóquidas de tuna (*Opuntia albicarpa* Scheinvar). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 47(2), 167. <https://doi.org/10.35196/rfm.2024.2.167>

- Marrero, Y., Martín, E., Rodríguez, D., & Galindo, J. (2010). Efecto de la inclusión de fracciones del cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación ruminal *in vitro* de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 44(2), 161-165.
- Martínez, S., et al. (2013). Lipoproteínas en derivados del nopal. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(4), 227-231.
- Martínez-Méndez, E. M., Aranda-Osorio, G., Miranda-Romero, L. A., y González-Ariceaga, C. C. (2019). Caracterización del proceso de fermentación aeróbica del nopal para su uso en la alimentación animal. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma Chapingo). Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma Chapingo, 20-33. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/677ae58a-9a01-4257-838f-649f6fe5e35d/full?utm>
- Maya-Higuera, G. (2015). Producción del nopal en Milpa Alta desde la unidad socioeconómica campesina (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/132309>
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., & Morgan, C. A. (2013). *Animal Nutrition* (7th ed.). Longman Scientific & Technical, 334-411. <https://lib.ugent.be/catalog/ebk01%3A2550000000043428?ut>
- Medina-Torres, L., et al. (2005). Composición nutricional del nopal fresco. *Revista de Tecnología de Alimentos*, 20(3), 300-307.
- Mena, R., et al. (2014). Carbohidratos no estructurales en *Opuntia spp.* *Journal of Plant Physiology*, 171(9), 755-762.
- Moallem, U., Lehrer, H., Livshitz, L., Zachut, M., & Yakoby, S. (2009). The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *Journal of Dairy Science*, 92(1), 343-351. [10.3168/jds.2007-0839](https://doi.org/10.3168/jds.2007-0839)
- Muck, R. E. (2013). Silage fermentation. *Journal of Animal Science*, 91(1), 230-240. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5820>
- Nobel, P. S. (2001). Ecophysiology of *Opuntia ficus-indica* in a subtropical region: influence of seasonal drought and elevated CO₂ on gas exchange and growth. *Environmental and Experimental Botany*, 45(3), 285-310. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00077-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00077-8)
- Olmedo, A., Rojo, R., Arece, J., Salem, Z. M., Morales, E., Albarrán, B., & otros. (2015). Extracto de *Lysiloma acapulcensis* en la digestibilidad y fermentación ruminal de una dieta para ovinos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 173-182. <https://doi.org/10.19136/era.a2n5.189>
- Owens, F. N., & Goetsch, A. L. (2013). Fermentation and utilization of energy. *Journal of Animal Science*, 91(1), 321-332. [10.2527/jas.2012-5687](https://doi.org/10.2527/jas.2012-5687)
- Pérez, F., & Ramírez, G. (2021). Alimentos ricos en proteína: sistema nopal-proceso microbiano. Ciencia, tecnología e innovación para el desarrollo de México,

- 5(108). Recuperado de <https://pcti.mx/wp-content/uploads/2020/12/PCTI-108-Alimentos-ricos-en-proteina-Sistema-Nopal-Proceso-microbiano.pdf>
- Porcayo-Cabrera, M. (2024). Efecto del uso de aditivos en el valor nutricional *in vitro* de ensilados de nopal (*Opuntia spp.*) [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Repositorio Institucional de la UAEMex.
- Quintero-Lira, A., Bravo-Islas, M., Piloni-Martini, J., & López-Palestina, C. U. (2024). Problemática del uso de plaguicidas en el cultivo de nopal, *Opuntia ficus indica*. Revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(4), 801–811. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i4.12321
- Quishpi, G. J., Sánchez-Herrera, T. E., Salgado-Tello, I. P., Castillo-Parra, B. F., & Campoverde-Santos, D. K. (2024). Potencialidades del nopal en la industria alimentaria. *Revista de La Universidad del Zulia*, 15(43), 435–461. <https://doi.org/10.46925/rdluz.43.25>
- Ramírez-Huerta, M., Juárez-Sánchez, J. P., Ramírez-Valverde, B., Martínez-Carrera, D. C., & Morales-Acoltzi, T. (2021). Adaptación alimentaria de campesinos productores de maíz ante la variabilidad climática en el centro oriente del estado de Puebla, México. Estudios Sociales. *Revista de Alimentación Contemporánea Y Desarrollo Regional*. <https://doi.org/10.24836/es.v31i58.1149>
- Ramírez-Moreno, E. (2016). Composición química y beneficios del nopal fresco y deshidratado. *Acta Agronómica*, 65(3), 245-251.
- Reid, G. (2016). Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 30(1), 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.12.001>
- Rodríguez, C., Díaz D, Salvador F, Ruiz O, Arzola C, Flores A, & Elias A. 2010. Efecto del nivel de urea y pasta de soya en la Concentración de proteínas durante la fermentación en estado sólido de manzana de desecho (*Malus domestica*), *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 2010; 44(1): 24-26.
- Roblero, C., A. E. (2009). Impacto del cambio climático sobre la disponibilidad de agua y producción de maíz en la Comarca Lagunera (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila, México.
- SADER. Gobierno de México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). Exportan productores nopal y tuna, xoconostle a Estados Unidos. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/exportan-productores-nopal-y-tuna-xoconostle-a-estados-unidos>
- Sáenz, C., Berger, H., Corrales, G. J., Galletti, L., García de Cortázar, V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez-Félix, A., Sepúlveda, E., & Varnero, M. T. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal*. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO, 162-165.
- Sáenz C, Sepúlveda E, Pak N, & Lecaros M. 2010. Chemical and physical characterization of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*) powder. *Italian Journal of Food Science*, 22 (4): 416–422.

- Sahara, T., Fujimori, K. E., Nezuo, M., Tsukahara, M., Tochigi, Y., Ohgiya, S., & Kamagata, Y. (2014). Draft genome sequence of *Saccharomyces cerevisiae* IR-2, a useful industrial strain for highly efficient production of bioethanol. *Genome Announcements*, 2(1). <https://doi.org/10.1128/genomea.01160-13>
- Salinas, J. (2022). Edomex es primer lugar nacional en producción de tuna y xoconostle. La Jornada. <https://www.jornada.com.mx/noticia/2022/04/07/estados/edomex-es-primer-lugar-nacional-en-produccion-de-tuna-y-xoconostle-8178>
- Santamaria-Estrada, C. E., Meza-Herrera, C. A., Flores-Hernández, A., Herrera-Machuca, A. M., & Veliz-Deras, G. (2018). Suplementación de nopal proteicamente enriquecido y función reproductiva en cabras: luteogénesis, progesterona sérica y tasa de implantación embrionaria. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma Chapingo). Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma Chapingo. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/server/api/core/bitstreams/2824d394-6fd4-4c7c-b3ed-be21a9f446c7/content>
- Schulte, P. M. (2015). The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. *Journal of Experimental Biology*, 218(12), 1856-1866. <https://doi.org/10.1242/jeb.118851>
- Scheinvar, L. (2007). Biodiversidad de las especies silvestres mexicanas de *Opuntia spp.* y *Nopalea spp.* (Cactaceae). Recursos Fitogenéticos de Nopal (*Opuntia spp.*) en México: 2002-2005 (pp. 36-59). SNICS-SAGARPA-UACH.
- SEMARNAT (2017). "Estrategia Nacional sobre Biodiversidad de México y Plan de Acción 2016-2030." Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 39-47.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). Producción de nopal en México: Superficie sembrada, cosechada y rendimiento promedio (2022). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Recuperado de <https://www.gob.mx/siap>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). Avance de siembras y cosechas resumen nacional por estado. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
- Snyman, H. A. (2006). A greenhouse study on root dynamics of cactus pears, *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 8, 1-21. [10.1016/j.jaridenv.2005.10.004](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.10.004)
- Sopa de nopal para su ganado - 2000Agro *Revista Industrial del Campo*. (2007). 2000Agro *Revista Industrial del Campo*. <https://www.2000agro.com.mx/pecuarioypesquero/sopa-de-nopal-para-su-ganado/>. Consultado: febrero 2024.

- Sosa, A., Galindo, J., Aldana, A. I., Moreira, O., & González, N. (2010). Efecto de *Aspergillus oryzae* en las poblaciones microbianas del rumen y en los productos finales de la fermentación de *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-115. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(4), 365–369.
- Sottile, F., Modica, A., & Rosselli, S. (2021). Hand-made paper obtained by green procedure of cladode waste of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. from Sicily. *Natural Product Research*, 35(3), 359–368. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1631820>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia spp.*): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(2), 175–194. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400071>
- Tavares, S., Vinícius, M., de, J., Flávio Pinto Monção, Paulo, J., & David, L. (2016). Fermentation kinetics and in vitro degradation rates of grasses of the genus *Cynodon*. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 38(3), 249–249. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i3.30009>
- Torres-Ponce, R. L., Morales-Corral, D., Lourdes, & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). El nopal: planta del semi desierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(5), 1129–1142. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000500018
- Tripathi, M. K., Chaturvedi, O. H., Karim, S. A., Singh, V. K., & Sisodiya, S. L. (2007). Effect of different levels of concentrate allowances on rumen fluid pH, nutrient digestion, nitrogen retention and growth performance of weaner lambs. *Small Ruminant Research*, 72(2-3), 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.008>
- Víctor-Gómez, E., López-Jiménez, A., Cortes-Flores, J. I., Jaén-Contreras, D., & Suárez-Espinoza, J. (2020). Estimulación floral en nopal tunero en respuesta al efecto de Thidiazurón. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 519–529. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.1995>
- Weimer, P. J., Hatfield, R. D., & Buxton, D. R. (2016). Fermentation of corn silage. *Journal of Animal Science*, 94(1), 120–130. [10.3168/jds.2010-3136](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3136)
- Zegbe, J. A., Mena-Covarrubias, J., & Vázquez-Barrios, M. E. (2015). Nopalito (*Opuntia spp.*) as a vegetable crop: potential use and applications. *Acta Horticulturae*, 1067, 197–204. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1067.25>
- Zicarelli, F., Addi, L., Tudisco, R., Calabrò, S., Lombardi, P., Cutrignelli, M. I., & otros. (2016). The influence of diet supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* or *Saccharomyces cerevisiae* plus *Aspergillus oryzae* on milk yield of Cilentana grazing dairy goats. *Small Ruminant Research*, 135 (Supplement C), 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.018>

- Zou, D. M., Brewer, M., Garcia, F., Feugang, J. M., Wang, J., Zang, R., Liu, H., & Zou, C. P. (2005). Cactus pear: A natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 4, 25. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-4-25>
- Zúñiga-Tarango, R., Orona-Castillo, I., Vázquez-Vázquez, C., Murillo-Amador, B., Salazar-Sosa, E., López-Martínez, J. D., & García-Hernández, J. L. (2009). Desarrollo radical, rendimiento y concentración mineral en nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en diferentes tratamientos de fertilización. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 11, 53-68. <https://investigadores.unison.mx/es/publications/desarrollo-radical-rendimiento-y-concentraci%C3%B3n-mineral-en-nopal-o>

3. CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN AERÓBICA SEMISÓLIDA DE NOPAL PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Hernández-Ramírez Verónica Mariana¹, Aranda-Osorio Gilberto¹,
Miranda-Romero Luis Alberto¹, Ponce-Alquicira Edith²

¹ Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia, CP 56230, Texcoco, Estado de México.

² Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, México.

3.1 Resumen

En la fermentación aeróbica semisólida del nopal (*Opuntia spp.*), se evaluó el efecto de la adición de inóculos: hongo *Aspergillus oryzae*, levadura *Saccharomyces cerevisiae* y bacterias lácticas *Lactobacillus plantarum* (BAL). Muestras de nopal finamente molidas se colocaron en una mezcladora horizontal abierta con movimiento intermitente, incorporando: urea (60 g), fosfato diamónico (60 g), sulfato de amonio (8 g) e inóculos. Fermentaciones (10 kg): F1: fertilizantes + hongo 10 g + levadura 1 (5 g), BAL (0.05 g); F2: fertilizantes + hongo (38 g), levadura 1 (40 g), BAL (10 g); F3: F1, sin hongo, F4: F1, sin levadura y F5: F1 sustituyendo levadura 1 por 2. Cada fermentación se realizó en ciclos de 6 h (media hora movimiento, media hora descanso) y 18 h de reposo (total 24 h). Se tomaron muestras (0, 6, 12 y 24 h) y midió pH, temperatura, densidad y contenido UFC (muestras frescas) y análisis proximal (MS, PC, FDN, FDA, EE, Cen) y pruebas de producción de gas *in vitro* para determinar digestibilidad y características fermentativas (muestras liofilizadas). Análisis estadístico, con diseño de completamente al azar (DCA) para pH, TM, Dens y análisis proximal y bloques completamente al azar (DBCA) para fermentación *in vitro*, para el segundo se consideraron dos repeticiones en el tiempo, los tratamientos (F1 a F5), tres repeticiones por tratamiento de cada tiempo (0, 6, 12, 24 h) y los frascos como unidades experimentales. En F1 y F2, las BAL y levaduras mostraron crecimiento óptimo inicial con pH favorable (4.5-5.0), mejorando el contenido de PC (22.2 %), la calidad y digestibilidad se mejoró con uso de levadura; F1 aumentó FFR, pero no FFM; F3 destacó en fermentación y digestibilidad (87.12 %). F1, mejora el valor fermentativo del nopal, representando una alternativa de alimentación animal, aumentando el valor nutricional (6.45 % a 21.6 % de PC en 24 h).

Palabras clave: *Opuntia*, fermentación semisólida, proteína cruda, cinética ruminal.

Tesis de Maestría en Ciencias en innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Verónica Mariana Hernández Ramírez

Director de Tesis: Gilberto Aranda Osorio

3.2 Abstract

In the semi-solid aerobic fermentation of prickly pear cactus (*Opuntia spp.*), the effect of inoculum addition was evaluated, including the fungus *Aspergillus oryzae*, the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, and the lactic acid bacteria (LAB) *Lactobacillus plantarum*. Finely ground cladode samples were placed in an open horizontal mixer with intermittent motion, incorporating urea (60 g), diammonium phosphate (60 g), ammonium sulfate (8 g), and the respective inocula. The fermentation batches (10 kg each) were as follows: F1: fertilizers + fungus (10 g) + yeast strain 1 (5 g), LAB (0.05 g); F2: fertilizers + fungus (38 g), yeast strain 1 (40 g), LAB (10 g); F3: same as F1, without fungus; F4: same as F1, without yeast; F5: same as F1, substituting yeast strain 1 with strain 2. Each fermentation was carried out over 24 hours, consisting of 6 hours of cycling (30 minutes agitation, 30 minutes rest) followed by 18 hours of rest. Samples were collected at 0, 6, 12, and 24 hours to measure pH, temperature, density, and CFU content (from fresh samples). Proximate analyses (dry matter, crude protein, NDF, ADF, ether extract, ash) and *in vitro* gas production tests were conducted on freeze-dried samples to assess digestibility and fermentation characteristics. Statistical analyses were performed using a completely randomized design (CRD) for pH, temperature, density, and proximate composition, and a randomized completely block design (RCBD) for *in vitro* fermentation. Two-time repetitions were considered for the latter, with treatments (F1-F5), three replicates per treatment per time point (0, 6, 12, and 24 h), and the fermentation flasks considered experimental units. In treatments F1 and F2, both LAB and yeast exhibited optimal initial growth under favorable pH conditions (4.5-5.0), improving crude protein content (up to 22.2%). The use of yeast enhanced both quality and digestibility; F1 increased rapidly fermentable fiber (RFF) but not slowly fermentable fiber (SFF). F3 stood out for fermentation performance and digestibility (87.12%). F1 improved the fermentative value of prickly pear cactus, representing a viable alternative for animal feeding by increasing its nutritional value (from 6.45 to 21.6% crude protein in 24 hours).

Keywords: *Opuntia*, semi-solid fermentation, crude protein, ruminal kinetics.

Master Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program in Animal Production, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Verónica Mariana Hernández Ramírez

Advisor: Gilberto Aranda Osorio

3.3 Introducción

El nopal (*Opuntia spp.*) es una planta que se adapta a zonas áridas y semiáridas y representa una opción de alimentación para el ganado; se ha buscado incorporar el nopal en dietas de producción animal e incrementar su calidad para obtener beneficios al ser consumido por los animales. Sin embargo, su composición nutricional puede ser limitada por la baja proporción de proteína cruda; para superar esta restricción, el proceso de fermentación se ha convertido en una herramienta biotecnológica clave, al incrementar el valor proteico y mejorar la digestibilidad del nopal. La fermentación con aditivos como urea y sulfato de amonio ha demostrado potenciar su calidad como forraje, contribuyendo en dietas equilibradas y sostenibles, este enfoque no solo promueve la productividad ganadera, sino que también ofrece una alternativa viable frente a insumos alimenticios más costosos.

Entre los microorganismos utilizados para enriquecer el nopal están: hongo (*Aspergillus oryzae*) que actúa como enzima para facilitar la degradación de polisacáridos, proteínas y lípidos (Casas, 2018); y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ya que su incorporación en dietas aumenta la proteína (Herrera-Torres et al., 2014). Además, en el proceso de enriquecimiento del nopal se utilizan fertilizantes (urea, sulfato de amonio y DAP fosfato diamónico) según Díaz-Plascencia et. al. (2012).

Se han realizado investigaciones (Campos, 2012; Herrera-Torres et al., 2014; Flores-Hernández et al., 2017; Martínez-Méndez et al., 2019), entre otras, para aumentar la proteína en este forraje, caracterizando dicho proceso de enriquecimiento a través de una fermentación líquida aeróbica, utilizando cladodios de nopal licuados y colocados en un biodigestor con agitación constante, incorporando microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) y encontrando que la fermentación aumenta la proteína y la digestibilidad mediante la disminución de carbohidratos solubles por la acción de los microorganismos. El problema principal de la caracterización realizada por Martínez-Méndez et al. (2019) es que, al presentar la fermentación líquida como alternativa, el hongo

utilizado no se encuentra de forma comercial, por ello, el presente trabajo de investigación se justifica por la necesidad de abordar esta problemática mediante la evaluación y el ajuste de los ingredientes en la fermentación aeróbica semisólida del nopal con el objetivo de analizar el efecto de los microorganismos, el retiro del hongo y la levadura, así como la sustitución de fuentes de levadura en dicho proceso, esto permite obtener información relevante sobre la calidad del nopal enriquecido. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la cantidad de microorganismos, el retiro del hongo, la levadura, y la sustitución de fuentes de levadura en fermentaciones de nopal, para mejorar la calidad del nopal enriquecido en función de los recursos disponibles.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Localización

Los cladodios de nopal fueron recolectados de la Nopalera "Dr. Facundo Barrientos Pérez" del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco de Mora, México, procedentes de las variedades: Atlixco, Blanco Edo. Méx. y Copena F1. Posterior a su recolección se almacenaron a temperatura ambiente en el Laboratorio del Posgrado en Producción Animal hasta su utilización.

Los análisis bromatológicos y microbiológicos del nopal enriquecido se llevaron a cabo en los laboratorios de Nutrición Animal y de Microbiología Pecuaria, del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

3.4.2 Ingredientes utilizados

a) Cladodios de nopal.

Se utilizó la mezcla de 3 variedades de nopal: Atlixco, Blanco Edo. Méx. y Copena F1. Los cladodios de nopal fueron recolectados y almacenados a temperatura ambiente hasta su uso.

b) Fertilizantes (sales minerales).

Fueron utilizados: urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), fosfato diamónico (DAP) y sulfato de amonio (AP)

c) Inóculo.

Se utilizaron tres inóculos microbianos:

1. Levadura para alimentación animal (producto comercial Procreatin 7®, Argentina), compuesto de *Sacharomyces cerevisiae* (1×10^{10} UFC), para la sustitución de la levadura de panificación se utilizó levadura seca instantánea, producto comercial (Nevada oro, México), compuesto de *Sacharomyces cerevisiae* (1×10^6 UFC).

2. Bacterias ácido lácticas (BAL) proporcionadas por el producto comercial Biosile® (synBios®, México), compuesto de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (mayor a 20,000 millones de UFC g⁻¹).

3. Hongo *Aspergillus oryzae*, el cual se encontraba conservado en refrigeración (4 °C) en agar dextrosa y papa (PDA, por sus siglas en inglés) en laboratorio. Para la utilización del hongo, este fue activado y cultivado de acuerdo con la técnica de Martínez-Méndez, et al. (2019), se esterilizó en autoclave a 121 °C por 15 minutos 4 mL de solución salina y 115 g de arroz húmedo, este último con 250 mL de agua destilada en frascos de vidrio de 500 mL; se raspó el agar con el hongo, el contenido se transfirió a la solución salina y se inoculó el arroz, los frascos fueron tapados con gasa y se incubaron a 28 °C por 5 días.

3.4.3 Fermentación aeróbica semisólida

Las fermentaciones aeróbicas, se realizaron en el Laboratorio del Posgrado en Producción Animal a temperatura ambiente (22°C) por 24 h.

Fueron pesados 10 kg de cladodios de nopal (mezcla de variedades) y se picaron con un cuchillo convencional a un tamaño de partícula de 1 cm³, posteriormente se transfirieron a un molino picador de carne eléctrico de acero inoxidable de 2800 W (Ilustración 1), para disminuir el tamaño de partícula a >0.3 mm.

El nopal molido y los ingredientes para la fermentación (fertilizantes e inóculos) fueron depositados en una mezcladora horizontal marca Maseca (Ilustración 2, Ilustración 3), la mezcladora contaba con movimiento intermitente de 6 h (media

hora de movimiento, media hora de descanso) y 18 h de reposo, completando un ciclo de 24 h.



Ilustración AC 1. Molino picador de carne eléctrico de acero inoxidable de 2800 W

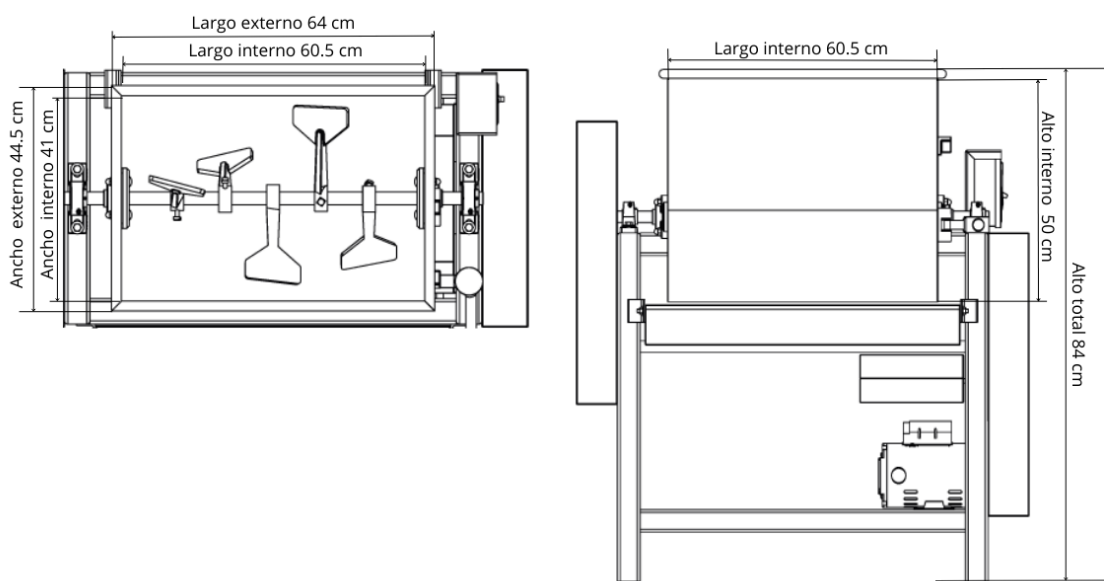


Ilustración AC 2. Medidas de la maquina mezcladora horizontal abierta



Ilustración AC 3. Aspás y vistas de la maquina mezcladora horizontal abierta

3.4.3.1 Fermentaciones evaluadas.

F1: Fermentación semisólida, 10 kg de nopal molido (BH) se le adicionaron: 60 g de urea, 60 g de fosfato diamónico (DAP), 8 g de sulfato de amonio, 10 g de arroz inoculado con *Aspergillus oryzae*, 5 g de levadura para alimentación animal, 0.05 g de BAL y 20 L de agua.

F2: Fermentación líquida, 10 kg de nopal molido (BH) se le adicionaron: 60 g de urea, 60 g DAP, 8 g de sulfato de amonio, 38 g de arroz inoculado con *Aspergillus oryzae*, 40 g de levadura para alimentación animal, 10 g de BAL y 20 L de agua.

F3: Fermentación semisólida sin hongo, 10 kg de nopal molido (BH) se le adicionaron: 60 g de urea, 60 g DAP, 8 g de sulfato de amonio, 5 g de levadura para alimentación animal, 0.05 g de BAL y 20 L de agua.

F4: Fermentación semisólida sin levadura, 10 kg de nopal molido (BH) se le adicionaron: 60 g de urea, 60 g de DAP, 8 g de sulfato de amonio, 10 g de arroz inoculado con *Aspergillus oryzae*, 0.05 g de BAL y 20 L de agua.

F5: Fermentación semisólida con cambio de levadura, 10 kg de nopal molido (BH) se le adicionaron: 60 g de urea, 60 g de DAP, 8 g de sulfato de amonio, 10

g de arroz inoculado con *Aspergillus oryzae*, 5 g de levadura de panificación, 0.05 g de BAL y 20 L de agua.

Cuadro AC 1. Composición porcentual de inóculos utilizados en la fermentación aeróbica semisólida de nopal.

Inóculo	Fermentación				
	F1	F2	F3	F4	F5
Hongo (<i>Aspergillus oryzae</i>) (%)	0.10	0.38	---	0.10	0.10
Levadura para alimentación animal (%)	0.05	0.40	0.05	---	0.05
Levadura de panificación (%)	---	---	---	---	0.05
Bacterias lácticas (BAL) (%)	0.005	0.100	0.005	0.005	---

3.4.4 Muestreo

A las 0, 6, 12 y 24 h de iniciada la fermentación, se obtuvieron submuestras de la porción del material molido y fermentado, para lo cual se contemplaron 5 puntos dentro de la mezcladora, posterior a ello, se hizo una muestra compuesta y por el método del cuarteo se obtuvieron 3 muestras representativas que fueron almacenadas a -0.4°C en frascos de plástico de 100mL.

3.4.5 Determinaciones de pH y temperatura

En cada muestra obtenida, de cada horario se midió el pH y temperatura (TM) con un potenciómetro portátil (HI988127-HI98128, Waterproof pH Tester, HANNA® Instruments, Estados Unidos de América).

3.4.6 Determinaciones de densidad

Para la densidad se utilizó el procedimiento de medición de masas, siguiendo el método descrito por McDonald et al. (2013); primero se pesó la probeta de vidrio de 100 mL vacía y se anotó su peso, la misma probeta se llenó con el nopal molido para determinar el volumen, posteriormente se pesó nuevamente la probeta con el nopal molido y se restó el peso de la probeta vacía para obtener la masa del nopal.

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular la densidad:

$$\text{Densidad}(\rho) = \frac{\text{Masa}(m)}{\text{Volumen}(V)}$$

3.4.7 Liofilización y análisis proximal

La mitad de los frascos obtenidos de cada hora se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta que fueron ingresados al liofilizador, se registró el peso antes y después del proceso de liofilización para obtener la materia seca parcial y, posteriormente, se realizó el análisis químico proximal.

Las determinaciones de materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (Cen) y extracto etéreo (EE) se realizaron mediante la metodología del AOAC (2005), la fibra detergente neutro (FDN y fibra detergente ácido (FDA) se determinaron siguiendo la metodología de Van Soest (2015).

3.4.8 Determinaciones de poblaciones

De la otra mitad de frascos con muestras, se realizó inmediatamente la siembra de medios (vaciado en placa) para la determinación de conteo de población microbiana (CPM).

La evaluación de la población de inóculos microbianos se realizó en cada momento de muestreo, cuantificando las unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias lácticas (BAL), levaduras y hongos en cada mililitro de nopal fermentado (muestra semisólida) mediante la técnica de diluciones seriadas (Tortora, Funke y Case, 2007), siembra por vaciado y conteo en placa, empleándose Agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS, Merck) para las bacterias lácticas, y Agar Dextrosa y Papa (ADP, MCD-LAB) para levaduras y hongos (Dávila-Fernández y Hernández-García, 2006). Para su incubación se siguió la técnica utilizada por Martínez-Méndez et al. (2019), manteniendo las placas de MRS, a 37 °C durante 48 horas y las de Agar Dextrosa y Papa (ADP, MCD-LAB) a 28 °C por 72 horas.

3.4.9 Cinética de la producción de gas, degradabilidad de la materia seca y fracciones fermentables *in vitro*

Se empleó la técnica de producción de gas *in vitro* descrita por Menke y Steingass (1988) y Theodorou et al. (1994) para medir de forma indirecta la fermentación ruminal, siguiendo los pasos de Mireles-Martínez et al. (2024), utilizando frascos ámbar de vidrio de 125 mL, a estos se les añadieron 500 mg de muestra liofilizada de cada fermentación y cada hora, se agregaron 90 mL de inóculo ruminal, manteniendo un flujo continuo de CO₂; los frascos fueron sellados herméticamente con tapones de goma y arillos de aluminio, se incubaron por triplicado en un baño maría a 39 °C; la presión generada fue medida con un manómetro (METRON®, 51100) en intervalos de tiempo de 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 horas. Se utilizaron tres frascos por tratamiento y tres adicionales como controles para ajustar posibles contaminaciones. La incubación se repitió en el tiempo dos veces.

Las determinaciones de las fracciones de fermentación rápida, media y lenta, cinética de fermentación ruminal e indicadores ambientales fueron calculadas de acuerdo con Zhong et al. (2016); Miranda et al. (2020) y Mireles-Martínez et al. (2024).

3.4.10 Diseño experimental

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SAS (Statistical Analysis System, versión 9.2; 2013). Se aplicó el Análisis de Varianza (ANOVA) mediante el procedimiento GLM (SAS, 2013), considerando un diseño completamente al azar (DCA) para evaluar los efectos del tipo de aditivo con los tratamientos (F1, F2, F3, F4 y F5) y el tiempo de fermentación (0, 6, 12 y 24 horas), tomando en cuenta que para cinética ruminal y fermentación *in vitro*, se consideraron dos bloques experimentales (dos repeticiones en el tiempo) las unidades experimentales fueron cada uno de los frascos y las repeticiones fueron los tres frascos por tratamiento, por horario, más tres frascos de control y para la parte de fermentaciones las unidades experimentales como cada uno de los tratamientos (F1 a F5) y las tres repeticiones de cada uno de los 4 tiempos (0, 6, 12, 24 h). Las medias se compararon utilizando la diferencia mínima significativa (DMS; $P < 0.0001$), y se calcularon correlaciones simples entre las variables de

respuesta (efecto de conjuntos de aditivos, efecto de la hora e interacción de efecto de conjuntos de aditivos y hora), mediante el procedimiento Proc Corr (correlaciones de Pearson; SAS, 2004).

3.5 Resultados y discusión

3.5.1 pH, temperatura y densidad

El Cuadro 2, se muestra el comportamiento de los parámetros pH, temperatura y densidad a lo largo del proceso de fermentación aeróbica semisólida del nopal; estas variables son fundamentales para comprender el crecimiento de población microbiana y su efecto en la calidad de la fermentación final.

El pH disminuyó en la mayor parte de los tratamientos, siendo estable en un rango ácido de 4.5 a 5.8, pH óptimo para la actividad microbiana. La temperatura presentó variación entre 22.1 y 24.9 °C, reflejando incrementos conforme pasa el tiempo por la actividad de los microorganismos y la densidad mostró cómo incrementó con el tiempo, obteniendo valores de 0.81 a 0.98 g/cm³. Los datos indican que las tres variables fisicoquímicas fueron influenciadas significativamente por el tipo de fermentación ($p < 0.05$).

Cuadro AC 2. Comportamiento del pH, temperatura de la muestra (TM) y densidad durante la fermentación aeróbica semisólida de nopal.

Variable (%)	Fermentación*					EEM	Valor P
	F1	F2	F3	F4	F5		
pH	5.0b	4.8b	4.9b	5.8a	5.6a	0.06	<0.0001
TM*	23.6bc	23.4c	23.2a	23.8b	24.4a	0.07	<0.0001
Dens**	0.80b	0.84ab	0.85a	0.83ab	0.83ab	0.02	0.0437

EEM: Error estándar de la media; literales diferentes es igual a diferencia significativa ($p < 0.05$).

*En todos los casos el aditivo mineral consistió de 0.6 % urea, 0.6 % fosfato diamónico y 0.08 % sulfato de amonio.

F1: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F2: 0.38 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.4 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.1 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F3: 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F4: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F5: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura de panificación; Nevada oro); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

**TM (temperatura °C)

***Dens (densidad g/cm³)

Los valores muestran que existen cambios entre tratamientos tanto de pH (de 4.8 a 5.8), temperatura (de 23.4 a 24.4 °C) y densidad (de 0.80 a 0.83 g/cm³), lo cual refleja que existe actividad de la población microbiana y que dicha población se encontraba activa ya que se observó que el pH disminuyó de forma rápida en las primeras horas y posteriormente se estabilizó, favoreciendo así el desarrollo de las bacterias ácido-lácticas (BAL), se ha encontrado que en la fermentación de residuos alimenticios, un pH de 5.0 favorece la producción de ácido láctico (Tang et al., 2017). El rango de pH observado se ajusta con valores reportados en fermentaciones realizadas, donde los niveles ácidos de pH ayudan al crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) y limitan el desarrollo y crecimiento de otros microorganismos (Coblentz et al., 2022).

Los valores de pH en las fermentaciones F2 y F3 (4.8 y 4.9), sugieren una alta producción de ácidos orgánicos (Sahara et al., 2014; Olmedo et al., 2015) y los

valores de F4 y F5 (significativamente más altos, 5.8 y 5.6), apoyan la idea de haber tenido menor actividad fermentativa por el retiro o sustitución de levadura 1 por 2 (*Saccharomyces cerevisiae*), pues dichas levaduras proporcionan condiciones ácidas en medios ricos en carbohidratos solubles (Sahara et al., 2014; Olmedo et al., 2015).

Para el caso de bacterias lácticas (BAL), el descenso del pH en F2 y F3 apoyó el desarrollo de éstas (*Lactobacillus plantarum*), pues las BAL necesitan de ambientes ácidos para desarrollarse aún en contra de microorganismos no deseados (Jurado-Gómez & Jarrín-Jarrín, 2015). De acuerdo con Muck (2013), un pH dentro del rango óptimo (4.5 y 5.0) promueve la estabilidad de la fermentación y mejora la conservación de nutrientes.

En el tratamiento F4, el pH final logró estabilizarse en menor tiempo, mostrando un entorno favorable para la actividad metabólica; lo anterior, puede relacionarse con la forma de acción entre el hongo *A. oryzae*, que se encarga de degradar los polisacáridos complejos liberando azúcares simples (Casas, 2018), y a la levadura *S. cerevisiae*, que fermenta los azúcares, generando ácido láctico y otros metabolitos que apoyan a la estabilidad ácida (Sahara et al., 2014).

En los tratamientos en los que se obtuvo el pH más bajo, indican que ocurrió una fermentación acelerada en estos tratamientos; interpretando que existe mayor actividad microbiana generando ácido láctico en mayor proporción, sin embargo, un ambiente ácido favorece a las BAL, pero un pH bajo en la fermentación puede inhibir la actividad de microorganismos benéficos como los hongos encargados de degradar la fibra del sustrato o influir en la producción de enzimas necesarias para continuar la fermentación (Atlas Scientific, 2021; Frontiers in Microbiology, 2020).

Para la variable temperatura (TM), se encontró que existen diferencias significativas entre las temperaturas de los tratamientos. En F4 y F5 (24.4 y 24.0 °C) las temperaturas más altas y en F1 y F2 (23.6 y 23.4 °C), las temperaturas más bajas; las primeras se pueden atribuir como resultado de una menor

actividad microbiana, siendo esta un factor que limitó la disipación del calor y las temperaturas menores, asociadas a una mayor respiración microbiana, donde hay mayor presencia de oxígeno y se produce mayor oxidación de sustratos (Owens & Goetsch, 2013).

En temperatura, se encontró que, durante las primeras horas, hubo un decremento promedio de 1 a 2 °C, debido a la adaptación de los microorganismos y su actividad metabólica en el proceso de fermentación. Los valores encontrados corresponden con la información de Schulte (2015), quien reportó que una variación de la temperatura puede favorecer la fermentación sin afectar la actividad de los microorganismos, indicando un mejor aprovechamiento en el uso del sustrato disponible.

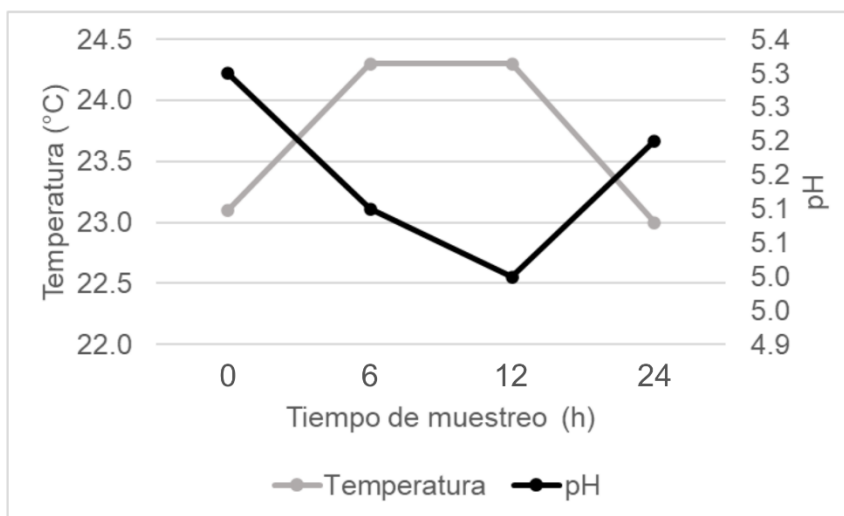


Figura AC 1. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida (F1).

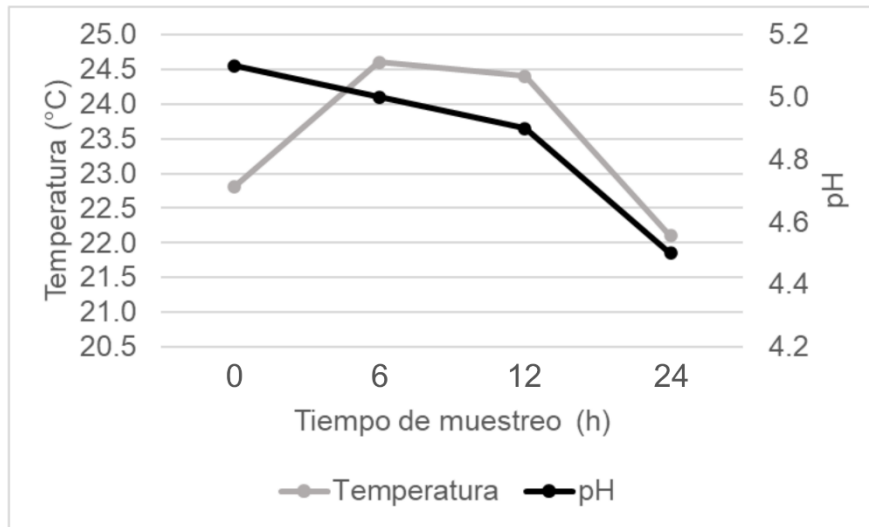


Figura AC 2. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación líquida (F2).

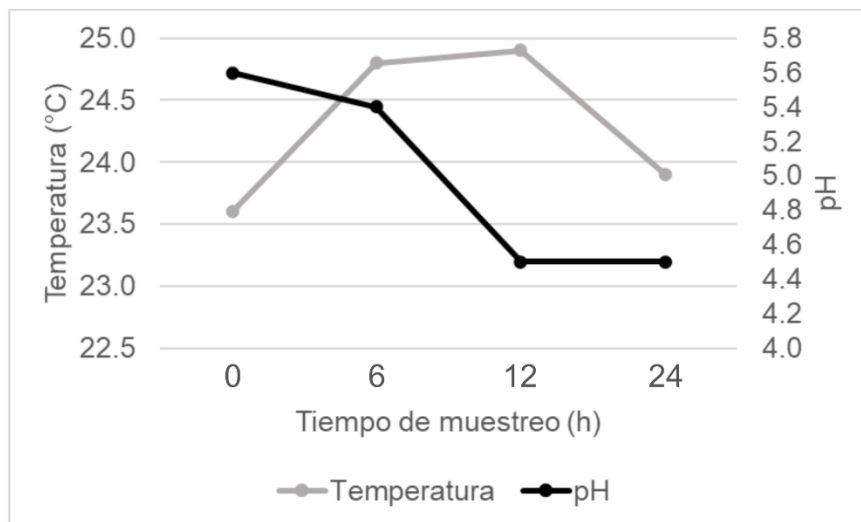


Figura AC 3. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida sin hongo (F3).

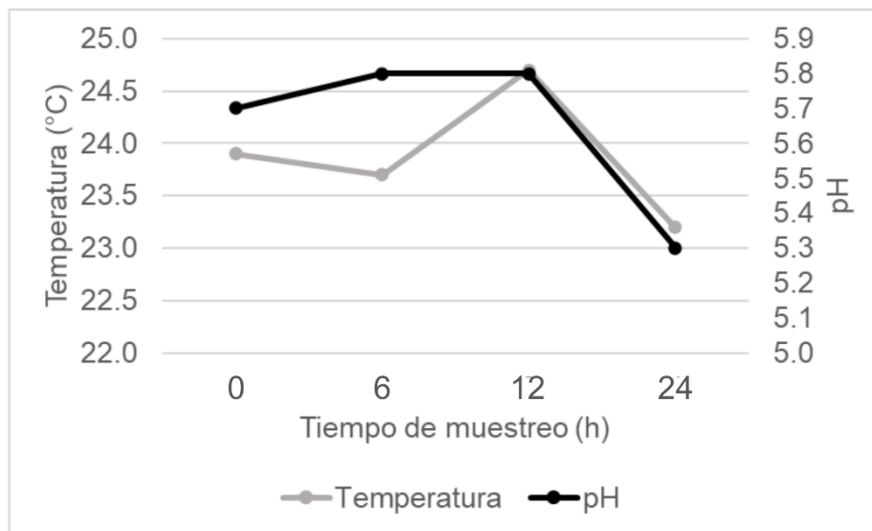


Figura AC 4. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida sin levadura (F4).

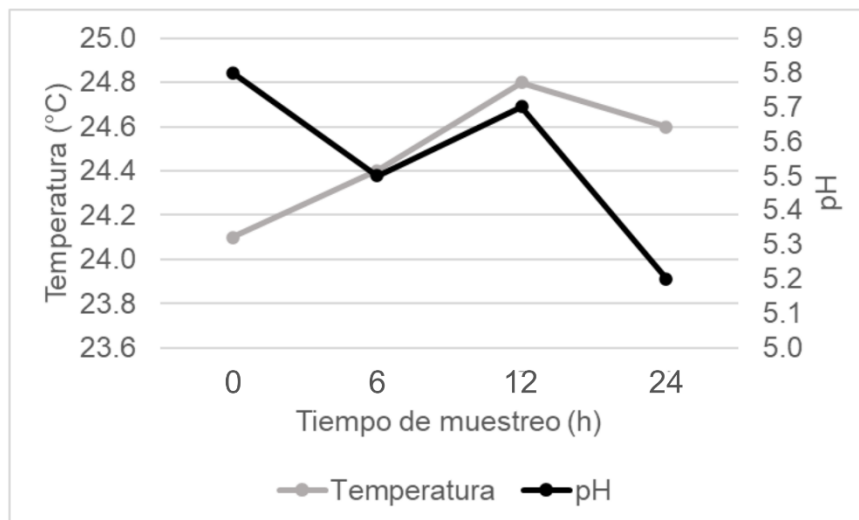


Figura AC 5. Valores de pH y temperatura (TM) durante el proceso de fermentación semisólida con cambio de levadura (F5).

Las variables pH y temperatura en los procesos de fermentación (Figura 1, 2, 3, 4 y 5), son datos clave que ayudan a identificar si se afecta la actividad microbiana y la calidad del producto, el pH influye afectando la eficiencia de las enzimas y la supervivencia de microorganismos, ya que cada microorganismo

tiene un rango óptimo de pH para su crecimiento y actividades vitales; la temperatura controla el ritmo o velocidad de fermentación ya que si existe una temperatura elevada se puede acelerar el proceso, pero si la temperatura es excesiva, esta puede inhibir la actividad de los microorganismos o matarlos (Muck, 2013; Cortés-Sánchez et al., 2014).

Los valores ideales que deberían tenerse para definir que es una buena fermentación según Muck, (2013) y Flores-Hernández et al. (2017), para pH tenemos 4.5 y 6.0 para un desarrollo óptimo de bacterias ácido lácticas (BAL), para favorecer el desarrollo y la actividad microbiana encontramos una temperatura de 24 y 25 °C hasta 37 °C (Owens & Goetsch, 2013). Para estas 3 variables (pH, temperatura y densidad), los valores obtenidos en esta investigación se encuentran dentro de los parámetros recomendados.

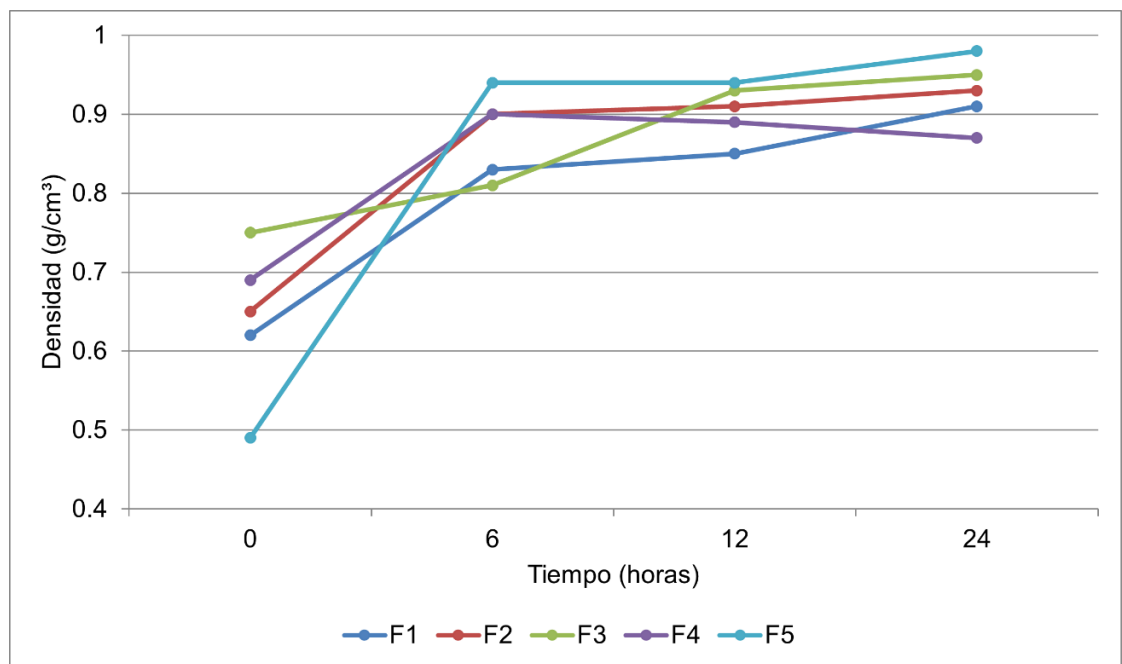


Figura AC 6. Comportamiento de la densidad (g/cm³) durante la fermentación aeróbica semisólida de nopal para cinco tratamientos: fermentación semisólida (F1), fermentación líquida (F2), fermentación semisólida sin hongo (F3), fermentación semisólida sin levadura (F4) y fermentación semisólida con cambio de levadura (F5).

La variable densidad (Figura 6) presentó diferencias significativas ($P=0.0437$); los tratamientos F1, F3 y F5 tuvieron densidades de $\geq 0.84 \text{ g/cm}^3$ (más elevadas), esto se puede relacionar con una menor producción de gases y compuestos volátiles; por otro lado, la F4 presentó la menor densidad (0.83 g/cm^3), la cual se puede asociar a una mejor conversión de los productos solubles y una mayor hidrólisis de la fibra, como se ha reportado en fermentaciones similares con *Aspergillus oryzae* y bacterias lácticas (Casas, 2018; Hernández et al., 2019).

Tomando en cuenta que la temperatura y la densidad apoyan al proceso cuando aumentan, debido a la actividad metabólica. Las variaciones presentadas en los resultados pueden atribuirse al tipo de fermentación, ya que como lo menciona Coblenz et al. (2022) el incremento en la densidad se relaciona con la disminución de agua libre, que resulta de la actividad enzimática y la incorporación de compuestos metabolizados.

Los tratamientos F1, F2, F3 y F5 alcanzaron las densidades más altas a las 24 horas estadísticamente, a excepción F4; el incremento en la densidad se relaciona con la disminución de agua libre, que resulta de la actividad enzimática y la incorporación de compuestos metabolizados, de acuerdo con Coblenz et al. (2022), una mayor densidad ayuda a mejorar la estabilidad del producto, facilitando su almacenamiento y manejo. El tratamiento F5 a las 24 h alcanzó el valor más alto (0.98 g/cm^3), esto indica que hubo una transformación en la consistencia del sustrato más marcada; estos resultados muestran que F2 y F3 fueron las fermentaciones con pH más ácido al finalizar el proceso y que F5 mostró un comportamiento distinto y favorable en densidad, por lo tanto, F5 fue significativamente diferente ($P = 0.0027$) al resto de fermentaciones puesto que estas presentaron valores intermedios y similares.

En el proceso de fermentación semisólida del nopal, en cuanto a la variable densidad, se espera que el nopal (la mezcla o cada tratamiento) adquiriera mayor densidad y dicho incremento se debe a las transformaciones fisicoquímicas del sustrato y a factores asociados con la actividad microbiana, puesto que la fermentación promueve el crecimiento de microorganismos (levaduras y BAL),

que generan biomasa, aumentando la densidad del material fermentado, otra razón es que los microorganismos consumen carbohidratos solubles y azúcares (simples) lo que reduce el contenido de agua libre y contribuye a la compactación del sustrato (Maldonado-Quíñones et al., 2022).

3.5.2 Análisis proximal

El Cuadro 3 muestra los valores promedio obtenidos de la composición química del nopal fermentado en cada tratamiento; los resultados confirman que la fermentación aeróbica mejora la calidad nutricional del nopal al modificar las concentraciones de proteína cruda (PC), materia seca (MS) obtenida por liofilización y fracciones de fibra (FDN, FDA). El incremento en la concentración de MS sugiere una disminución de humedad y una mayor concentración de nutrientes; las fracciones de fibra (FDA y FDN) mostraron modificaciones, con una reducción en las fibras menos digestibles, lo que indica que se mejora la digestibilidad como señalaron McDonald et al. (2013).

Los valores del Cuadro 3, muestran como los datos obtenidos de PC no mostraron diferencias significativas, mientras que las en las demás variables si hay diferencias estadísticas; dentro del efecto de los aditivos microbianos, algunos de estos favorecen la degradación de la fibra; por otro lado, la fermentación aeróbica semisólida puede llegar a provocar pérdidas de materia seca, esto debido a la actividad microbiana, que afecta algunas proporciones de fibra, provocando variaciones en el nivel de degradación.

Cuadro AC 3. Promedios (%) obtenidos del análisis químico proximal y fracciones de fibras en base seca de las fermentaciones aeróbicas del nopal.

Variable (%)	Fermentación*					EEM	Valor P
	F1	F2	F3	F4	F5		
MS ¹	16.6a	16.8a	15.7ab	13.8c	15.3b	0.13	<0.0001
MS ²	92.5c	94.4ab	95.0a	93.4bc	95.4a	0.14	<0.0001
PC	21.6a	20.1a	19.4a	19.6a	19.6a	0.18	0.0869
Cen	15.2a	12.2c	13.3bc	15.6a	14.9ab	0.15	<0.0001
FDN	38.8b	39.8ab	44.7a	38.2b	39.8ab	0.28	0.0171
FDA	13.9c	17.2bc	18.4b	22.0a	15.9bc	0.22	<0.0001
EE	0.48cd	0.37d	0.66b	0.54c	0.87a	0.04	<0.0001

EEM: Error estándar de la media; literales diferentes es igual a diferencia significativa ($p < 0.05$).

*En todos los casos el aditivo mineral consistió de 0.6 % urea, 0.6 % fosfato diamónico y 0.08 % sulfato de amonio.

F1 = 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F2 = 0.38 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.4 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.1 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F3 = 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F4 = 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F5 = 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura de panificación; Nevada oro); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

MS: materia seca, PC: proteína cruda, Cen: cenizas, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, EE: extracto etéreo.

¹Valores obtenidos en muestras antes del proceso de liofilización.

²Valores obtenidos en muestras liofilizadas.

Los tratamientos no registraron un aumento significativo en el contenido de PC entre tratamientos, aunque todos superan el 19 % de proteína total, tomando en cuenta que el contenido de PC del nopal obtenido antes de la adición de fertilizantes y microorganismos fue de 6.45 %; los datos concuerda con investigaciones anteriores (Flores et al., 2019; Herrera-Torres et al., 2014), que reportaron cómo la interacción de los microorganismos apoyaron la conversión de compuestos no proteicos (urea, fosfato diamónico y sulfato de amonio) en fuentes de proteína que pueden ser aprovechadas; esta incorporación de fuentes

de nitrógeno no proteicas, promovió el crecimiento de microorganismos, tal como sugieren Flores-Hernández et al. (2017); esto puede deberse a que *S. cerevisiae* favorece el crecimiento y la actividad de bacterias anaeróbicas y celulolíticas, promoviendo la utilización de compuestos no estructurales y la producción de metabolitos nitrogenados (Elghandour, 2016) y *A. oryzae* actúa como fuente enzimática para la degradación de polisacáridos, permitiendo que se puedan liberar azúcares simples esenciales para la proliferación de bacterias y la síntesis de proteínas (Sosa et al., 2010).

Es importante resaltar que el ajuste en las cantidades de aditivos de una fermentación líquida a una semisólida también los porcentajes de PC obtenidos en el proceso y el retiro de microorganismos no afectó los datos de esta variable, cabe mencionar que existen limitaciones señaladas en estudios anteriores; ya que el nitrógeno proporcionado por la urea y el sulfato de amonio incrementó el contenido de PC en el sustrato fermentado (Muck, 2013; Zicarelli et al., 2016; Martínez-Méndez et al., 2019); en la variable EE (extracto etéreo) se mostraron variaciones significativas en los tratamientos, indicando una degradación parcial de lípidos por acción microbiana; los resultados se asemejan con las investigaciones de la fermentación aeróbica descritas por Muck (2013) y Coblentz et al. (2022), donde se da a conocer la mejora en la composición nutricional del material tratado.

3.5.3 Conteo de población microbiana

El conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) para BAL, levaduras y hongos, cabe mencionar que, debido al número limitado de cajas sembradas, no se realizó un análisis estadístico de las unidades formadoras de colonias (UFC), por lo tanto, esto impidió obtener medidas de dispersión. Sin embargo, se consideró pertinente presentar los datos obtenidos con el fin de visualizar la tendencia en el crecimiento y se mostró una tendencia de crecimiento exponencial y posteriormente una fase de estabilización.

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos (Martínez et al., 2019) que destacan los efectos positivos de la inoculación con microorganismos en el

aumento del contenido de PC del nopal, por lo cual se podría asumir que estos resultados están relacionados con ese aumento de PC.

Cabe mencionar que cada tipo de microorganismo puede seguir un patrón cinético distinto, por ejemplo, en el caso de las BAL, estas generalmente en ambientes con carbohidratos simples y pH ácido logran multiplicarse rápidamente, los hongos requieren mayor tiempo para establecerse debido a su metabolismo más lento (Cortés-Sánchez et al., 2014; Casas, 2018) y las levaduras, presentan una cinética intermedia; por lo tanto, no es adecuado asumir que todos los microorganismos pueden seguir la misma curva de crecimiento.

También, se observó un crecimiento exponencial de BAL, hongos y levaduras en las primeras 6 horas, seguido de una fase de estabilización hacia las 24 h, este patrón de crecimiento indica una fermentación adaptada activa, en el trabajo realizado por Martínez-Méndez et al. (2019), se reportó un crecimiento rápido de BAL durante las primeras horas, pero la población microbiana presentó una reducción en etapas posteriores que puede ser debido a que condiciones como la oxigenación o temperatura no se controlaron de forma adecuada y se encontró que antes de las 12 h es la fase de mayor actividad.

Cuadro AC 4. Tendencia poblacional de hongos durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.

	Log UFC x ml de muestra		
	0	6	24
F1	6.68	6.57	8.02
F2	0.00	6.57	0.00
F3	0.00	6.63	8.11
F4	6.44	6.40	7.93
F5	5.40	0.00	0.00

Todas las fermentaciones con diversa cantidad de aditivos (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6 y 24 h para realizar la siembra de medios.

En el conteo de UFC de hongos, se consideró una población inicial de hongos al tiempo 0 (antes de adicionar los aditivos) de 3.89 Log UFC x ml de muestra, debido a que hubo crecimiento previo al muestreo; los conteos mostraron una fase de adaptación, previo al muestreo tiempo 0 h (al inicio) y posteriormente un crecimiento constante. En el Cuadro 4, se muestra el valor 0 en Log UFC x ml de muestra debido a que no hubo crecimiento de población, no se registraron unidades formadoras de colonias (UFC) detectables de hongos, tomando en cuenta que se evaluó población total en los tiempos de muestreo (0, 6 y 24 h), en F2 estos valores 0, se pueden deber a condiciones del sustrato que pudieron ser desfavorables e inhibieron el desarrollo del hongo. Para los valores 0 de F5 a las 6 y 24 h pueden deberse a las condiciones que proporciona el desarrollo de la levadura utilizada, sugiriendo que puede necesitar mayor cantidad de hongo para que se favorezca el crecimiento, asegurando que el hongo en este tratamiento (F5) inoculado no logró establecerse después del muestreo inicial debido posiblemente a condiciones desfavorables, aunque no se puede asegurar que el crecimiento del hongo fuese de *Aspergillus oryzae*, ni que fuera suficiente este crecimiento para impactar significativamente en la fermentación, el valor 0 se pudo deber también a que el nopal no tuvo un tratamiento previo a su utilización, que debió haber sido una desinfección/lavado; la acción de *A. oryzae* en la degradación de polisacáridos es importante para incrementar la disponibilidad de nutrientes (Cortés-Sánchez et al., 2014), es fundamental resaltar que las condiciones de fermentación fueron adecuadas para permitir el desarrollo y actividad de hongos ya que su proliferación depende de un entorno favorable, principalmente para la degradación de sustrato y la producción de enzimas.

Es importante aclarar que los datos representan conteos poblacionales en tres tiempos definidos (0, 6 y 24 h), lo que permite estimar la dinámica de crecimiento, pero no describe con precisión una curva completa. Por ello, los resultados deben interpretarse como tendencias, no como evaluaciones.

Cuadro AC 5. Tendencia poblacional de levaduras durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.

	Log UFC x ml de muestra		
	0	6	24
F1	7.46	7.98	9.75
F2	9.10	9.07	9.48
F3	8.41	8.27	9.93
F4	7.90	8.03	9.60
F5	7.29	7.37	8.90

La población inicial de levaduras al tiempo 0 antes de adicionar los aditivos era de 8.19 Log UFC x ml de muestra. Todas las fermentaciones con diversa cantidad de aditivos (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6 y 24 h para realizar la siembra de medios.

En el conteo de levaduras (Cuadro 5) se observa que se alcanzó niveles cercanos a los óptimos, tomando en cuenta que el rango de crecimiento de levaduras óptimo es de 8.5 a 10 log UFC/mL en fermentación semisólida de nopal de acuerdo con Martínez-Méndez et al. (2019) y Flores-Hernández et al. (2017), estos niveles de crecimiento cercanos a los óptimos a las 24 horas en los tratamientos F1, F2 y F5, lo que coincide con los resultados de Sahara et al. (2014), quienes reportaron que *S. cerevisiae* no sólo ayuda a incrementar la disponibilidad de carbohidratos fermentables, también mejora la calidad proteica del nopal. Por lo tanto, en el tratamiento F5 la inclusión de levadura de panificación demostró ser una opción viable y económica, ya que tiene un desempeño similar al de las levaduras comerciales para alimentación del ganado. Levaduras y hongos tuvieron un efecto positivo al mantener o mejorar el contenido de proteína y reducir fibra (FDN), lo cual es deseable para la digestibilidad, pero para la FDA se mostraron variaciones, lo que sugiere que no todos los aditivos degradan la fibra lignificada de forma eficaz, siendo esto negativo.

Cuadro AC 6. Tendencia poblacional de bacterias ácido lácticas (BAL) durante la fermentación aeróbica de nopal de cinco tipos de fermentación.

	Log UFC x ml de muestra		
	0	6	24
F1	6.35	7.13	10.16
F2	>9.0	>9.0	9.53
F3	6.63	8.36	9.51
F4	5.40	6.65	9.34
F5	6.00	7.23	9.21

La población inicial de BAL al tiempo 0 antes de adicionar los aditivos era de 1.35 Log UFC x ml de muestra. Todas las fermentaciones con diversa cantidad de aditivos (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6 y 24 h para realizar la siembra de medios.

En todos los tratamientos se observó un rápido incremento en el crecimiento de BAL durante las primeras 12 horas (Cuadro 6), alcanzando su crecimiento máximo en un valor cercano a 10^8 UFC/g, por ello es colocado en el cuadro el valor >9, ya que en el nopal inoculado de 0 y 6 horas con la dilución sembrada el valor era alto, lo que hizo imposible la contabilización de las UFC. El crecimiento a las 24 h con la dilución sembrada mostró que dichos valores fueron mayores. Este crecimiento puede atribuirse al ambiente ácido (pH: 4.5-5.0), favorable para su proliferación (Jurado-Gámez y Jarrín-Jarrín, 2015).

Con los resultados obtenidos, se destaca la importancia del control adecuado del pH (4.5 a 6.0), la temperatura (25 °C a 37 °C) y la densidad (≥ 0.90 g/cm³ al finalizar y durante el proceso) en los procesos fermentativos, como mencionan Muck (2013) y McDonald et al. (2013); asimismo, se comprueba el potencial de microorganismos como *S. cerevisiae* y *A. oryzae* para convertir productos de bajo valor nutricional en insumos de mayor calidad (Flores et al., 2019; Herrera-Torres et al., 2014).

Con los conteos de UFC y con los resultados obtenidos de pH, temperatura y densidad, en todos los tratamientos se observó rápido incremento en el crecimiento de BAL durante las primeras horas, se puede decir que se cumple el objetivo de mejorar la digestibilidad y disponibilidad de nutrientes del nopal

fermentado debido a la realización de diferentes fermentaciones, incluyendo levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), hongo (*Aspergillus oryzae*) y BAL pues con el crecimiento de las UFC se favorece la degradación de polisacáridos y la disponibilidad de nutrientes, como lo afirman Casas (2018) y Herrera-Torres et al. (2014).

Con los resultados obtenidos, el tipo de fermentación más adecuada es la fermentación aeróbica semisólida haciendo uso de un consorcio microbiano compuesto de levaduras, hongos y BAL, dicha fermentación mostró que mantiene condiciones fisicoquímicas estables, promueve un crecimiento microbiano eficiente, y mejora el perfil nutricional del nopal.

En general, el manejo de la fermentación en el desarrollo de los microorganismos y la calidad del nopal fermentado, está relacionado con la agitación y los periodos de descanso; la primera hace su aporte favoreciendo la oxigenación, estimulando el crecimiento de hongos y levaduras, además de que facilita la distribución (de forma uniforme) de los nutrientes y microorganismos, beneficiando para que no existan zonas de sobrecrecimiento o de inhibición, contribuye con la disipación del calor que se pueda generar, ayudando a la prevención del sobrecalentamiento del sustrato; limita la proliferación de microorganismos indeseables (bacterias patógenas) reduciendo zonas anaeróbicas. La agitación constante aporta con un impacto positivo en la calidad de la fermentación pues mejora la estabilidad del proceso, por ella se favorece una fermentación uniforme y con ello mejora la digestibilidad. Los periodos de descanso también son benéficos para el proceso, ayudan al crecimiento de bacterias lácticas (anaerobias), ayudando a mantener un pH deseado.

Sin embargo, se debe tener especial cuidado si se extienden los periodos de descanso entre mezclas durante la fermentación puede afectar negativamente el proceso ya que al ser prolongados puede favorecer la producción de compuestos no deseados como alcoholes (Albæk, 2010; Tejedor-Sanz et al., 2021).

3.5.4 Cinética de la producción de gas, degradabilidad MS y fracciones fermentables *in vitro*

En el Cuadro 7 se muestra las fracciones fermentables *in vitro* de nopal fermentado (F1 a F5), los resultados indican que en las fracciones de fermentación rápida (FFR), fracción de fermentación media (FFM) y fracción de fermentación lenta (FFL), hubo efecto significativo de la hora (tiempo durante el proceso de fermentación; $P < 0.05$), esto indica que el tiempo influye en los compuestos que se fermentan, pues tanto los aditivos microbianos (levadura *Saccharomyces cerevisiae*, hongo *Aspergillus oryzae* y bacterias ácido lácticas) como las fuentes de nitrógeno como la urea, sulfato de amonio y DAP actúan como nutrientes para favorecer el crecimiento microbiano y potenciar el proceso fermentativo.

Por otro lado, no se detectó efecto significativo de la hora en la fracción de fermentación total (FFT; $P = 0.6159$), lo cual puede explicarse ya que, aunque las fracciones (rápida, media y lenta) varían con el tiempo, la suma de estas (FFT) puede mantenerse constante como resultado del equilibrio entre ellas; esto quiere decir que se transforman componentes estructurales y debido a la acción enzimática de los microorganismos en específico, se confirma que, en todas las fracciones fermentables, sí hubo efecto del tratamiento ($P < 0.0001$), esto demuestra que la combinación y tipo de ingredientes incorporados a la fermentación modifican la eficiencia de esta y la disponibilidad de nutrientes en la fermentación.

En el análisis de fracciones fermentables (FFR, FFM, FFL y FFT), se tiene que destacar que se debe favorecer FFM y FFT, debido a que la primera representa a los carbohidratos de fermentación intermedia, como las hemicelulosas y pectinas parcialmente estructuradas, pues estos compuestos proporcionan energía al rumiante.

Es fundamental entender que una FFM indica que dentro del tiempo adecuado no se fermentan los nutrientes que contiene el nopal fermentado y que no podrían ser utilizados de forma eficiente por los microorganismos ruminales del animal; la FFT al ser la suma de FFR, FFM y FFL, refleja la cantidad total de materia orgánica fermentable, es decir, el potencial energético total que el animal puede aprovechar. Una alta FFT indica un alimento más eficiente y aprovechable en términos nutricionales (Albæk, 2010; Tejedor-Sanz et al., 2021).

En este caso los datos mostraron que existe efecto de tratamiento, en la F1 la FFR mejoró el arranque de la fermentación, mientras que para FFM la F1 siguió siendo más baja en comparación con las demás fermentaciones (F2, F3, F4, F5); cuando sólo se adiciona hongo (F4) o su adición es baja (F1), no ayudó al proceso; los resultados en F1 y F4 son parecidos ya que muestran resultados similares en fermentación lenta (FFL), pero fueron diferentes en FFR y FFM por lo que el hongo no favoreció a estas fracciones de fermentación. La levadura ayudó tanto a FFR como a FFM, pero para FFL la sustitución no obtuvo buenos resultados; el tiempo no afectó FFR, pero si a FFM, ya que la aumentó a las 12 y 24 h, por lo tanto, se necesitan 12 horas mínimo de fermentación para obtener resultados favorables.

La inclusión de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y hongos como *Aspergillus oryzae* favoreció la degradación de polisacáridos y la disponibilidad de nutrientes, ya que la levadura en F1 mejoró FFR, pero FFM siguió siendo baja, por lo tanto, en esta parte la adición de esos microorganismos, F3 y F5 mostraron la mayor digestibilidad *in vitro* (85.33 % y 87.12 respectivamente), confirmando que la inclusión de inóculo de levaduras mejora la calidad del nopal.

El tratamiento F3 (fermentación semisólida sin hongo) y F5 (fermentación semisólida con cambio de levadura), generaron mayores valores de FFT y FFM, lo cual es positivo porque indica mayor disponibilidad de nutrientes fermentables, el tratamiento que aumenta FFL en exceso, indica fermentación lenta o ineficiente, lo que tiene un efecto negativo, ya que estaría indicando que la mayor parte de los compuestos son degradados lentamente, siendo un alimento que no es fácilmente de digerir (Albæk, 2010; Zhong et al., 2016; Tejedor-Sanz et al., 2021).

Bajo este análisis la mejor opción para desarrollar la fermentación es F3 (fermentación semisólida sin hongo) debido a que presenta mejores valores en FFM y FFT, además de tener una fermentación media (FFM) más alta, lo cual implica un mejor aprovechamiento, su valor de fermentación total (FFT) también es el más elevado del cuadro, lo que indica que mayor cantidad de sustrato fue fermentado; tiene mejor eficiencia en el proceso. Refleja su equilibrio entre fracciones puesto que no tiene valores excesivos de FFR.

Cuadro AC 7. Fracciones fermentables *in vitro* de nopal tratado durante la fermentación aeróbica de nopal.

Fermentación*	Hora **	Fracciones de fermentación (g/kg) ***			
		FFR	FFM	FFL	FFT
F1	0	171.7	200.5	232.5	604.8
F1	6	171.4	170.8	218.4	560.6
F1	12	151.5	205.6	238.1	595.2
F1	24	149.6	212.2	227.9	589.7
F2	0	192.6	215.5	276.9	685.0
F2	6	190.9	209.7	273.5	674.2
F2	12	193.1	233.0	269.4	695.5
F2	24	182.8	228.4	267.0	678.3
F3	0	177.0	203.0	290.1	670.2
F3	6	190.8	220.4	299.8	711.0
F3	12	199.2	227.7	273.9	700.8
F3	24	216.7	250.4	287.0	754.1
F4	0	205.3	211.9	262.1	679.3
F4	6	193.1	200.1	264.0	657.1
F4	12	177.4	199.4	236.8	613.7
F4	24	172.1	224.9	229.3	626.2
F5	0	203.8	220.2	245.9	669.8
F5	6	197.3	208.3	233.3	638.9
F5	12	190.8	236.7	229.9	657.4
F5	24	177.7	224.4	220.0	622.1
Factor		P			
Fermentación		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Hora		0.0354	<.0001	0.0072	0.6159
Fermentación*Hora		<.0001	0.089	0.1006	0.0037

*En todos los casos el aditivo mineral consistió de 0.6 % urea, 0.6 % fosfato diamónico y 0.08 % sulfato de amonio.

F1: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F2: 0.38 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.4 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.1 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F3: 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F4: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

F5: 0.1 % de *Aspegillus oryzae* en arroz; 0.05 % *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura de panificación; Nevada oro); 0.005 % *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* (Biosile®).

**Tiempo de fermentación en el bioreactor.

***Fracciones de fermentación rápida (FFR), media (FFM), lenta (FFL) y total (FFT).

FFT destacó en el tratamiento F3 (fermentación semisólida sin hongo) a las 24 h, por presentar el valor más alto de todos los tratamientos (754.1 g/kg), esto indica que fue el tratamiento con mayor cantidad de materia orgánica fermentada y sugiriendo una mayor eficiencia en conversión del sustrato, y esto concuerda con los resultados de Zhong et al. (2016), quienes señalaron el papel de las levaduras en la degradación de fibras mediante la mejora en la actividad microbiana. Por otro lado, el tratamiento F2 (fermentación líquida), mostró efectos positivos que favorecieron la fracción lenta (FFL), lo que incrementó el aprovechamiento total; comparado con Maldonado-Quiñones et al. (2022) la combinación sinérgica de microorganismos es más efectiva para incrementar las fracciones digestibles, particularmente en materiales lignocelulósicos.

3.5.5 Cinética de la producción de gas de fermentación: Vm, S, L y DIVMS72

En el Cuadro 8, se muestra cómo las variables de volumen máximo (Vm), tasa de fermentación (S), fase LAG (L) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 72 h (DIVMS72), esto indica que para Vm y S, todos los tratamientos se comportaron de manera distinta según los tratamientos y tiempos de fermentación; el tratamiento F3 (sin hongo) tuvo el valor más alto de Vm a las 24 h, destacando por una tasa de fermentación más rápida, lo que lo convierte a F3 en el tratamiento más eficiente en términos de cinética de producción de gas, estos resultados concuerdan con Zhong et al. (2016), quienes atribuyen a las levaduras como *S. cerevisiae* la mejora de la degradación de fibras, dando así un papel relevante en el aumento de la degradabilidad de los sustratos; lo que explica el buen desempeño del tratamiento F3, que incluye levadura pero sin hongo; por lo tanto, F3 representa una formulación óptima para procesos donde se busca maximizar la velocidad y el potencial de fermentación del nopal.

Cuadro AC 8. Comportamiento de las variables volumen máximo (Vm); tasa de fermentación (S); fase LAG (L); digestibilidad *in vitro* a 72 horas (DIVMS72) en nopal durante la fermentación aeróbica en cinco diferentes fermentaciones.

Trat	Hora	Parámetros			
		Vm	S	L	DIVMS72
F1	0	285.167	0.030	2.920	81.293
F1	6	263.350	0.028	1.494	81.265
F1	12	280.550	0.031	3.823	83.196
F1	24	278.317	0.033	3.927	79.585
F2	0	321.617	0.029	2.759	81.499
F2	6	319.200	0.028	2.343	83.435
F2	12	326.500	0.031	2.997	83.298
F2	24	320.000	0.031	3.518	75.809
F3	0	315.183	0.028	3.068	82.516
F3	6	334.700	0.028	2.931	83.397
F3	12	328.383	0.030	2.761	85.336
F3	24	353.383	0.031	3.136	83.407
F4	0	315.350	0.031	2.500	83.290
F4	6	308.450	0.029	2.435	76.694
F4	12	287.650	0.030	2.619	83.988
F4	24	294.983	0.034	3.930	83.820
F5	0	312.383	0.032	2.651	82.324
F5	6	297.567	0.032	2.879	87.118
F5	12	309.467	0.035	3.744	82.473
F5	24	291.933	0.035	3.938	84.940
Factor	P				
Trat		<.0001	<.0001	0.2712	0.003
Hora		0.7285	<.0001	<.0001	0.1023
Trat*Hora		0.0053	0.6274	0.0045	<.0001

Todas las fermentaciones (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6, 12, 24 h y de nopal a las 0 h. Vm, volumen máximo; S, tasa de fermentación; L, fase LAG; DIVMS72, digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 72 horas.

Para las variables Vm, S y DIVMS72 todos los tratamientos fueron significativamente diferentes; basándose en los parámetros: Vm (>330 mL/g MS) alto potencial fermentativo y degradabilidad, S (0.030 y 0.035) y L (2.5 y 3.5 horas) esto favoreció la adaptación microbiana y DIVMS72 ($\geq 85\%$) que reflejó una alta digestibilidad (Herrera-Torres et al., 2014; Flores-Hernández et al., 2017; Menke & Steingass, 1988; Theodorou et al., 1994); se encontró que el tratamiento

F3 a las 24 h (V_m : 353.38 mL/g, S : 0.031, DIVMS72: 83.4 %) presentó el mejor desempeño en cinética fermentativa, mientras que F5 a las 6 h (S : 0.035, DIVMS72: 87.12 %) mostró la mayor digestibilidad, aunque no obtuvo buenos valores en V_m ; esto nos ayuda a concluir que F3 es el más equilibrado pues apoya a maximizar la eficiencia fermentativa y la disponibilidad energética del nopal fermentado. Además, la interacción tratamiento $\times$ hora fue significativa para V_m ($p = 0.0053$), L ($p = 0.0045$) y DIVMS72 ($p < 0.0001$), lo que indica que el comportamiento de estas variables depende tanto del tipo de tratamiento como del tiempo de fermentación.

La mayor eficiencia en la digestibilidad *in vitro* observada en F5 (fermentación semisólida con cambio de levadura) a las 6 h y F3 (fermentación semisólida sin hongo) a las 12 h (87.12 % y 85.33 %, respectivamente) concuerda con los valores máximos reportados por Menke y Steingass (1988), quienes describieron que la inclusión de inóculo de levaduras y bagazo de manzana fermentado en las dietas para becerros mejora las características nutricionales, fermentativas y la biodisponibilidad de nutrientes.

Desde el punto de vista de rendimiento fermentativo, el tratamiento F3 (fermentación semisólida sin hongo) es el mejor, pues incrementa de forma simultánea la disponibilidad inicial, el potencial de fermentación y la velocidad de aprovechamiento, lo que lo hace el más completo, seguido de F5 (fermentación semisólida con cambio de levadura), siendo ideal para procesos donde se desea alta eficiencia con productos de fácil acceso, ya que el criterio principal de evaluación fue discutir la eficiencia de fermentación y conocer como aumenta la digestibilidad y disponibilidad de nutrientes del nopal mediante el uso de aditivos microbianos (levaduras, hongos, BAL) evaluando las variables como: DIVMS72, volumen de gas (V_m), tasa de fermentación (S) y fracciones fermentables (FFR, FFM, FFL).

3.5.6 Parámetros de digestibilidad *in vitro*: DIVMS24, Vt y % CH₄

El Cuadro 9 muestra parámetros de digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 24 h (DIVMS24), así como el volumen total de gas producido (Vt) y la producción de metano (% CH₄) del nopal fermentado; la digestibilidad mostró un incremento en las fermentaciones que incluyeron *Saccharomyces cerevisiae* (F1, F2, F3 y F5). La producción de CH₄ en rumiantes es un subproducto natural de la fermentación entérica, pero representa una pérdida de energía y una contribución al calentamiento global.

Cuadro AC 9. Indicadores de impacto ambiental: volumen total (Vt), digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 24 h (DIVMS24) y porcentaje de metano (CH₄) en nopal durante la fermentación aeróbica del nopal (mL g⁻¹)

Trat	Hora	Indicadores		
		Vt	DIVMS24	% CH ₄
F1	0	96.333	56.911	22.324
F1	6	88.833	59.266	19.198
F1	12	89.250	59.216	22.601
F1	24	86.917	59.904	23.114
F2	0	94.917	56.365	20.457
F2	6	88.750	53.760	21.487
F2	12	91.000	48.737	22.909
F2	24	93.250	58.929	24.772
F3	0	92.083	54.919	23.101
F3	6	85.833	57.008	20.747
F3	12	94.833	48.425	18.441
F3	24	99.167	60.331	21.682
F4	0	90.333	54.358	18.314
F4	6	91.167	49.313	22.052
F4	12	87.000	63.926	22.086
F4	24	86.333	63.712	20.070
F5	0	94.417	59.151	20.597
F5	6	89.750	59.439	21.617
F5	12	89.333	58.548	20.502
F5	24	86.000	61.880	20.084
Factor	P			
Trat		0.0277	0.0271	0.7760
Hora		0.0029	0.0071	0.9033
Trat*Hora		0.0006	0.0120	0.8270

Todas las fermentaciones (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6, 12, 24 h y de nopal a las 0 h. Vt, volumen total; DIVMS24, digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 24 horas; % CH₄, porcentaje de metano.

El Cuadro 9 muestra que el tratamiento F3 (fermentación semisólida sin hongo) y el tratamiento F5 (fermentación semisólida con cambio de levadura) obtuvieron las mejores características de fermentación si nos basamos en las tres variables plasmadas en dicho cuadro (Vt, DIVMS24 y CH₄) encontramos que F3 a las 24 h mostró alta digestibilidad (DIVMS24: 60.331 %), mayor volumen total de gas (Vt: 99.167 mL/g MS) y una baja producción de metano (CH₄: 21.682 %); por otro lado, F5 mostró una DIVMS24 aún mayor (61.880 %) que F3 pero con menor

valor de Vt (86.000 mL/g MS) y baja producción de CH₄ (20.084 %). En los dos casos, ambos tratamientos lograron obtener alta digestibilidad y a su vez bajas emisiones de metano, esto nos indica una fermentación eficiente sin altas emisiones y con ello que su elaboración y suministro es favorable con el ambiente.

La interacción tratamiento × hora fue significativa para Vt ($p = 0.0006$) y DIVMS24 ($p = 0.0120$), lo que sugiere que la influencia del tratamiento varía según el momento de la fermentación, o, dicho en otras palabras, que los resultados no son uniformes a lo largo del tiempo y algunos tratamientos mejoran según la hora de muestreo.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas en DIVMS24 tanto por tratamiento ($p = 0.0271$) como por hora ($p = 0.0071$), y de igual forma en la interacción ($p = 0.0120$), por lo tanto, la digestibilidad *in vitro* se vio influenciada por el tipo de tratamiento, así como tampoco por la hora de muestreo de la fermentación.

Los valores obtenidos de estos tratamientos (F3 y F5 a las 24 h) se deben probablemente a una mejor utilización del sustrato fermentable que deja menos residuos estructurales metanogénicos, en comparación con otros sistemas o dietas, las dietas con heno o ensilados de baja calidad, suelen generar valores de metano entre 17 y 23 mL/g MS y dietas ricas en concentrados o aditivos reportan valores entre 13–16 mL/g MS (Bodas et al., 2012; Beauchemin et al., 2008).

Cuadro AC 10. Indicadores de impacto ambiental: producción de metano (CH₄); indicador de impacto ambiental (IIA), índice potencial de calentamiento global (IPCG) durante la fermentación aeróbica del nopal.

Trat	Hora	Indicadores		
		CH ₄ (%)	IIA	IPCG
F1	0	34.557	4.081	617.627
F1	6	27.061	3.973	540.600
F1	12	31.115	4.602	614.611
F1	24	31.173	4.829	621.276
F2	0	31.288	3.906	575.635
F2	6	29.484	4.390	590.733
F2	12	33.254	4.450	622.597
F2	24	38.238	4.496	663.043
F3	0	33.635	4.573	628.690
F3	6	27.881	4.353	569.727
F3	12	28.237	3.549	533.852
F3	24	34.604	3.893	608.798
F4	0	25.884	3.771	524.846
F4	6	31.107	4.377	606.257
F4	12	29.107	4.687	600.987
F4	24	26.263	4.355	556.683
F5	0	30.615	3.966	579.185
F5	6	29.759	4.381	594.251
F5	12	27.847	4.251	570.060
F5	24	26.596	4.322	556.339
Factor		P		
Trat		0.2874	0.8424	0.7505
Hora		0.7005	0.5265	0.9196
Trat*Hora		0.6730	0.4207	0.8102

Todas las fermentaciones (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; se tomaron muestras a las 0, 6, 12, 24 h y de nopal a las 0 h. CH₄, producción de metano; IIA, indicador de impacto ambiental; IPCG, índice potencial de calentamiento global.

En el Cuadro 10, para estos indicadores de impacto ambiental no existen diferencias ($p>0.05$) ni en tratamiento, ni hora o interacción, esto indica que los resultados mostraron que el ajuste en el uso de los aditivos (hongo, levaduras y BAL) puede influir en el impacto ambiental (producción de CH₄, IIA e IPCG).

Aunque no se observan diferencias significativas en los indicadores, F4 (fermentación semisólida sin levadura) y F5 (fermentación semisólida con cambio de levadura) a las 24 h mostraron los valores más bajos de CH₄, IIA e IPCG, que indica que cuando se retira la levadura (F4) o se cambia la fuente de levadura (F5) se presenta un beneficio ambiental. Por otro lado, el tratamiento que menos favorece el impacto ambiental es F2 a las 24 h pues presentó el valor más alto de IPCG (663.04) y CH₄ (38.24 %) siendo desfavorable ambientalmente.

La aseveración anterior de que tratamientos con alta digestibilidad y baja producción de CH₄ (F5) son mejores ambientalmente, concuerda con lo afirmado por Beauchemin et al. (2008) y Bodas et al. (2012), que enuncian que dietas con mayor digestibilidad tienden a generar menor metano.

3.5.7 Costos de producción de la fermentación aeróbica semisólida de nopal

En el Cuadro 11, se muestra los costos de producción de la fermentación aeróbica semisólida de nopal, considerando costo por tonelada de nopal fermentado, tomando en cuenta únicamente el precio de cada uno de los ingredientes adicionados.

Cuadro AC 11. Costos de producción de la fermentación aeróbica semisólida de nopal.

Parámetro	Fermentación				
	F1	F2	F3	F4	F5
PC base (%)	6.45	6.45	6.45	6.45	6.45
PC 24h (%)	21.6	19.4	19.6	20.4	20.8
Aumento PC (%)	15.1	12.9	13.1	13.9	14.3
Costo por tonelada (\$ MXN)	458.5	4,496.3	434.5	317.7	384.4

Todos los aditivos (F) contienen fertilizantes: urea 0.6 %, fosfato diamónico 0.6 % y sulfato de amonio 0.08 %; F1: hongo 0.1 %, levadura 0.05 %, BAL 0.005 %; F2: hongo 0.38 %, levadura 0.4 %, BAL 0.1 %; F3: F1 sin hongo, F4: F1 sin levadura y F5: F1 sustituyendo fuente de levadura; PC base, proteína cruda nopal sólo, PC 24h, proteína cruda al término de la fermentación de 24 h.

El costo se asignó considerando el costo de aditivos utilizados por tonelada de nopal fermentado:

Costo total = cantidad de aditivo usado × precio por unidad (kg o litro) del aditivo.

El precio no toma en cuenta: precio de materia prima (nopal), costo por mano de obra, energía, agua, precio de equipos, ni costos indirectos (logística, almacenamiento, etc.).

La razón por la que se incrementa el precio en el tratamiento F2, es debido al uso excesivo del producto comercial Biosile® (synBios®, México), compuesto de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus*, pues su ficha técnica indica una dosis de 250 g (1 frasco) para inocular 50 toneladas, dando como resultado usar 0.005 g de inoculante para 1 kg de nopal; sin embargo, se utilizó 100 g del producto comercial Biosile® para 100 kg de nopal, es por ello que en F2 al hacer uso de una mayor cantidad de aditivo su costo se eleva.

El Cuadro 11 muestra los costos estimados para la producción mediante fermentación aeróbica semisólida de nopal, cada inversión permitió obtener un producto con un aumento significativo en el contenido de proteína cruda (PC), al pasar de un valor inicial del 6.45 % en el nopal fresco a un 21.6 % (F1), 19.4 % (F2), 19.6 % (F3), 20.4 % (F4) y 20.8 % (F5) respectivamente, aunque no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$), pues ninguno resultó claramente superior al resto desde el punto de vista estadístico; sin embargo todos los tratamientos fueron eficaces para incrementar el contenido de PC respecto al nopal fresco (6.45 %).

Este aumento en el contenido de proteína resalta la eficiencia del proceso fermentativo y la conversión biotecnológica del sustrato vegetal. Al considerar este incremento, se estima que el costo por cada punto porcentual de aumento de proteína cruda varía entre \$22.85 (F4) y \$33.16 (F3) hasta \$348.52 (F2) MXN aproximadamente, lo que en las primeras dos cantidades refleja un rango favorable entre la inversión realizada y la mejora nutricional del producto final.

Cabe mencionar que el ajuste en la cantidad de bacterias lácticas (BAL) en la F1 en comparación con F2, mostró ser efectiva al tener una tendencia positiva en los niveles de PC, obteniendo también una reducción de costos de producción.

En términos comparativos, este nivel de enriquecimiento proteico posiciona al producto fermentado como una alternativa viable para aplicaciones en nutrición animal, especialmente si se considera la posibilidad de reducir costos mediante el aprovechamiento de materiales disponibles de forma local y la eliminación del uso de aditivos de difícil acceso o alto costo como el hongo *Aspergillus oryzae*. Por tanto, la fermentación aeróbica semisólida del nopal no solo incrementa el valor nutricional del nopal molido, sino que también demuestra una razonable eficiencia económica en función del beneficio obtenido.

3.6 Conclusiones

La fermentación aeróbica semisólida (F1), con levadura (*S. cerevisiae*), hongo (*A. oryzae*) y BAL, se considera el tratamiento de mayor valor nutricional y eficiencia ruminal, debido a que fue la más eficiente, alcanzando 70.4 % de digestibilidad *in vitro* a 72 h, y una cinética relevante con $V_m = 174.3 \text{ mL g}^{-1}$, $S = 0.062 \text{ h}^{-1}$ y $L = 2.1$, estos resultados muestran que la acción combinada de los microorganismos utilizados facilitaron la degradación de fibras bajo condiciones fisicoquímicas adecuadas para el desarrollo microbiano.

El retiro de microorganismos (F3: sin hongo y F4: sin levadura) redujo los valores de conteos de población microbiana, afectando de forma negativa la calidad fermentativa y productiva del nopal, aumentando hasta 14.3 % de PC y una digestibilidad de 58.4 % en F4. Si se considera el pH y la temperatura (4.9-5.6, 25-30 °C), encontramos que estas condiciones fisicoquímicas fueron óptimas en todos los tratamientos y que la densidad disminuyó de forma progresiva, favoreciendo así el crecimiento microbiano, con esto se comprueba que el efecto combinado de microorganismos refleja un mejor resultado de fermentación y un aumento en el valor nutritivo del nopal.

La sustitución de levadura 1 por levadura 2(F5) es una opción viable y rentable para sistemas de producción animal con recursos limitados ya que logró mantener una DIVMS72 de 66.3 % con una reducción del 18.6 % en el costo de producción.

La fermentación semisólida con cambio de levadura(F5) con 20.8 % de PC a las 24 h y \$384.4 ton destaca como alternativa rentable de la fermentación aeróbica semisólida del nopal debido a que aumenta su valor nutricional y reduce costos, a diferencia de F1 que, aunque logró 21.6 % de PC a las 24 h (el valor más alto), su costo fue mayor.

3.7 Literatura citada

- Albæk, M. O. (2010). Evaluation of the efficiency of alternative enzyme production in submerged fermentation (Tesis de doctorado, Universidad Técnica de Dinamarca). Orbit DTU. https://orbit.dtu.dk/files/9855372/PROCESS_Mads%20Orla%20Alb_k_PhD%20Thesis.pdf
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists, EE. UU. Animal feed, 24-58.
- Atlas Scientific. (2021). How Does pH Affect Fermentation? <https://atlas-scientific.com/blog/how-does-ph-affect-fermentation/>
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 21-27. <https://doi.org/10.1071/EA07199>
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., & López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4), 78-93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>
- Campos, A. G. (2012). Producción de un alimento fermentado en estado sólido a partir de la pollinaza y vitafert. Academia.edu. https://doi.org/109887575/s200_adrian
- Casas R., S. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*: Estimuladores y modificadores de la fermentación y crecimiento microbiano ruminal. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 1–8. https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200001
- Coblentz, W. K., Akins, M. S., Jaramillo, D. M., & Cavadini, J. S. (2022). Nutritive value, silage fermentation characteristics, and aerobic stability of grass-legume round-baled silages at differing moisture concentrations with and without manure fertilization and microbial inoculation. *Journal of Animal Science*, 100(11). <https://doi.org/10.1093/jas/skac325>
- Cortés-Sánchez, A., Guadarrama, L. M., & Díaz-Ramírez, M. (2014). Producción de biomasa a partir de *Aspergillus oryzae* en cultivo sumergido. *BIOtecnia*, 16(3), 11-15. <https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.106>
- Dávila-Fernández, N., & Hernández-García, J. E. (2006). Métodos de ensayos rápidos de detección de microorganismos en la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 3(7), 1-18. Consultado en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070706/070603.pdf>.
- Díaz-Plascencia, D., Martínez-Yáñez, R., Mendoza-Carrillo, J., & Muela, C. (2012). Design and evaluation of a liquid beneficial yeast active additive for ruminant animal diets. *Ugto*.

https://www.academia.edu/14623482/Design_and_Evaluation_of_a_Liquid_Beneficial_Yeast_Active_Additive_for_Ruminant_Animal_Diets?utm_source

- Elghandour, M. Y. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* y su impacto sobre la capacidad fermentativa microbiana en herbívoros (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma del Estado de México. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/59209>
- Flores, H., A., Macías, R., F. J., Meza, H., C., García, H., G., Esquivel, A., O., Ortiz, S., J., & Hernández, B., C. (2019). Fermentación semisólida del nopal (*Opuntia spp*) para su uso como complemento proteico animal. *Revista De Geografía Agrícola*, (63), 87–100. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2019.63.04>
- Flores-Hernández, A., Araújo-Filho, J. T., Gomes da Silva, F., Ramírez-Ordoñez, S., & Murillo-Amador, B. (2017). Dietas a base de forraje tradicional y nopal (*Opuntia spp.*) enriquecido con proteínas para alimentar cabras. *Nova Scientia*, 9(18), 149-166.
- Frontiers in Microbiology. (2020). Understanding how microorganisms respond to acid ph is central to their control and use in industrial fermentation. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.556140/full>
- Herrera-Torres, E., Murillo, M., Berumen, L., Páez, J., & Villarreal, G. (2014). Efecto de *Sacharomyces cerevisiae* y *Kluyveromices marxianus* durante el tiempo de fermentación en la calidad nutritiva del nopal forrajero. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1(1), 33–40. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000100004
- Jurado-Gámez, H., & Jarrín-Jarrín, V. (2015). Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. *Biosalud*, 14(2), 49-62. <https://doi.org/10.17151/biosa.2015.14.2.5>
- Maldonado-Quñones, H., Barraza-Govea, J. M., Carrete-Carreón, F. O., Murillo-Ortiz, M., Häubi-Segura, C. U., Flores-Hernández, A., Pámanes-Carrasco, G. A., & Rosales, E. E. A. (2022). Calidad nutritiva y densidad microbiana de nopal duraznillo (*Opuntia leucotricha*) fermentado en estado sólido. *Acta Universitaria*, 32, 1-15. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3559>
- Martínez-Méndez, E. M., Aranda-Osorio, G., Miranda-Romero, L. A., y González-Ariceaga, C. C. (2019). Caracterización del proceso de fermentación aeróbica del nopal para su uso en la alimentación animal. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma Chapingo). Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma Chapingo.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., & Morgan, C. A. (2013). *Animal Nutrition* (7th ed.). Longman Scientific & Technical, 334-411. <https://eliasnutri.wordpress.com/wp-content/uploads/2020/07/animal-nutrition-7th-edition.pdf>

- Menke K. E., & Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 27, 7-55.
- Miranda-Romero, L. A., Tirado-González, D. N., Tirado-Estrada, G., Améndola-Massiotti, R., Sandoval-González, L., Ramírez-Valverde, R., Salem, A. Z. (2020). Quantifying non-fibrous carbohydrates, acid detergent fiber and cellulose of forage through an *in vitro* gas production technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 3099-3110.
- Mireles-Martínez, C. E., Vallejo-Hernández, L. H., Miranda-Romero, L. A., Ramírez-Bribiesca, J. E., & Márquez-Mota, C. C. (2024). Inclusión del subproducto de café sobre la fermentación ruminal y metano *in vitro* en dietas para ovinos. *Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Producción Animal*. Texcoco, Estado de México.
- Muck, R. E. (2013). Silage fermentation. *Journal of Animal Science*, 91(1), 230-240. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5820>
- Olmedo, A., Rojo, R., Arece, J., Salem, Z. M., Morales, E., Albarrán, B., & otros. (2015). Extracto de *Lysiloma acapulcensis* en la digestibilidad y fermentación ruminal de una dieta para ovinos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 173–182. <https://doi.org/10.19136/era.a2n5.189>
- Owens, F. N., & Goetsch, A. L. (2013). Fermentation and utilization of energy. *Journal of Animal Science*, 91(1), 321-332. 10.2527/jas.2012-5687
- Sahara, T., Fujimori, K. E., Nezu, M., Tsukahara, M., Tochigi, Y., Ohgiya, S., & Kamagata, Y. (2014). Draft genome sequence of *saccharomyces cerevisiae* ir-2, a useful industrial strain for highly efficient *Production of Bioethanol*. *Genome Announcements*, 2(1). <https://doi.org/10.1128/genomea.01160-13>
- Schulte, P. M. (2015). The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. *Journal of Experimental Biology*, 218(12), 1856-1866. <https://doi.org/10.1242/jeb.118851>
- Sosa, A., Galindo, J., Aldana, A. I., Moreira, O., & González, N. (2010). Efecto de *Aspergillus oryzae* en las poblaciones microbianas del rumen y en los productos finales de la fermentación de *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-115. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(4), 365–369.
- Tang, J., Wang, X. C., Hu, Y., Zhang, Y., & Li, Y. (2017). Effect of pH on lactic acid production from acidogenic fermentation of food waste with different types of inocula. *Bioresource Technology*, 224, 544–552. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.111>
- Tejedor-Sanz, S., Stevens, E. T., & Hagen, K. D. (2021). Extracellular electron transfer increases fermentation in lactic acid bacteria. *eLife*, 10, 70-84. <https://doi.org/10.7554/eLife.70684>

- Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B., & France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185-197.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la Microbiología* (9ª ed.). México: Médica Panamericana, 174-183.
- Van Soest, P. J., (2015). The Detergent System for Analysis of Foods and Feeds. Cornell University. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 54-59.
- Zhong R. Z., Fang Y., Sun H. X., Wang M., & Zhou D. W. (2016). Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *Journal of Integrative Agriculture*, 15, 414-42.
- Zicarelli, F., Addi, L., Tudisco, R., Calabrò, S., Lombardi, P., Cutrignelli, M. I., & otros. (2016). The influence of diet supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* or *Saccharomyces cerevisiae* plus *Aspergillus oryzae* on milk yield of Cilentana grazing dairy goats. *Small Ruminant Research*, 135 (Supplement C), 90–94.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.007>