

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



**TITULO:**

**Degradación in vitro de nopal (*Opuntia pheacantha* y *Opuntia ellisae*) a partir de microorganismos aislados de rumen de bovino**

Por:

**OMAR ALEJANDRO MARTINEZ HUERTA**

**Tesis**

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Junio 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**Degradación *in-vitro* de nopal (*Opuntia pheacantha* y *Opuntia ellisae*) a partir  
de microorganismos aislados de rumen de bovino**

Presentado por:

**OMAR ALEJANDRO MARTINEZ HUERTA**

**TESIS**

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito  
Parcial Para Obtener el Título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

El presente trabajo fue evaluado y aprobado por el siguiente comité:

**Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez**  
**PRESIDENTE**

**Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez**  
**VOCAL**

**M.C. Alberto Guerrero Rodríguez**  
**VOCAL**

**Lic. Laura Maricela Lara López**  
**VOCAL**

**Dr. Ramiro López Trujillo**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL.**



Junio 2011

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios** por haberme dado la vida y estar siempre a mi lado y dándome fuerza y paciencia para seguir adelante a pesar de grandes dificultades que he pasado, siempre me guía con tu mano firme y sabiduría.

A mi “**Alma Mater**” por haberme cobijado y permitir que realizara mis estudios profesionales.

A **mi madre Marcelina Huerta** por su cariño, consejos y apoyo incondicional ya que gracias a ella he logrado mi meta de culminar una carrera profesional.

Al **Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez** por su apoyo, confianza, enseñanzas y paciencia para la realización de este proyecto.

A **la Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez** por su confianza, paciencia, apoyo y comprensión para la realización de este trabajo.

A **la Lic. Laura Maricela Lara López** por su gran ayuda, asesoría y paciencia para la realización de este proyecto.

Al **M.C Alberto Guerrero Rodríguez** por su asesoría y sugerencias para la culminación de este proyecto.

A mis amigos y compañeros de generación que compartieron su etapa de universitarios conmigo y que me brindaron su amistad y apoyo:

Cynthia Marisol Herrera Palacios, Cristóbal Morales, Berenice Esquivel, Rodrigo Hernández, Luis Antonio Rodríguez, Jaime Espinoza, Alfredo Ginés, Carmen Piñeyro, Esmeralda Barrios, Karina Castillo, Fernando Ruiz, Ana Belly Aguilar, Edgar Asunción Caraveo, Teresa Bautista, Edwin Morales, Pamela Flores, Víctor Manuel Huerta Cruz, Francisco Javier Reyes, Hugo Lino Mondragón, Luis Alonso

Urbietta, Rolando Nieves, Raúl Calderón, Abdiel Soto, Adrian Ramos, Ariday Salinas, Gilberto Romero y Rosalino Sanabria.

**Al M.C** Eduardo Vargas, Ing. Luis Antonio Guevara, Ing. Ramiro Hernández, Ing. Sebastián Ortiz, Ing. Edgar Agustín, Ing. Juan Castro Ramírez, Ing., Yanira Jiménez, Mario Alberto Palacios, Arturo Acosta, Gildardo Alamilla, por la gran amistad y comprensión brindada.

A los profesores de la carrera de ingeniero agrónomo zootecnista: M.V.Z José Luis Berlanga, M.V.Z. Raquel Olivas, Dr. Miguel Mellado, M.C. Enrique Esquivel, M.C. Lorenzo Suarez, M.C. Manuel Torres, Ing. Rodolfo Peña, por mencionar a algunos ya que gracias a ellos he llegado a culminar mis estudios profesionales.

**MIL GRACIAS**

## DEDICATORIAS

**A dios** por guiarme, cuidarme darme la vida, salud y las fuerzas para seguir adelante.

**A mi madre Marcelina Huerta** por ser la persona más importante en mi vida.

**A mis Hermanos** Yadira Martínez e Iván por estar siempre conmigo, por su gran cariño y consejos en todo momento.

**A mis tías** María Huerta y Angélica Huerta por estar siempre pendiente de mí y ser como mis segundas madres ya que son parte importante de mi vida.

**A Angélica Arredondo Terán** por su cariño, paciencia y comprensión, ya que es mi fuente de inspiración para culminar este trabajo.

**A mis tíos, tías, abuelos y primos** que siempre me han apoyado y aconsejado para ser una mejor persona cada día.

**¡Mil gracias!**

“El sabio no dice lo que sabe, y el necio no sabe lo que dice. Así que debo poner en práctica lo que se; y no ser un necio que no sabe nada”.

**Proverbio Chino**

“Todo hombre que conozco, es superior a mí en algún sentido. En ese sentido, aprendo de él." Por eso mismo no hay que ser uno más del montón si no, el mejor de ellos.

**Ralph Waldo Emers**

	<b>ÍNDICE</b>	Pagina
<b>RESUMEN</b>		
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>		1
1.1 Antecedentes		1
1.2 Justificación		2
1.3 Hipótesis		2
1.4 Objetivo General		2
1.5 objetivos Específicos		2
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>		3
2. Generalidades del nopal		3
2.1 Origen		4
2.1.1 Clasificación Taxonómica		4
2.1.2 Avances en la Clasificación Taxonómica		4
2.1.3 Contenido nutricional		5
2.1.4 Características Morfológicas		6
2.2 Raíz		7
2.3 Tallo		7
2.4 Flor		7
2.5 Fruto		8
2.6 Características Fisiológicas		8
<b>2.7 Climas en los que se pueden encontrar a los <i>opuntias</i></b>		9
2.7.1 Régimen Cálido		10
2.7.2 Régimen Semicálido		10
2.7.3 Régimen Templado		10

2.7.4 Régimen Semifrío	10
2.7.5 Régimen Frío o Polar de la Montaña	11
<b>3. DISTRIBUCIÓN DEL NOPAL</b>	11
<b>4. CELULOSA</b>	13
4.1 Estructura de la celulosa	13
4.2 Función de la celulosa	14
4.3 Microorganismos celulolíticos	15
4.3.1 Sistemas Agregativos	16
4.3.2 Sistemas no agregativos	16
<b>5. PECTINA</b>	17
5.1 Tipos de pectina	18
5.1.1 Homogalacturonanos (HG)	18
5.1.2 Ramnogalácturonano I (RGI)	19
5.1.3 Ramnogalacturonano II (RGII)	19
5.2 Efecto de las pectinas	20
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	23
6. Localización del área de estudio	23
6.1 Etapa I. Caracterización bromatológica del nopal material orgánico	23
6.1.1 Determinación de materia seca total	23
6.1.2 Determinación de ceniza	25
6.1.3 Determinación de extracto etéreo o grasa	25
6.1.4 Determinación de fibra cruda	26
6.1.5 Determinación de proteína por el método de microkjeldhal	27

6.1.6 Determinación de fibra detergente neutro (FND)	27
	28
6.1.7 Determinación de fibra detergente ácida (FAD)	29
6.2 Etapa II. Fermentación para la producción del extracto enzimático a partir de un microorganismo aislado del rumen de bovino	
	29
6.2.1 Material biológico	29
6.2.2 Preparación de medio sólido	29
6.2.3 Siembra en medio sólido	30
6.2.4 Tinción Gram	31
6.3 Fermentación para la producción del extracto enzimático	31
6.3.1 Preparación del medio líquido específico para producir celulasa	31
6.3.2 Producción de celulasas	32
6.3.3 Producción de pectinasas	32
6.4 Etapa III. Cinéticas enzimáticas del nopal empleando el extracto enzimático producido por la cepa VML-2	
	32
6.4.1 Preparación de la solución madre	33
6.4.2 Cinética enzimática	33
6.4.3 Determinación de azúcares reductores	36
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	36
7. Etapa I. Caracterización bromatológica del nopal	36
7.1 Evaluación nutricional de las dos variedades de <i>opuntia</i> utilizadas	37
7.1.1 Etapa II. Fermentación para la producción del extracto enzimático a partir de un microorganismo aislado del rumen bovino	37
7.2 Crecimiento de la cepa VML-2	38
7.3 Evaluación microscópica	38



7.4 Etapa III. Cinéticas enzimáticas del nopal empleando extracto enzimático producido por la cepa VML-2	38
7.4.1 Cinética enzimática (Somogy-Nelson)	39
7.4.2 Cinética enzimática de celulasa en nopal <i>opuntia pheacantha</i>	40
7.4.3 cinética enzimática de pectina en nopal <i>opuntia pheacantha</i>	41
7.4.4 Cinética enzimática de celulasa en nopal <i>opuntia ellisae</i>	42
7.4.5 Cinética enzimática de pectina en nopal <i>opuntia ellisae</i>	43
<b>V. CONCLUSIONES</b>	44
<b>VI. LITERATURA CITADA</b>	

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pagina
1. Clasificación Taxonómica del nopal	5
2. Contenido nutricional de algunas variedades de <i>Opuntias</i>	6
3. Composición del medio líquido específico para la producción de celulasas	31
4. Contenido nutricional de las 2 variedades de <i>Opuntia</i> utilizadas	36

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>Pagina</b>
	14
1. Estructura química de la celulasa	18
2. Estructura química de la pectina	24
3. Mufla Thermolyne 1500	25
4. Mufla Thermolyne 1500	26
5. Aparato soxleth	27
6. microkjendhal	
7. Método de siembra por estría abierta cruzada en medio solido	30
	32
8. Solución madre	34
9. Espectrofotómetro	34
10. Muestra después del baño de agua caliente	34
11. Agitador vortex	
12. Comparación nutricional de dos variedades de <i>Opuntia</i> sp.	37
13. Características microscópicas de la cepa VML-2 en medio solido	38
14. Observación microscópica de microorganismos producidos por la cepa VML-2	38
	39
15. Degradación enzimática de celulosa en Nopal <i>Opuntia pheacantha</i> utilizando celulasas producidas por la cepa VML-2	40
16. Degradación enzimática de pectina en Nopal <i>Opuntia pheacantha</i> utilizando pectinasa producidas por la cepa VML-2	41
17. Degradación enzimática de la celulosa en nopal <i>Opuntia ellisae</i> utilizando celulasa producidas por la cepa VML-2	42
18. Degradación enzimática de pectina en nopal <i>Opuntia ellisae</i> utilizando pectinasa producidas por la cepa VML-2	

## RESUMEN

Las condiciones ambientales y las variables fisiológicas se asocian con un amplio rango de ecosistemas semiáridos con flora y fauna diversas en el Norte de México, donde *Opuntia* es abundante y está ampliamente distribuida en comunidades específicas llamadas nopaleras. El género *Opuntia* está representado por 104 especies, 60 por ciento localizadas en el desierto Chihuahuense.

En la actualidad las *Opuntias* son de gran importancia ya que son una alternativa como alimento de emergencia para el ganado en periodos de sequías pero en ocasiones el mal uso de este recurso ha provocado que desaparezcan grandes extensiones nopaleras en el norte y centro de México.

En el presente trabajo se utilizaron cepas aisladas de rumen de bovino para la degradación de compuestos ricos en fibras presentes en nopal, ya que poseen muy buenas características para dicho proceso, dando resultados promisorios para ser aplicados en la nutrición animal, además de ser una fuente alternativa de producción de enzimas.

El presente trabajo evaluó nutricionalmente dos variedades de *Opuntia* obtenidas dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buena vista saltillo, Coahuila. La primera fue identificada como *Opuntia pheacantha* y la segunda como *Opuntia ellisae*; obteniendo valores semejantes en el contenido de proteína, extracto etéreo, ceniza, materia seca total, materia seca parcial y FND mientras que en el contenido de fibra, FAD y humedad se puede observar diferencias mayores en las variedades utilizadas.

Se realizó una fermentación a 72 horas para la producción de la enzima celulasa y pectinasa mediante el empleo de la cepa VML-2 aislada de rumen bovino e identificada por Valdez-Sepúlveda (2010), se realizó una cinética

enzimática a tiempos de 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 1440 (24horas), 2880 (48horas), 4320 (72horas) minutos. Se realizó una curva de degradación de celulosa en dos variedades de *Opuntia* (nopal) empleando el extracto enzimático producido, en la cual se observaron diferencias significativas ya que *Opuntia pheacantha* presentó su máxima actividad en un tiempo de 120 minutos, en la degradación de celulasa y un tiempo de 45 minutos en la degradación de pectina, mientras que para la variedad de *Opuntia ellisae* su máxima actividad en la degradación de celulosa fue a los 60 minutos, y un tiempo de 45 minutos en la degradación de pectina. La variedad *Opuntia pheacantha* por su alto contenido de fibra presenta menor actividad enzimática que en la variedad *Opuntia ellisae*.

**Palabras clave:** *Opuntia spp*; *suculento*, *celulosa*, *enzimas*, *microorganismos del rumen*, *nopal*, *pectina*.

## I. INTRODUCCION

### 1.1 Antecedentes

Dentro de los recursos forrajeros propios del norte de México se encuentra una gran variedad de *Prosopis spp.* (mezquites), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Dasyllirion spp.*; y gran variedad de gramíneas como *Boutelouas* (*zacates banderilla, navajita azul etc.*), *agaves*, etc. El nopal, es una planta representativa del país que desde hace siglos se ha aprovechado de diversas maneras, principalmente para la alimentación humana, con fines medicinales y de nutrición, así como para la alimentación del ganado (Murillo 2003).

En el norte de México se encuentran ubicadas dos grandes extensiones consideradas como las más áridas, conocidas como el desierto Chihuahuense y el desierto Sonorense, que ocupan aproximadamente el 50% del territorio nacional. Se han caracterizado por la sobreutilización y mal manejo de los recursos existente en estos lugares donde las principales actividades son la cría de ganado bovino, ovino, caprino, equino y fauna silvestre en forma incipiente, la cosecha de algunas plantas y productos que se extraen de ellas. La mala utilización de recursos existentes en estas regiones ha originado que gran parte de ellos se estén deteriorando cada vez más, casi incapaz de producir, sujetos a la erosión acelerada acompañada de especies indeseables presentando en general baja productividad potencial del sistema (Cantú, 1984). Aunque el nopal es un cultivo rústico que crece en suelos pobres y de poca precipitación pluvial, requiere de técnicas agronómicas para su mejor aprovechamiento.

Los ganaderos se han visto en la necesidad de utilizar la penca de nopal como alimento de emergencia para el ganado, dando a los ecosistemas nopáleros naturales una explotación inadecuada, con lo cual, a través del tiempo se han ido generado grandes áreas deforestadas que han perdido casi totalmente su potencial productivo. Por esta razón es necesario manejar correctamente las poblaciones naturales de nopal, con el fin de conservarlas y obtener una mejor producción. La calidad del nopal se considera de regular a mala; sin embargo, los altos precios de otros forrajes de mayor calidad, y la disponibilidad de estos en

épocas de sequía hacen que la demanda del nopal crezca año con año. (Marroquín, 1964; López 1977).

## **1.2 JUSTIFICACION**

En la actualidad el nopal es de gran importancia como fuente de fibra y también minerales para la alimentación del ganado ya que se compone principalmente de celulosa, la cual implica un alto costo biológico y económico para la degradación de sus compuestos, por lo tanto, es necesario recurrir a alternativas como la utilización de enzimas puras producidas por microorganismos del rumen de bovinos los cuales son de fácil aislamiento y bajo costo de producción para mejorar parte del valor nutritivo de este tipo de ingredientes y en consecuencia el rendimiento productivo del ganado en periodos de sequía.

## **1.3 HIPOTESIS**

Es posible la degradación del nopal empleando enzimas producidas por la cepa VML-2 aislada de rumen bovino mediante un método biotecnológico.

## **1.4 Objetivo general**

Evaluar mediante cinéticas enzimáticas la hidrólisis de los componentes del nopal empleando la cepa VML-2 aislada del rumen bovino.

## **1.5 Objetivos específicos**

1.5.1 Caracterizar bromatológicamente dos variedades de nopal.

1.5.2 Obtener el extracto enzimático a partir de la cepa VML-2

1.5.3 Realizar cinéticas enzimáticas para la hidrólisis del nopal empleando el extracto enzimático producido.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2. Generalidades del nopal

Dentro del grupo de plantas suculentas se incluye a la familia de las cactáceas, las cuales han desarrollado notables adaptaciones a la aridez; sus hojas han sido reducidas a espinas o escamas y los tallos han asimilado muchas de las funciones de la hoja, como es el caso de la fotosíntesis, además de almacenar agua (García, 2003).

El nombre cactácea proviene de la voz griega "kaktos" que significa espinoso (UNAM, 1989).

Nopal es un término mexicano derivado del Náhuatl "*nopalli*" con el que se designa a varias especies del género *Opuntia* (Anaya y Bautista, 2008).

"Nopal" es el nombre común que reciben las cactáceas del género *Opuntia*, este género y su familia son originarias de América; se piensa que su origen se podría localizar en México, puesto que en este país existe el mayor número de géneros e individuos (Granados, 1991).

Se estima que en México existen alrededor de 3'000,000 hectáreas de nopaleras silvestres con suficiente densidad como para ser aprovechadas económicamente, localizadas principalmente en los estados de Guanajuato, Jalisco, Aguascalientes, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y Sonora. Los productores utilizan las nopaleras silvestres para recolectar forraje, tuna y nopalito (Flores *et al.*, 1995).



## **2.1. Origen**

Los cactus son originarios de las regiones tropicales y subtropicales de América, aunque algunas especies pertenecientes al género *Rhipsalis* son nativas de África (Granados, 1991).

La mayoría de las especies están representadas en México. Es por eso que se piensa que su origen se podría localizar en México, puesto que en este país existe el mayor número de géneros e individuos de nopal y de donde se han extendido por todo el mundo (Granados, 1991).

Los *Opuntias* spp. poseen flores muy vistosas, razón por la cual son utilizados como plantas de ornato siendo muy codiciados principalmente por coleccionistas aficionados y comerciantes; favoreciendo su recolección, ocasionando que algunas especies se encuentren amenazadas o en peligro de extinción (García 2003).

### **2.1.1 Clasificación taxonómica**

La taxonomía del nopal, al igual que para las demás especies vegetales y animales se ha basado en las relaciones filogenéticas que se deducen de la descripción de las características anatómicas visibles, utilizando para ello diferentes métodos, dependiendo de los recursos disponibles por los taxónomos. En nopal, esta tarea ha presentado serias dificultades debido a la diversidad de especies y ecotipos pertenecientes a la familia *Cactáceae*; la plasticidad morfológica del nopal y la variación debido a hibridación contribuyen a la dificultad de clasificaciones correctas (Bracamontes, 1981).

### **2.1.2 Avances en la clasificación taxonómica del nopal**

Dentro de la amplia gama de los sistemas de clasificación de la planta de nopal de acuerdo a sus diferencias fenotípicas contrastantes, destacan; el sistema

de clasificación de Britton y Rose (1937) y la de Bravo-Hollis (1978), principalmente.

Para Bravo (1978) la clasificación taxonómica de la familia de las cactáceas (cuadro 1), se encuentra sujeta a cambios en su clasificación en base a conceptos científicos a lo largo del tiempo.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nopal.

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Subreino</b>	<i>Hembriophyta</i>
<b>División</b>	<i>Hembriophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Caryophyllidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Opuntiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Cactaceae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Opuntiae</i>
<b>Genero</b>	<i>Opuntia</i>
<b>Subgénero</b>	<i>Opuntia</i> (antes <i>Platyopuntia</i> )
<b>Especie</b>	<i>Spp</i>

(Fuente: Bravo, 1978).

### 2.1.3 Contenido nutricional

El contenido nutricional de nopal puede variar incluso en una misma región, el cuadro 2 muestra al contenido nutricional de algunas variedades más comunes en la región de Saltillo, Coahuila.

Cuadro 2. Contenido nutricional de algunas variedades de *Opuntia*.

Concepto % en base seca	<i>Opuntia ficus Indica</i>	<i>Opuntia imbricata</i>	<i>Opuntia Lindheimeri</i>		<i>Opuntia canta brigiensis</i>
			Var. <i>sumatra</i>	Var. <i>Tricolor</i>	
<b>MST</b>	93.93	93.49	93.45	93.78	93.89
<b>Cenizas</b>	31.15	23.91	24.0	24.15	25.07
<b>Proteína cruda</b>	6.89	7.21	4.22	5.67	5.4
<b>Extracto etéreo</b>	2.1	1.82	1.15	1.74	1.86
<b>Fibra cruda</b>	17.89	15.48	14.28	18.65	17.3
<b>MO</b>	92.28	69.59	68.45	69.63	68.79

(Fuente:Gopar, 2001).

**MST:** Materia seca total

**MO:** Materia orgánica

#### 2.1.4 Características morfológicas

La succulencia es la principal característica morfológica de los nopales. Este puede considerarse como el sello distintivo de su parte aérea (tallos, flores y frutos) y resulta de la producción masiva de células de ciertos tejidos parenquimatosos, asociada a un aumento en el tamaño de las vacuolas y a una disminución de los espacios intercelulares. Este fenómeno permite a los órganos de estas plantas acumular grandes cantidades de agua en forma muy rápida durante los breves periodos de humedad y por otra parte, las formas esféricas o suculentas

representan los cuerpos más eficientes para evitar la evapotranspiración (Kramer, 1989).

## **2.2 Raíz**

Las raíces del nopal desarrollan pelos radicales cuando se encuentran en un suelo húmedo y pueden desaparecer en suelos secos. Es una característica que permite a la planta absorber de manera rápida toda el agua posible mientras esté presente. La raíz deriva de una raíz principal y en algunos casos puede derivarse del tallo. Son gruesas y su tamaño es proporcional al tamaño de la parte aérea. El tiempo de vida de la raíz es permanente (Nobel, 1999).

## **2.3 Tallo**

El tallo se caracteriza por tener una cutícula gruesa y cubierta de una cera de una sustancia grasosa llamada cutina, suave al tacto. Esta primer capa del tallo llamada dermis tiene algunas funciones principales: 1) evita la pérdida de grandes cantidades de agua por el proceso de transpiración; 2) regula el movimiento de la entrada de dióxido de carbono y salida de oxígeno por la planta; 3) retiene agua dentro del cuerpo; 4) protege a la planta de hongos, esporas, insectos y luminosidad intensa (Sudzuki, 1999).

El tallo es ramificado y multiarticulado. Se compone de un tronco cilíndrico y de ramas aplanadas y discoides llamados cladodios o pencas. Estos cladodios son aplanados en forma de raqueta, son suculentos y almacenan gran cantidad de agua, su principal función es fotosintética (Monroy, 1989).

## **2.4 Flor**

La flor de la planta se produce en las areolas, localizadas en la parte superior de las pencas. Cada areola produce por lo general una flor, aunque no en una misma época de floración, ya que en algunas pueden brotar al primer año y en otras al segundo o al tercero. Sus pétalos poseen colores vivos: amarillo,

anaranjado, rojo, rosa, salmón, etc.; según la especie del nopal. Por lo general, las flores son grandes; el ovario es inferior, unilocular, con muchos óvulos y lóbulos del estigma (cinco a diez); el androceo posee gran cantidad de estambres. Son hermafroditas anatómicas; algunas, sin embargo son unisexuales (*Opuntia robusta*). La floración tiene lugar en primavera durante los meses de marzo, abril y mayo, aunque hay entidades en las que se realizan en otras épocas del año (Monroy, 1989).

## **2.5 Fruto**

El fruto del nopal (tuna) es carnoso, de forma ovoide a esférica; sus dimensiones y coloraciones pueden variar según la especie, encontrándose frutos de 4 a 12 cm. oh más de longitud, de color amarillo canario, amarillo limón, anaranjado, rojo, guinda, rojo-morado, verde tierno, blanco verdoso, etc. Semillas lenticulares, con testa clara y arillo ancho (Monroy, 1989). Las características morfológicas de los *opuntias* pueden variar tanto como lugares donde se encuentran como lugares en que se distribuyen.

*Espinoza et al.*, (1990) mencionan que debido a su gran polimorfismo la investigación de los *opuntias* se hace difícil, sin embargo, esto vuelve a reforzar el gran poder de adaptación que tienen las plantas para colonizar diferentes ambientes.

## **2.6 Características fisiológicas**

El éxito ecológico que tienen los opuntias se debe también a su fisiología. Uno de los procesos más importantes dentro de la fisiología de cualquier planta es la transpiración. El cual es un proceso determinante en las relaciones hídricas de las plantas porque la evaporación de agua produce el gradiente de energía que es el responsable del movimiento del agua a través de ellas. Sin embargo, el precio que este proceso está en la gran pérdida de agua que se lleva a cabo para que

exista dicho movimiento, se estima que del 90 al 95% del agua que la planta toma del suelo se pierde por transpiración (Kramer, 1989).

Otro aspecto importante en la fisiología de los *opuntias* son los potenciales hídricos que mantienen. El potencial hídrico define la energía que necesita la planta para conservar y proveerse de agua. Su valor generalmente está dado en mega pascales (MPa) y siempre es negativo debido a que el agua que se mueve por las plantas no está libre de solutos y su movimiento obedece a un gradiente negativo. El potencial hídrico de las *opuntias* (-0.3<sup>a</sup> -0.6 MPa) es significativamente mayor a la planta con la que pueda co-habilitar aun de especies tolerantes a la sequía -1.0 a -3.0 MPa (Turner y Jones, 1980). Lo anterior significa que mientras más negativo es el valor de potencial hídrico de la planta, es mayor la energía requerida para tomar el agua del suelo, por lo que los *opuntias* cuentan con una gran ventaja al presentar potenciales hídricos más positivos, es decir un menor gasto de energía para adquirir y conservar el agua dentro de ellas.

## **2.7 Climas en los que se pueden encontrar a los *opuntias***

El clima es el resultado de la interacción de diversos elementos y factores atmosféricos, como la lluvia, el viento, la vegetación, las nubes, la altitud, los cuerpos del agua y el relieve. Los climas definen el tipo de flora y fauna que predomina en una región. Los matorrales xerófilos ocupan gran parte de estas regiones su temperatura media oscila entre los 12 y 26°C, se pueden encontrar en latitudes que van de los 0 a los 2500 msnm, su precipitación media anual oscila entre los 100 y 600mm. (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000).

Sin embargo, la amplia distribución de los *opuntias* permite encontrarlas en los diferentes climas:

### **2.7.1 Régimen cálido**

Con temperaturas medias anuales mayores a los 25°C. Estas temperaturas se registran en las zonas costeras localizadas a no más de 1000 de altitud (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000) en este tipo de régimen se encuentran *opuntias* como la *Opuntia pilífera*, la *Opuntia stricta var. Dillenii*, *Opuntia tomentosa Salm-Dyck var.*

### **2.7.2 Régimen semicálido**

Con temperaturas anuales medias entre los 18 y 25°C. Este tipo de comportamiento térmico se presenta a lo largo del año en todas las zonas del territorio nacional que tienen de 1,000 a 1,800 m de altitud (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000). En este régimen se pueden encontrar por ejemplo, la *Opuntia decumbens*, *Opuntia imbricata*, *Opuntia jaliscana*, *Opuntia pheacantha var. chihuahuensis*, *Opuntia pilífera*, *Opuntia rufida* (Monroy, 1989; Bravo, 1978; Pimienta, 1999).

### **2.7.3 Régimen templado**

Con temperaturas medias anuales entre los 12 y 18 °C. Estas temperaturas se presentan hacia el norte y centro del país, y en general, en terrenos con una altitud de 1,900 a 2,900 m (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000). Ejemplos de la presencia de estos *opuntias* a estas alturas lo son la *Opuntia Polyacantha*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia imbricata*, *Opuntia jaliscana*, *Opuntia lasiacantha*, *Opuntia robusta* (Bravo, 1978).

### **2.7.4 Régimen semifrío**

Con temperaturas medias anuales a los 5 y 12°C. Este régimen es propio de las áreas localizadas por arriba de 2,900 y hasta 4,000 m de altitud sobre el nivel del mar; (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000).

### 2.7.5 Régimen frío o polar de la montaña

Con temperaturas medias anuales a los 5°C. Las temperaturas más bajas que tienen lugar en el país son características de las zonas montañosas que superan los 4,000 m de altitud (SEP, 1999; Flores y Martínez, 2000). Como lo es al caso de opuntias del Perú reportadas a 4,700 msnm (Nobel, 1999).

Existen especies de opuntias que por su alto poder de adaptación se pueden encontrar desde el nivel del mar hasta los 2,500 msnm, es decir, su presencia esta tanto en regímenes cálidos, como semicalidos y templados. Tal es el caso de *Opuntia ficus- indica*. Esta misma especie se ha reportado en Bolivia a 3000 msnm donde el régimen sería similar a un régimen semifrío de nuestro país (Barbera, 1999).

### 3. Distribución del nopal

En México se pueden distinguir cuatro grandes zonas nopaleras, considerando su abundancia, sus características fisiológicas y las condiciones climáticas y edáficas donde crecen (López y Elizondo 1988 citado por Gopar 2001).

- a. Zona Centro-Sur, comprende los Estados de México, Puebla, Querétaro y Oaxaca; se encuentran nopaleras de porte alto, productoras de verdura, fruta y forraje, la mayoría son especies cultivadas en pequeñas huertas. Se explota *Opuntia ficus indica*, *O. megacantha*, *O. amyclaea* y *O. tomentosa*.
- b. Zona del Altiplano, ocupa en mayor extensión los estados de Zacatecas y San Luis Potosí y en menor proporción Aguascalientes, Durango, Guanajuato y Jalisco. Abundan *O. streptacantha* (nopal cardón), *O. leucotricha* (nopal duraznillo); en menor cantidad se



le asocian *O. robusta* (nopal tapón) y otras *Opuntias* de tipo rastrero.

- c. Zona Norte (Desierto Chihuahuense), es la región más extensa; comprende parte de los Estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas y Coahuila; área donde el nopal crece en forma natural y su porte es arbustivo; se encuentran nopales de uso forrajero como *O. cantabrigiensis* (nopal cuijo) y *O. pheacantha* (nopal rastrero).
- d. Zona de la Planicie Costera del Golfo, es la parte noreste de México, abarca la zona noreste de Coahuila, el área norte de Nuevo León y Tamaulipas. Las plantas de nopal son de tipo arbustivo como la *O. lindheimeri* y sus variedades, existen otras de importancia forrajera.

Por su parte Marroquín, 1964), distinguen tres zonas nopaleras en las regiones centro y norte de la República Mexicana que son:

- a. Zona nopalera Potosina-Zacatecana. Además de San Luis Potosí y Zacatecas incluye partes de Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Jalisco y Durango. Las temperaturas oscilan entre 12 y 20°C, el suelo formado por rocas en el que predominan matorrales en los que se puede encontrar *Opuntia streptacantha*, *Opuntia leucotricha*, *Opuntia robusta*, *Opuntia imbricata*.
- b. Zona nopalera del noroeste de México. Comprende el norte de Tamaulipas y oriente de Nuevo León. Es una zona de colinas y llanuras de poca elevación donde abunda el mezquite, con temperaturas medias de 11 y 30 °C en meses calurosos. Las especies que se pueden encontrar son *Opuntia lindheimeri* y *Opuntia engelmannii*.

- c. Zona nopalera difusa. Esta zona incluye sólo las partes calizas de San Luis Potosí, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila y partes áridas de Durango y Chihuahua. Es una zona de planicies y sierras calizas con matorrales desérticos, en estas zonas se pueden encontrar *Opuntia cantabrigiensis*, *Opuntia rastreara*, *Opuntia microdasys* y *Opuntia macocentra*.

#### **4. Celulosa**

La celulosa es un importante constituyente de las plantas superiores y probablemente el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza. Debido a que gran parte de la vegetación que pasa a formar parte del suelo es celulósica, la descomposición de este carbohidrato tiene una importancia muy especial en el ciclo biológico del carbono, consecuentemente los microorganismos del suelo que catalizan la hidrólisis de la materia vegetal (40-60% de residuos de las plantas) influyen en el flujo de energía de este hasta la formación de CO<sub>2</sub> y su liberación a la atmosfera (Alexander, 1980).

La celulosa es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa; es pues un homopolisacárido (compuesto por un solo tipo de monosacárido); es rígido, insoluble en agua, y contiene desde varios cientos hasta varios miles de unidades de β-glucosa. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre (Silveira y Alonso, 2004).

##### **4.1 Estructura de la celulosa**

La celulosa se forma por la unión de moléculas de β-glucopiranosas mediante enlaces β-1,4-O-glucosídicos. Por hidrólisis de glucosa, la celulosa es una larga cadena polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>, con un valor mínimo de n= 200 (Figura 1).

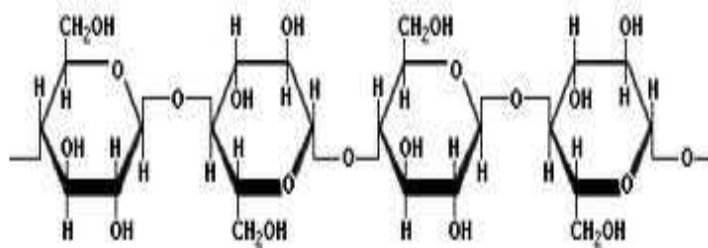


Figura 1. Estructura química de la celulosa.

Fuente: Zabala (2005).

La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, lo que hace que sea insoluble en agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales (Sarli, 2004).

#### 4.2 Función de la celulosa

La celulosa es un polisacárido estructural en las plantas ya que forma parte de los tejidos de sostén. La pared de una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40% de celulosa; la madera un 50 %, mientras que el ejemplo más puro de celulosa es el algodón con un porcentaje mayor al 90% (González, 2004).

A pesar de que está formada por glucosas, los animales no pueden utilizar la celulosa como fuente de energía, ya que no cuentan con la enzima necesaria para romper los enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos, es decir, no es digerible por los animales; sin embargo, es importante incluirla en la dieta humana (fibra dietética) porque al mezclarse con las heces, facilita la digestión y defecación, así como previene los malos gases.

En el aparato digestivo de los rumiantes (pre-estómagos), de otros herbívoros y de termitas, existen microorganismos, muchos metanógenos, que poseen una enzima llamada celulasa que rompe el enlace  $\beta$ -1,4-glucosídico y al

hidrolizarse la molécula de celulosa quedan disponibles las glucosas como fuente de energía (González, 2004).

Hay microorganismos (bacterias y hongos) que viven libres y también son capaces de hidrolizar la celulosa. Tienen una gran importancia ecológica, pues reciclan materiales celulósicos como papel, cartón y madera. De entre ellos, es de destacar el hongo *Trichoderma reesei*, capaz de producir cuatro tipos de celulasas: las 1,4- $\beta$ -D-glucancelobiohirolasas CBH I y CBH II y las endo-1,4- $\beta$ -D-glucanasa EG I y EG II. Mediante técnicas biotecnológicas se producen esas enzimas que pueden usarse en el reciclado de papel, disminuyendo el costo económico y la contaminación (Sarli, 2004).

#### **4.3 Microorganismos celulolíticos**

Existe un gran número de microorganismos celulolíticos, principalmente hongos y bacterias. Las celulasas de hongos se encuentran disponibles en el mercado. Sin embargo, se ha encontrado un gran número de especies bacterianas cuyas enzimas poseen características similares y en muchos casos han demostrado superar las propiedades de las de origen fúngico. Entre las bacterias celulolíticas aerobias, el género *Cellulomonas* produce una amplia variedad de glucanasas y tiene la capacidad de degradar varios carbohidratos, como pectina, almidón y celulosa (Clarke, 1997).

Los microorganismos capaces de degradar celulosa secretan un sistema complejo de enzimas extracelulares, celulasas y, que actúan sinérgicamente en la degradación de celulosa y hemicelulosa.

Las fibras de celulosa son degradadas esencialmente por dos tipos de sistemas enzimáticos llamados agregativos y no agregativos (Chacón y Waliszewski, 2005).

### 4.3.1 Sistemas agregativos

En las bacterias anaerobias *C. thermocellum* y *C. cellulovorans* se ha demostrado que las enzimas que participan en la degradación de celulosa y hemicelulosa se encuentran localizadas en la superficie de estas bacterias formando complejos multienzimáticos de alto peso molecular. El sistema agregativo más ampliamente descrito es el de *C. thermocellum*. Este complejo, conocido como “celulosoma” comprende al menos 14 polipéptidos distintos, incluyendo varias celulasas y xilanasas y al menos una  $\beta$ -glucosidasa, acoplados a una proteína de andamiaje de 210 kDa sin actividad enzimática que participa en el reconocimiento de las fibras de celulosa a la superficie de la célula. La proteína de andamiaje, llamada proteína de unión a celulosa ( CbpA: cellulose binding protein A), contiene múltiples dominios funcionales: un péptido señal, un dominio de unión a celulosa (CBD), un dominio hidrofílico presente en cuatro ocasiones y un dominio hidrofóbico repetido en nueve. Cuando las enzimas se disocian de la CbpA son capaces de hidrolizar formas amorfas de celulosa pero no formas cristalinas del polisacárido (Chacón y Waliszewski, 2005).

### 4.3.2 Sistemas no agregativos

Estos sistemas no agregativos están compuestos principalmente por tres tipos de enzimas: (i)  $\beta$ -1,4-endoglucanasas (EC 3.2.1.4), las cuales se unen en las porciones amorfas de las fibras de celulosa y rompen los enlaces  $\beta$ -1,4 glucosídicos incrementando la disponibilidad de los extremos no reductores de las fibras de celulosa; celobiohidrolasas ( $\beta$ -1,4-glucan celobio- hidrolasas EC 3.2.1.91), las cuales liberan unidades de celobiosa a partir de los extremos no reductores de la celulosa; y  $\beta$ -glucosidasas (EC 3.2.1.21), que hidrolizan las unidades de celobiosa en monómeros de glucosa. Estos tres tipos de enzimas actúan en forma cooperativa en la degradación de la celulosa (Chacón y Waliszewski, 2005).

Se ha planteado que las enzimas esenciales para la degradación de celulosa cristalina en los microorganismos aerobios funcionan sinérgicamente por la presencia del (CBD) en cada proteína, mientras que en los anaerobios están asociados al celulosoma. Independientemente del acomodo estructural del CBD en los sistemas celulolíticos, se ha demostrado que la unión específica de este dominio a la celulosa es una propiedad necesaria para la hidrólisis eficiente de este polímero natural. Existen evidencias experimentales que sugieren que algunos de estos dominios, además de posicionar a las celulasas en la microfibrilla, debilitan la interacción entre las cadenas de celulosa en sus regiones cristalinas, facilitando el rompimiento de los enlaces glucosídicos (Jackson *et al*, 2005).

## **5. Pectina**

Pectina, nombre que se da a un grupo de derivados complejos de los hidratos de carbono que producen algunas plantas. Las pectinas son sustancias blancas amorfas que forman en agua una solución viscosa; combinadas en proporciones adecuadas con azúcar y ácidos, forman una sustancia gelatinosa utilizada como espesante en jaleas y mermeladas. La pectina comercial, obtenida de la manzana y el limón, se usa para elaborar mermeladas de frutas pobres en dicha sustancia (Gibbons, 2002).

La pectina es un hidrato de carbono que no se absorbe en el intestino y cuyas interesantes propiedades hacen que su consumo pueda resultar beneficioso en el tratamiento de algunas patologías. Las frutas en general son ricas en pectina, sustancia que es también utilizada como aditivo espesante en la industria de conservas y mermeladas (Gibbons, 2002).

La pectina es el principal componente enlazante de la pared celular de los vegetales y frutas. Químicamente, es un polisacárido compuesto de una cadena lineal de moléculas de ácido D-galacturónico, las que unidas constituyen el ácido poligalacturónico (figura 2). La cadena principal que

conforma la pectina puede contener regiones con muchas ramificaciones o cadenas laterales, denominadas “regiones densas”, y regiones con pocas cadenas laterales llamadas “regiones lisas” (Gibbons, 2002).

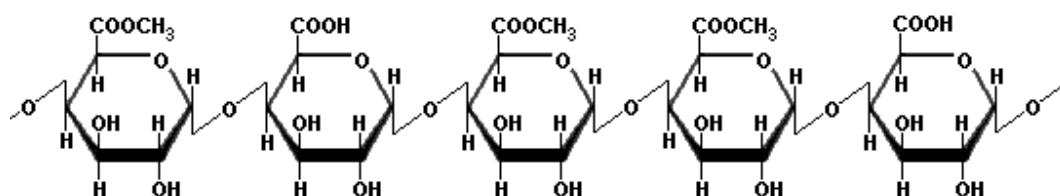


Figura 2. La pectina es un polímero del ácido  $\alpha$ -galacturónico con un número variable de metil ésteres.

Fuente: (Gibbons, 2002).

## 5.1 Tipos de pectina

Las pectinas son una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30% del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de aguas forman geles. Determinan la porosidad de la pared, y por tanto el grado de disponibilidad de los sustratos de los enzimas implicados en las modificaciones de la misma. Las pectinas también proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico. Las pectinas tienen tres dominios principales:

### 5.1.1 Homogalacturonanos (HG)

Compuestos por residuos de ácido D-galacturónico (GalU) unidos por un enlace  $\alpha(1-4)$ . Los grupos carboxilo del C6 (carbono número 6 del GalU) pueden estar metil-esterificados o permanecer libres. Los grupos carboxilo libres, si están disociados, dan lugar a enlaces de calcio entre las cadenas de HG vecinas, formando la denominada estructura en caja de huevos. Para que una región de HG sea sensible al enlace de calcio son necesarias diez moléculas de GalU sin esterificar, la formación de enlaces de este tipo está relacionada con la detención de la extensión de la pared celular y, por tanto,

con el cese del crecimiento y el aumento de rigidez de la pared. El GalU puede encontrarse acetilado en O<sub>2</sub> (oxígeno número 2 del GalU) o en O<sub>3</sub> (Gibbons, 2002).

### 5.1.2 Ramnogalacturonano I (RGI)

GalU enlazado en  $\alpha(1-4)$  con restos de L-ramnosa (Rha) intercalados con un enlace  $\alpha(1-2)$ ; es decir:  $[(1-2)-\alpha-L-Rha-(1-4)-\alpha-D-GalU]_n$ , donde n puede ser mayor de 100. Estos restos de Rha son el anclaje de cadenas laterales, aproximadamente la mitad están unidas por el C4 a cadenas de arabinanos, formados por  $\alpha-L$ -arabinosa (Ara) enlazadas en  $\alpha(1-5)$  como eje principal que pueden estar sustituidas con las cadenas Ara(1-2)- $\alpha$ -Ara(1-3) y/o Ara(1-3)- $\alpha$ -Ara(1-3); o arabinogalactano I (AGI), cadenas de  $\beta(1-4)$ -D-galactosa (Gal), con ramificaciones C6-Gal. Pueden estar sustituidas también e  $\alpha(1-5)$ Ara en el C3 de Gal (Gibbons, 2002).

### 5.1.3 Ramnogalacturonano II (RGII)

Polisacárido pequeño de estructura muy compleja; formado por GalU, Rha, Ara, Gal y pequeñas cantidades de azúcares poco frecuentes como apiosa, o ácido acérico. Los restos Rha pueden estar sustituidos en C3; en C3 y C4, en C2, C3, y C4 o ser terminales. El arabinogalactano del RGII presenta ramificaciones en C3 y C6 de Gal y en C3 y C5 de Ara. Las cadenas laterales contienen un alto número de residuos distintos unidos con diversos enlaces, aun así el RGII tiene una estructura altamente conservada y puede formar dímeros mediante un puente borato, con dos enlaces éster (Gibbons, 2002).

Arabinanos y galactanos del RGII de la familia *Amaranthaceae* pueden asociarse a ácido ferúlico mediante un enlace éster, lo que posibilita el enlace de varias cadenas por puentes diferulil, mediante la acción de las peroxidasas. También se provocan enlaces por la dimerización de ácidos hidroxicinámicos enlazados a arabinanos y galactanos del RGI debido a la acción de peroxidasas (González, 2004).



## 5.2 Efectos de las pectinas

La pectina tiene la propiedad de formar geles en medio ácido y en presencia de azúcares. Por este motivo, es utilizada en la industria alimentaria en combinación con los azúcares como un agente espesante, por ejemplo en la fabricación de mermeladas y confituras. La mayor parte de las frutas contienen pectina, pero no en la cantidad suficiente para formar un gel cuando la mermelada es fabricada, por lo que una cierta cantidad de pectina se añade para mejorar la calidad de la misma, brindándole la consistencia deseada. Cuando la pectina es calentada junto con el azúcar se forma una red, que se endurecerá durante el enfriado (González, 2004).

El grupo de frutas que contienen la suficiente cantidad de pectina para formar un gel es reducido; un ejemplo de ellas es el membrillo. Comercialmente, la pectina es fabricada a partir de la pulpa de la manzana y la naranja (González, 2004).

Las pectinas son un hidrato de carbono que forman parte de la fibra soluble. Este tipo de fibra se caracteriza porque en contacto con el agua, forma un retículo en el que el agua queda atrapada haciendo que la mezcla se gelifique. Gracias a su capacidad de absorción de agua, la pectina aumenta el volumen de las heces. Además, es capaz de captar sustancias a nivel intestinal y retrasar la absorción de algunos nutrientes así como de ralentizar el vaciado gástrico (González, 2004).

La capacidad de retener agua que presentan las pectinas, así como su propiedad formadora de geles, hacen que éstas sean beneficiosas en caso de diarrea, ya que hacen que el proceso fisiológico de vaciado del estómago sea más lento, y captan agua, por lo que las heces líquidas propias de los procesos diarreicos se van volviendo más espesas. Por tanto, aunque la pectina de manzana forma parte de la fibra, puede usarse como un antidiarreico (Gibbons, 2002).

Entre sus propiedades también está la de ralentizar la absorción intestinal de los azúcares simples, por lo que las pectinas son capaces de mejorar la intolerancia a la glucosa. Además su consumo puede resultar beneficioso en personas diabéticas ya que al disminuir la velocidad de paso de los azúcares del estómago al duodeno, se evita que aumenten de forma brusca los niveles de azúcar en sangre (hiperglucemia) (Gibbons, 2002.)

La presencia de pectinas en la dieta también puede tener efectos beneficiosos sobre los niveles de colesterol en sangre. Las pectinas son capaces de unirse a los ácidos biliares, facilitando su expulsión junto con las heces. Estos ácidos biliares son los productos de la degradación del colesterol, por lo que las pectinas como consecuencia, presentan efectos hipocolesterolémicos (disminuyen los niveles de colesterol en sangre), lo que contribuye a la disminución del riesgo de aparición de diferentes enfermedades cardiovasculares (Clarke, 1997).

No obstante, hay que tener en cuenta que la pectina, tomada junto con ciertos medicamentos puede reducir la absorción de los mismos. Por ello, es conveniente que antes de tomar cualquier tipo de complemento dietético, se consulte con un profesional que valore si existe o no la necesidad de incluir este tipo de complementos en la dieta, así como la dosis y la forma de administración (Clarke, 1997).

Las pectinas se comportan muy bien como estabilizantes de las caseínas frente a los tratamientos térmicos a pH ácido. Dado que a pH por encima de 3,5 las pectinas tienen carga negativa, son capaces de unirse a las regiones con carga positiva de las micelas, formando una "bola peluda" que se mantiene en suspensión (González, 2004.)

Las pectinas, como muchos otros polisacáridos, se hinchan muy rápidamente con el agua, y por eso cuando se añaden de golpe, y especialmente si se añade agua sobre el sólido, forman agregados difíciles de disolver. La solución es separar las partículas cuando se mezcla el polisacárido

con el agua, con sistemas mecánicos o mezclándolo previamente con otro material no acuoso. Éstas son relativamente inestables desde el punto de vista químico, especialmente a temperaturas elevadas. Su máxima estabilidad está en torno a pH 4. Pueden perder grupos metoxilo, hidrolizarse, y en medio neutro o alcalino romperse por beta-eliminación. Esto afecta muy negativamente a su viscosidad y capacidad de formación de geles (González, 2004).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **6. Localización del área de estudio**

El presente trabajo de experimentación se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, a una altitud de 1776 msnm, 25° 21' 00" latitud norte y 101° 02' 00" longitud oeste (García, 1987). Específicamente en el laboratorio de Nutrición Animal y en el laboratorio de Microbiología perteneciente al Departamento de Producción Animal. Este trabajo se dividió en 2 etapas, las cuales se describen a continuación.

#### **6.1 Etapa I. Caracterización bromatológica del nopal**

##### **Material orgánico**

La caracterización bromatológica se realizó de acuerdo a los procedimientos descritos por la AOAC, para MS, proteína, grasa y fibra cruda. En el caso de FDN y FDA se utilizó la metodología descrita por Van Soest, las pruebas se realizaron en los meses de Marzo y Abril de 2011.

Se evaluaron nutricionalmente dos especies de nopal también recolectadas en los meses de marzo y abril las cuales se describen a continuación:

La primer variedad de nopal fue *Opuntia pheacantha*, y la segunda variedad fue el nopal *Opuntia ellisae*, las cuales fueron recolectadas dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

##### **6.1.1 Determinación de materia seca total**

La materia seca, no es más que la muestra a la que se le ha extraído el agua por acción del calor. Está constituida por una porción susceptible de

quemarse ya que está constituida por sustancias que contienen carbono o materia orgánica y que contribuye a dar energía al alimento, la otra porción incombustible se encuentra formada por sustancias que no pueden quemarse y que los residuos que forman son cenizas cuando se someten a calcinación. La materia seca total se obtiene mediante la evaporación total de la humedad a una temperatura que varía entre 100-105°C. Este método determina el agua contenida en los alimentos.

Primeramente a las muestras recolectadas se les quitaron las espinas y fueron cortadas en trozos pequeños y puestas en charolas grandes de aluminio para después meterlas a la estufa de secado marca Robertshaw la cual estaba a una temperatura de entre 65-75°C. Las muestras estuvieron en la estufa hasta que las variedades de nopal estaban totalmente secas, una manera de saberlo era que el nopal se quebraba fácilmente y mantenía un peso constante.

Después la muestra totalmente seca fue molida en el molino Wiley, colocando la muestra en un frasco limpio y seco. Prosiguiendo a su etiquetado hasta su posterior uso.

Se colocaron los crisoles en la estufa a 80-110°C durante 24 horas para que estuvieran a peso constante. Después los crisoles fueron sacados con pinzas y puestos en el desecador, dejándolos enfriar por un periodo aproximado de 10 minutos y se procedió a pesar.

Se pesaron 2.0 gramos de muestra de nopal y se colocaron en los crisoles, posteriormente fueron colocados en la estufa marca Thermolyne modelo 1500 a 80-110°C por 24 horas y nuevamente se sacaron los crisoles con pinzas, para después colocarlos en el desecador, para enfriar y pesar (figura 3).



Figura 3. Mufla Thermolyne modelo 1500

### **6.1.2 Determinación de ceniza**

La determinación de ceniza que consistió en la preincineración de las muestras que fueron 2.0 gramos de nopal en parrillas hasta que tomaran un color grisáceo en cada una de ellas, después se colocaron en la mufla marca thermolyne modelo 1500 que puede llegar a una temperatura de hasta 900°C; durante 2-3 horas. Las muestras se sacaron de la mufla cuidadosamente con las pinzas para crisol y fueron colocadas en el desecador para dejarlas enfriar durante 15 minutos y efectuar el respectivo pesaje (Figura 4).



Figura 4. Mufla Thermolyne modelo 1500

### **6.1.3 Determinación de extracto etéreo o grasa total**

Se realizó una prueba para determinación de grasa total por medio del método de Soxleth. Para ello se pesaron 5.0 gramos de muestra sobre un papel filtro previamente tarado, después se depositó en un cartucho poroso de celulosa y se cubrió con algodón, una vez realizado el paso anterior se colocó el cartucho en el sifón, después se seco un matraz esférico de fondo plano, boca esmerilada en la estufa con la finalidad de que se encuentre a peso constante y se dejó enfriar por 15 minutos y se pesó en una balanza, después en el matraz se agregó hexano hasta la mitad y se acoplo al refrigerante del dispositivo de Soxleth, se dejó extraer por un periodo de 10 horas contando a partir de que comience a hervir, al finalizar la extracción se evaporo el solvente en un rotavapor, después el matraz esférico de fondo plano se colocó en la estufa a 100 °C por alrededor de 12 horas, finalmente se sacó el matraz, se enfrió en un desecador por 15 minutos y se pesó (figura 5).



Figura 5. Aparato Soxleth

#### **6.1.4 Determinación de fibra cruda**

Se determinó la cantidad de fibra después de haber desengrasado la muestra por medio de los siguientes pasos: se pesaron 2 gramos de muestra desengrasada y se colocó en un vaso de Berzelius, se agregaron 100 ml de solución de ácido sulfúrico 0.225 N, después se conectó al aparato de reflujo por un periodo de 30 minutos contados después de hervir, cuando esto sucede se bajó la temperatura para mantener la ebullición, una vez transcurrido el tiempo se sacó y filtró a través de tela de lino, se lavó la muestra con 3 porciones de 100 ml de agua caliente y se realizó la prueba de papel tornasol para verificar presencia de ácido, se pasó la fibra restante (residuos en la tela de lino) a un vaso de Berzelius con 100 ml de solución de hidróxido de sodio al 0.313 N y se conectó nuevamente al aparato de reflujo por 30 minutos, transcurrido el tiempo se sacó la muestra y se filtró en un tela de lino y se lavó con 3 porciones de agua destilada caliente para después realizar la prueba de papel tornasol para verificar la presencia de reacción alcalina, se escurrió el exceso de agua, se retiró la fibra de la tela de lino con una espátula y se depositó en un crisol de porcelana (previamente identificado y a peso constante), se colocó la muestra en la estufa de 100 a 103 °C por un tiempo de 12 horas, transcurrido el tiempo se retiró la muestra de la estufa, se enfrió y se pesó, por último la muestra se pre incineró en una parrilla y se colocó en la mufla a 600 °C por tres horas, se sacó, se enfrió y se pesó.

### **6.1.5 Determinación de proteína por método de Microkjeldhal**

La determinación de proteína se realizó por medio del método de microkjeldhal, para esto se realizaron los siguientes pasos: se pesaron 0.050 gramos de muestra envuelta en papel, después de colocó en un matraz pequeño, se agregaron 2 perlas de vidrio con la finalidad de mantener constante la ebullición, se agregaron 4 ml de mezcla digestora, se conectó al aparato Kjeldhal marca labconco y se dejó digerir hasta que la muestra tomo color cristalino, se enjuago con 100 ml de agua destilada el resultado de la digestión y se vació en la copa del equipo de destilación, se enjuago con un poco de agua, después se adiciono NaOH al 45 % hasta la mitad de la copa, después se recibieron 70 ml del destilado en un vaso con 5 ml de ácido bórico al 2.2 y 5 gotas de indicador mixto, por último se tituló con ácido sulfúrico al 0.1 N de color azula a rojo (figura 6).



Figura 6. Microkjeldhal.

### **6.1.6 Determinación de fibra detergente neutro (FDN)**

El procedimiento para determinación de fibra detergente neutra se utiliza para conocer los componentes de la pared celular que no son solubles como lignina, celulosa y hemicelulosa, el cual es un método rápido para determinar fibra total en vegetales, ya que estos componentes se digieren lentamente y en diferentes porcentajes. Aparentemente divide la materia seca al punto que separa los constituyentes nutricionales solubles de aquellos que nos son totalmente aprovechables o que dependen de la fermentación microbológica para su aprovechamiento; este método no puede aplicarse en alimentos con alto contenido de proteína y bajo contenido de fibra. Para llevarlo a cabo se pesaron 0.5 gramos



de muestra dentro de una bolsa de Nylon exclusiva para filtrar y uso de esta técnica, se introdujo al equipo ANALIZADOR DE FIBRA ANKOM 200, se le agrego la solución FDN y se activó la temperatura (100°C) y la agitación con duración de 1 hora, transcurrido el tiempo, se drenó la solución y en seguida se realizaron dos enjuagues en un periodo de tiempo de 5 minutos a 90°C cada uno, se volvió a drenar el agua, se sacó la bolsa del equipo para ser sumergida en acetona y secada en la estufa a 110°C de 2 a 4 horas, por último se pesó en una balanza analítica.

#### **6.1.7 Determinación de fibra detergente ácido (FDA)**

El procedimiento para determinar fibra detergente ácido permite la obtención rápida de la cantidad de celulosa y lignina en vegetales. La diferencia entre el valor de las paredes celulares y la fibra detergente ácido da una estimación del valor de hemicelulosa ya que esta diferencia también incluye una fracción de proteína adherida a las paredes celulares. Este método se emplea también como procedimiento preliminar en la determinación de lignina.

La fibra detergente ácido es separada en dos fracciones: la primera, ácidos detergentes solubles que son el contenido de hemicelulosa rápidamente digerible y la segunda, la fibra detergente ácido es la porción menos digestible en alimentos, la FDA es el indicador de la digestibilidad de los vegetales por su alta concentración de lignina que es la parte digerible de la fibra, mientras más bajo sea el valor de la FDA, más alimento se puede digerir. Para llevarlo a cabo se pesó 0.5 gramos de muestra dentro de una bolsa de Nylon exclusiva para filtrar y uso de esta técnica, se introdujo al equipo ANALIZADOR DE FIBRA ANKOM 200, se le agrego la solución FDA y se activó la temperatura (100°C) y la agitación con duración de 1 hora, transcurrido el tiempo, se drenó la solución y en seguida se realizaron dos enjuagues en un periodo de tiempo de 5 minutos a 90°C cada uno, se volvió a drenar el agua, se sacó la bolsa del equipo para ser sumergida en acetona y secada en la estufa a 110°C de 2 a 4 horas, por último se pesó en una balanza analítica.

## **6.2 Etapa II. Fermentación para la producción del extracto enzimático a partir de un microorganismo aislado del rumen bovino**

### **6.2.1 Material biológico**

La cepa VML-2 (vaca alimentada con masilla y levadura) utilizadas para el presente trabajo fue tomada de cultivos puros aislados e identificados por Valdez (2010) pertenecientes al cepario del Departamento de Producción Animal.

### **6.2.2 Preparación de medio sólido**

Se prepararon cajas Petri con agar Schaedler (BD BBLTM), agregando 8.38g por cada 200ml de agua destilada dentro de un matraz Erlenmeyer de 250ml, disolviendo a flama de mechero hasta observar coloración cristalina, posteriormente se esterilizó el medio en un autoclave a 121°C y 15Lb de presión durante 15min.

### **6.2.3 Siembras en medio sólido**

Se realizaron siembras en cajas Petri estériles, por el método de estría abierta cruzada sobre el agar Schaedler, después se incubo a 37°C por 24 horas bajo condiciones de anaerobiosis, hasta observar crecimiento sobre el medio. Para la creación del ambiente en condiciones anaeróbicas y favorecer el crecimiento del microorganismo, se utilizaron botes de plástico con tapa de rosca, dentro del cual se colocaron las cajas Petri ya sembradas, se colocó una vela prendida y se cerró el bote, colocando cinta alrededor de la tapa, cuando la vela se apaga indica la ausencia de oxígeno dentro del bote, obteniendo así las condiciones para el crecimiento de las enzimas.

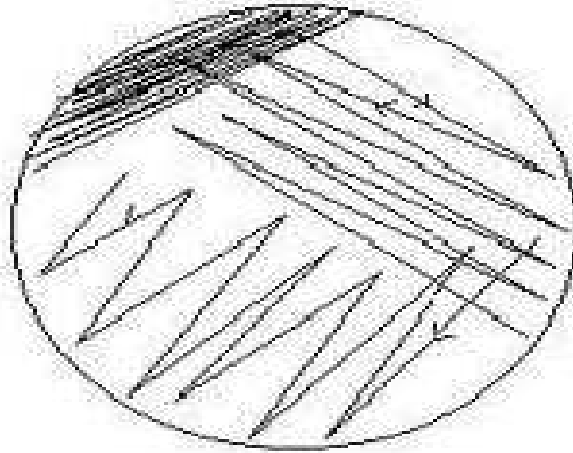


Figura 7. Método de siembra por estría abierta cruzada en medio sólido.

#### **6.2.4 Tinción de Gram**

Se realizó la técnica de tinción de Gram para observar las características morfológicas de los microorganismos empleados. Para ello se tomó con el asa una muestra del cultivo puro y se disolvió en un portaobjetos con una gota de agua destilada, se homogenizó la suspensión de bacterias, posteriormente se fijó la muestra con calor en el mechero. Una vez fijada la muestra se cubrió con cristal violeta dejándolo reaccionar por 60 segundos y se enjuagó suavemente al chorro del agua; se cubrió de nuevo la superficie con una solución de yodo (lugol) y se dejó reaccionar por 1 minuto; se enjuagó suavemente y se decoloró con una solución de alcohol-acetona por unos segundos y después enjuagarse. Finalmente se cubrió la superficie con una solución de safranina y se dejó actuar por 1 minuto para después enjuagarse con agua destilada. Se dejó secar la preparación por completo para después observar los microorganismos teñidos empleando un microscopio óptico a 100X con aceite de inmersión.

### 6.3 Fermentación para la producción del extracto enzimático

#### 6.3.1 Preparación del medio líquido específico para producir celulasa

Se preparó un medio líquido específico para la degradación de celulosa los componentes se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Composición del medio líquido específico para producción de celulasas.

Componente	Cantidad (%)
NaCl	0.5
NaNO <sub>3</sub>	0.3
KCL	0.5
Fuente de C (celulosa) Carboximetil celulosa de sodio (GOLDEN BELL)	1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2
MgSO <sub>4</sub>	0.01

#### 6.3.2 Producción de celulasas

En un matraz Erlenmeyer de 250 con 70 ml de agua destilada se agregó el medio mineral disolviendo sus componentes y posteriormente se esterilizó el medio en un autoclave a 121°C y 15Lb de presión durante 15min. La fuente de carbono (carboximetil celulosa) se disolvió en 30 ml de agua destilada y fue adicionada en el medio a temperatura ambiente. Se agregaron 7 ml del medio en la caja Petri con cultivo puro, se realizó barrido por medio de micro pipeta con puntillas de 1 ml para obtener las enzimas, se depositaron en el medio líquido para inducir a la producción de celulasas empleando como única fuente de carbono la CMC, se incubaron durante 96 horas a una temperatura de 40°C, en condiciones de anaerobiosis, se centrifugo el medio en tubos de ensaye a 5000 revoluciones durante diez minutos, con la finalidad de separar el extracto enzimático de la biomasa. El extracto enzimático se depositó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

### **6.3.3 Producción de pectinasas**

En un matraz Erlenmeyer de 250 con 70 ml de agua destilada se agregó el medio mineral disolviendo sus componentes y posteriormente se esterilizó el medio en un autoclave a 121°C y 15Lb de presión durante 15min. La fuente de carbono (carboximetil pectinasa) se disolvió en 30 ml de agua destilada y fue adicionada en el medio a temperatura ambiente. Se agregaron 7 ml del medio en la caja Petri con cultivo puro, se realizó barrido por medio de micro pipeta con puntillas de 1 ml para obtener las enzimas, se depositaron en el medio líquido para inducir a la producción de celulasas empleando como única fuente de carbono la CMC, se incubaron durante 96 horas a una temperatura de 40°C, en condiciones de anaerobiosis, se centrifugo el medio en tubos de ensaye a 5000 revoluciones durante diez minutos, con la finalidad de separar el extracto enzimático de la biomasa. El extracto enzimático se depositó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

## **6.4 Etapa III. Cinéticas enzimáticas del nopal empleando el extracto enzimático producido por la cepa VML-2**

### **6.4.1 Preparación de la solución madre**

Se preparó una solución madre (sustrato) al 5 % agregando 100 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 250 ml previamente esterilizado, posteriormente se agregaron 5 g muestra de nopal utilizando dos variedades (Figura 8).



Figura 8. Solución madre

### 6.4.2 Cinética enzimática

La cinética enzimática se realizó en tubos de ensaye, lavados y esterilizados, agregando por medio de micro pipetas y puntillas estériles 200µl de sustrato y 50 µl de extracto enzimático, dejando actuar en baño maría a 37°C a tiempos en minutos de 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240(4 horas), 480(8 horas), 1440(24horas), 2880(48horas) y 4320(72horas).

### 6.4.3 Determinación de azúcares reductores

Se llevó a cabo mediante le técnica de (Somogy-Nelson). Para lo cual se prepararon los siguientes reactivos.

Preparación del reactivo 1 (Somogyi):

Para la preparación del reactivo de Somogy se prepararon las siguientes soluciones. Solución A: 2.5 g de carbonato de sodio anhídrido ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 2.5 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado ( $\text{KNa}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), 2.0 g de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y 20 g de sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) se disolvieron en agua destilada y se aforó a 100 mL Solución B: en 50 mL de agua destilada se agregaron 1 gota de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) disolver 7.5 g de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). El reactivo 1 se preparó mezclando 4 ml. de solución en 100 ml. de solución A.

Preparación del reactivo 2 (Nelson):

Para la preparación del reactivo de Nelson se prepararon las siguientes soluciones. Solución A: en 225 mL de agua destilada se disolvió 10.5 mL. de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y 12.5 g de molibdato de amonio ( $(\text{CNH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Solución B: 1.5 g de arsenito de sodio heptahidratado ( $\text{NaHASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) se disolvieron en 12.5 mL de agua destilada. El reactivo 2 se preparó mezclando lentamente la solución 1 y 2 en agitación y se aforaron a 250 mL. Posteriormente se calentó a 55° C durante 30 min.

Se preparó un blanco para ajustar a cero el espectrofotómetro marca génesis 20 colocando 250  $\mu$  de agua destilada en un tubo de ensaye y 250 $\mu$  de reactivo de Somogy, e incubando a baño de agua hirviendo por 10 minutos para después agregar 250 $\mu$  de reactivo de Nelson y 4 ml de agua destilada, se agito vigorosamente y se calibro el espectrofotómetro (figura 9).



Figura 9. Espectrofotómetro.

La metodología empleada para la determinación de azúcares reductores fue la siguiente: después de dejar actuar el extracto enzimático sobre sustrato a los diferentes tiempos se agregaron 250  $\mu$ l del reactivo de Somogy para detener la actividad enzimática, posteriormente se incubó en baño de agua hirviendo durante 10 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente (figura 10).



Figura 10. Muestras después de baño de agua

Se agregaron 250  $\mu$ l de reactivo de Nelson y se agitó vigorosamente, con el agitador vortex (figura 11).



Figura11. Agitador vortex.

Después se agregaron 4 ml de agua destilada y de nuevo se agito, por último se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a un longitud de onda de 660 nm después de haber ajustado el espectrofotómetro con el blanco.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Etapa I. Caracterización bromatológica del nopal

#### 7.1.1 Evaluación nutricional de las dos variedades de *Opuntia* utilizadas.

El cuadro 4 muestra los resultados obtenidos del contenido nutricional de las dos variedades de *Opuntia* utilizadas. Realizando una comparación con el estudio de Fuentes *et al.*, en el 2004, quienes evaluaron el contenido nutricional de cuatro variedades de nopal forrajero (*Opuntia* spp), reportaron los siguientes resultados: proteína entre 5-12%, extracto etéreo entre 0.45-1.89%, fibra cruda entre 10.7-11.4%, ceniza entre 18-35%, MST entre un rango de 88-96%. Estos resultados muestran que para MST, extracto etéreo y fibra cruda si se encuentran dentro de este rango, mientras que proteína y ceniza presentan resultados muy por debajo de los rangos citados y semejantes a los obtenidos por Guzmán y Chávez (2007), quienes en su estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus indica*) para el consumo humano, atribuyen sus resultados a la edad de los cladodios utilizados, los cuales se encuentran en un rango de edad de 1 mes a una año.

Mientras que para FAD y FND de las dos especies utilizadas se obtienen valores semejantes a los citados por Medina *et al.*, en el 2006, quien menciona que el contenido de FAD se encuentra alrededor de 16% y el contenido de FND entre 30 y 45% aproximadamente.

Cuadro 4. Contenido nutricional de las dos variedades de *Opuntia* utilizadas.

<b>Componente (%)</b>	<b><i>Opuntia pheacantha</i></b>	<b><i>Opuntia ellisae</i></b>
Materia seca total	23.055	23.846
Materia seca parcial	19.01686	15.9615
Humedad	8.6866	7.8816
Proteína	2.33	2.18
Ex. Etéreo	1.43	1.41
Ceniza	91.31	91.92
Fibra cruda	87.82	21.92
Fibra ácido detergente	35.66	44.39
Fibra neutro detergente	85.97	84.45

La figura 12 presenta una comparación gráfica del contenido nutricional de las dos variedades de *Opuntia* utilizadas, en la que se puede apreciar que las dos especies presentan valores semejantes en el contenido de proteína, grasa, materia seca total, materia seca parcial, FND y ceniza, mientras que en el contenido de humedad, fibra cruda y FAD se puede observar diferencias haciendo una comparación con los datos obtenidos por (Mata, 20011). Donde se aprecia que las especies (*Opuntia robusta* y *Opuntia rastrera*) presentan valores diferentes en el contenido de proteína, grasa y FAD, mientras que en el contenido de ceniza, fibra, FND y materia seca total se puede observar diferencias mayores.

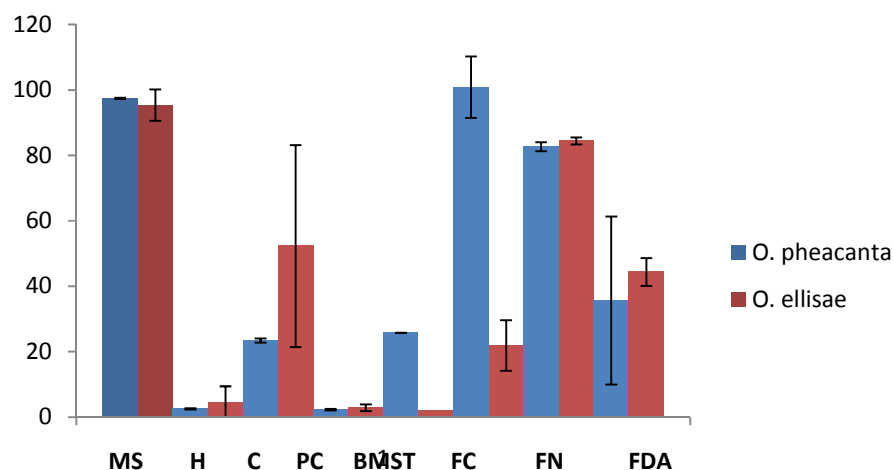


Figura 12. Comparación nutricional de 2 variedades de nopal (*Opuntia* sp).

## **Etapla II. Fermentación para la producción del extracto enzimático a partir de un microorganismo aislado del rumen bovino**

### **7.2 Crecimiento de la cepa VML-2 en medio sólido**

Las características macroscópicas de la cepa VML-2, da como resultado una colonia de color blanco, forma irregular, elevación convexa, aspecto húmedo y consistencia suave (Figura 13). Dicha descripción concuerda con la mencionada por Valdez-Sepúlveda (2010). Esta cepa fue seleccionada por Valdés-Sepúlveda

(2010) como un microorganismo altamente productora de la enzima celulasa, por lo que fue empleada en posteriormente para la degradación enzimática del nopal.



Figura 13. Características macroscópicas de la cepa VML-2 en medio solido.

### 7.3 Evaluación microscópica

Las características microscópicas de las células puras teñidas mediante la técnica de Gram fueron: bacilos cortos Gram negativos, no agrupados (Figura 14). Dicha descripción concuerda con la mencionada por Valdez-Sepúlveda (2010).



Figura 14. Observación microscópica (100X) de microorganismos producidos por la cepa VML-2.

## **Etapas III. Cinéticas enzimáticas del nopal empleando el extracto enzimático producido por la cepa VML-2**

### 7.4 Cinética enzimática

#### 7.4.1 Cinética enzimática de celulasa en nopal *Opuntia pheacantha*

En la figura 15 podemos observar que las enzimas celulasas producidas por la cepa VML-2 tienen gran actividad sobre el sustrato al 1% en los primeros 60 minutos, mientras que en 120 minutos el sustrato al 5% alcanza el nivel de actividad y que la enzima no tardó en adaptarse a los nutrientes del medio, por lo

que no se observó fase de adaptación, en estos primeros minutos se presentó la mayor cantidad de azúcares reductores, lo que significa la ruptura de celulasas y su conversión en azúcares más simples por ejemplo glucosa, se muestra un rápido descenso en la degradación de celulosa en el rango de 120 a 240 minutos con una actividad enzimática de 1430U. descendiendo constantemente hasta 4320 minutos (72horas), donde en el eje de las x se determinaron los siguientes valores equivalentes 0=0 minutos, 1= 5 minutos, 2 = 15 minutos, 3= 60 minutos, 4= 90 minutos, 5= 120 minutos, 6 = 1440 minutos (24h), 7= 2880 minutos(48 horas), 8= 4320 minutos (72 horas).

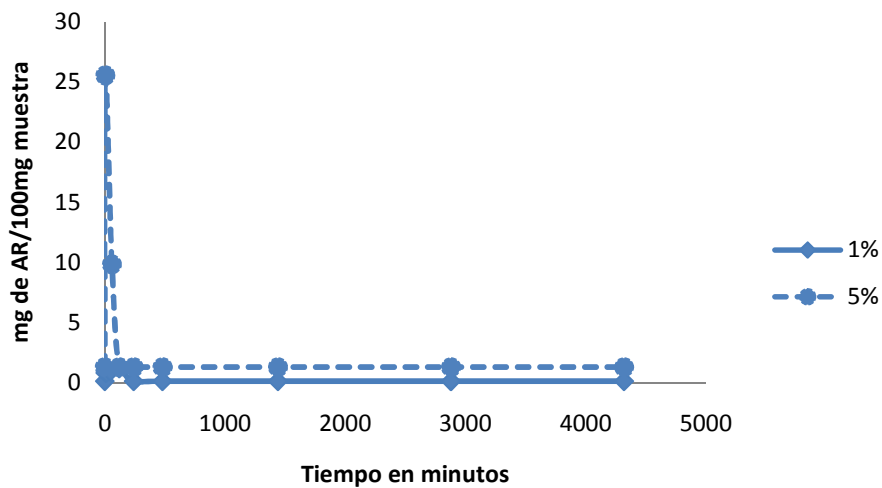


Figura 15. Degradación enzimática de celulosa en nopal *Opuntia pheacantha* utilizando celulasas producidas por la cepa VML-2.

#### 7.4.2 Cinética enzimática de pectina en nopal *Opuntia pheacantha*

En la figura 16 podemos observar que las enzimas pectinasas producidas por la cepa VML-2 tienen gran actividad sobre el sustrato de los 2 porcentajes (1% y 5%) en los primeros 45 minutos y que la enzima no tardó en adaptarse a los nutrientes del medio, por lo que no se observó fase de adaptación, en estos primeros minutos se presentó la mayor cantidad de azúcares reductores, lo que significa la ruptura de pectina y su conversión en azúcares más simples por

ejemplo glucosa, se muestra un rápido descenso en la degradación de celulosa en el rango de 45 a 60 minutos con una actividad enzimática de 1430U. descendiendo constantemente hasta 4320 minutos (72horas), donde en el eje de las x se determinaron los siguientes valores equivalentes 0=0 minutos, 1= 5 minutos, 2 = 15 minutos, 3= 60 minutos, 4= 90 minutos, 5= 120 minutos, 6 = 1440 minutos (24h), 7= 2880 minutos(48 horas), 8= 4320 minutos (72 horas).

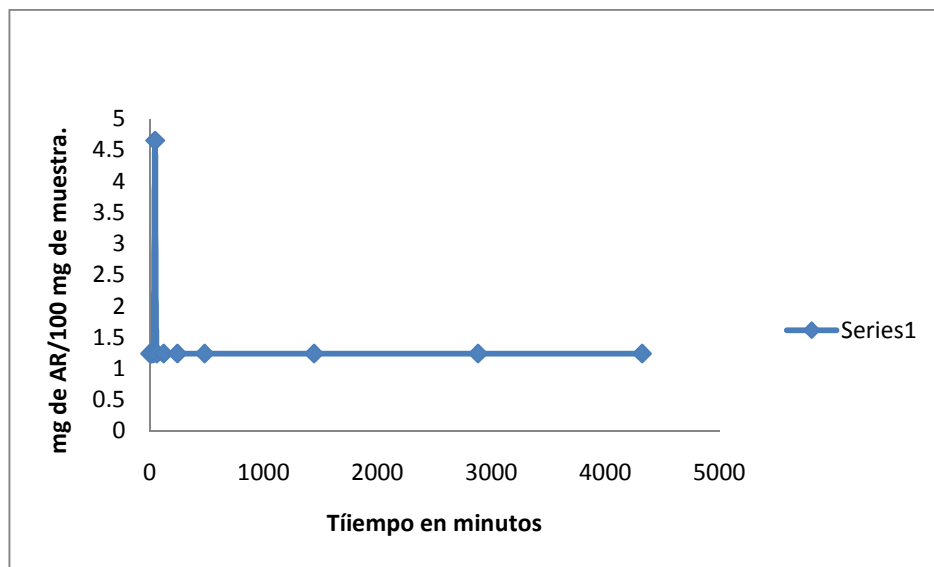


Figura 16. Degradación enzimática de pectinasa en nopal *Opuntia pheacantha* utilizando pectinasas producidas por la cepa VML-2.

### 7.4.3 Cinética enzimática de celulasa en nopal *Opuntia ellisae*

La figura 17 representa la tasa de degradación de celulosa en nopal *Opuntia ellisae*, en la que podemos observar que durante los primeros 60 minutos la enzima presenta actividad adaptativa y mucha actividad celulasa en el sustrato al 1% mientras que el sustrato al 5% presento gran actividad en los primeros 120 minutos y después de esos tiempos fue disminuyendo presentando una actividad enzimática de 1557 U, lo que se contrapone con lo mencionado por Valdez-Sepúlveda (2010) quien menciona que la micro flora no ruminal se adapta rápidamente a la utilización de celulosa, por lo que la producción de celulasa se ve limitada. Después de este tiempo la enzima disminuye la actividad celulasa debida

a la competencia por nutrientes y acumulación de desechos tóxicos que ocasionan la disminución de la población microbiana y muerte de estas, donde en el eje de las x se determinaron los siguientes valores equivalentes 0=0 minutos, 1= 5 minutos, 2 = 10 minutos, 3= 120 minutos, 4= 1440(24horas), 5= 2880 minutos (48horas), 6= 4320minutos (72 horas).

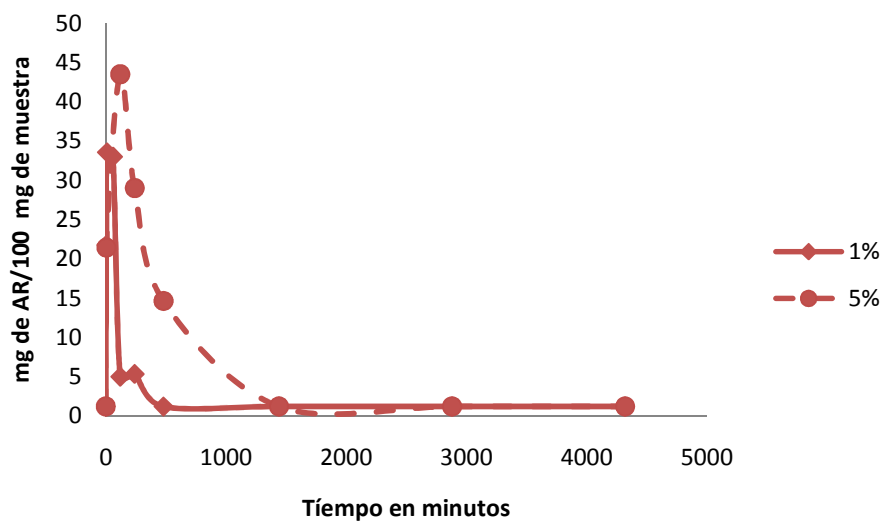


Figura 17. Degradación enzimática de celulosa en nopal *Opuntia ellisae* utilizando celulasas producidas por la cepa VML-2.

#### 7.4.4 Cinética enzimática de pectina en nopal *Opuntia ellisae*

En la figura 18 podemos observar que las enzimas pectinasas producidas por la cepa VML-2 tienen gran actividad sobre el sustrato de los 2 porcentajes (1% y 5%) en los primeros 45 minutos y que la enzima no tardó en adaptarse a los nutrientes del medio, por lo que no se observó fase de adaptación, en estos primeros minutos se presentó la mayor cantidad de azúcares reductores, lo que significa la ruptura de pectina y su conversión en azúcares más simples por ejemplo glucosa, se muestra un rápido descenso en la degradación de celulosa en el rango de 45 a 60 minutos con una actividad enzimática de 1430U. descendiendo constantemente hasta 4320 minutos (72horas), donde en el eje de

las x se determinaron los siguientes valores equivalentes 0=0 minutos, 1= 5 minutos, 2 = 15 minutos, 3= 60 minutos, 4= 90 minutos, 5= 120 minutos, 6 = 1440 minutos (24h), 7= 2880 minutos(48 horas), 8= 4320 minutos (72 horas).

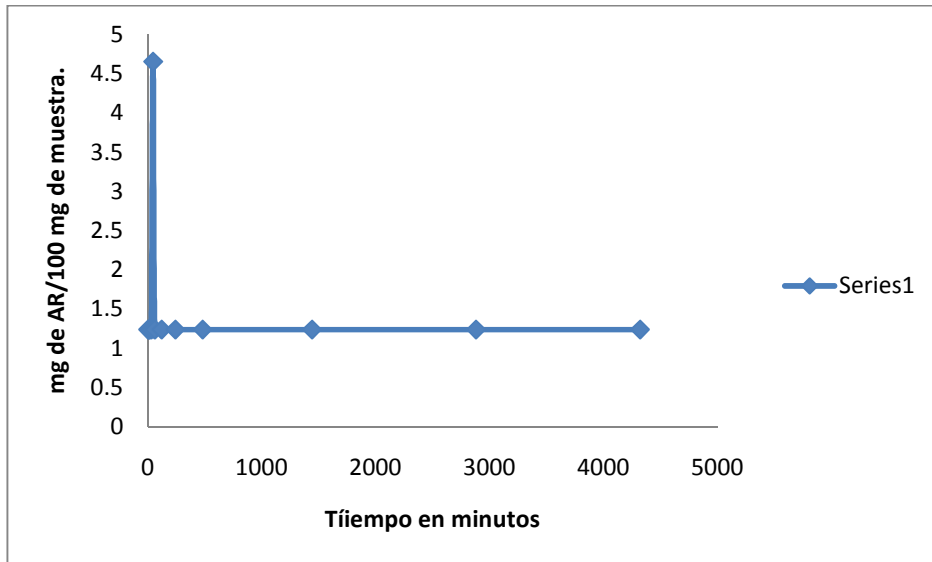


Figura 18. Degradación enzimática de pectina en nopal *Opuntia ellisae* utilizando pectinasa producidas por la cepa VML-2.

En la degradación de las dos variedades de nopal utilizadas se obtienen valores de actividad para *Opuntia ellisae* de 1557 U y para *Opuntia pheacantha* 1430 U, mientras que Valdez-Sepúlveda (2010) utilizando carboximetilcelulosa como fuente de carbono y energía obtiene la máxima actividad enzimática a las 24 horas de fermentación con un valor de 858 U, estas diferencias pueden ser debidas a que la celulosa amorfa presente en nopal es más difícil de degradar, haciendo que esta condición favorezca el crecimiento de las enzimas y por consecuencia su actividad. Comparando las dos variedades de nopal se obtiene mayor actividad enzimática en la variedad *Opuntia ellisae* con un valor de 1557 U, esto se debe a que esta variedad presenta mayor cantidad menor cantidad de fibra y esto favorece las condiciones para que la enzima actúe más rápido.

## V. CONCLUSIONES

Se logró evaluar nutricionalmente las dos variedades de nopal utilizadas (*Opuntia pheacantha* y *Opuntia ellisae*), presentando diferencias importantes en el contenido de cenizas, fibra y fibra detergente neutro y materia seca total, obteniendo mayores valores la variedad *Opuntia pheacantha* en contenido de fibra.

La cepa VML-2 aislada del rumen bovino es capaz de producir enzimas celulasas capaces de hidrolizar la celulosa.

Pero no tiene la misma capacidad para degradar pectina.

La variedad *Opuntia pheacantha* por su alto contenido de fibra presenta menor actividad enzimática que en la variedad *Opuntia ellisae*.

La utilización de enzimas celulasas producidas por cepas aisladas del rumen bovino es una alternativa económica y de fácil acceso para procesos de síntesis de compuestos ricos en celulosas pero no ricos en pectina.



## VI. LITERATURA CITADA

- Alexander, A., 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT Editor, S.A. México. Pp. 162-167.
- Anaya, P.M., Bautista, Z. R. 2008. Fodder nopal in México: from the 16th to the 20th century. Programa Universitario de Ciencias Sociales y Humanidades. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 1.
- Andersson, R., Primo. 2001., Molecular weight, structure and shape of *α*-(1-4)-D- glucan fractions obtained by enzymatic degradation with (1-4)- $\beta$ -Dglucan 4- glucanhidrolase from *trichoderma reesei*, *carbohydr. Polym.* 46(2001).
- Bracamontes, L. R. M. 1981. Consideraciones sobre clasificación de las cactáceas. *Cact. Suc. Méx.* 20-24 pp.
- Bravo, H.H.1978. Las cactáceas de México. Instituto de biología de la UNAM. México.
- Britton y Rose. 1937. Developmental morphology and anatomy in cactaceae. *Bioscience*, 30: 605-610.
- Cantú, M., 1984. Efecto de la salinidad en la producción de materia seca y absorción nutrimental de plantas micro propagadas de nopal (*Opuntia* spp). M. C. Tesis. Ciencias Forestales. Chapingo, México.
- Chacón, S.L.O., y Waliszewsky, K.N., 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Vol. 21. Num.042. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Pp. 113-122.
- Clarke, J.A. 1997. Biodegradation of cellulose; enzymology and biotechnology (technomic publication. EUA).

- Espinoza, E. 1990. Seasonal nutrient content in food plant of white-tailed deer on the south Texas plains. *Journal of Range Management*, 34: 506-510.
- Flores, V.C.A., De Luna, E.J.M., Ramírez, M.P.P. 1995. Mercado Mundial del Nopalito. Universidad Autónoma Chapingo, México. Pp. 2-3.
- Fuentes, R. J., Jiménez, C.L., Suarez, G.L., Torres, H.M., Murillo, S.M.E., López, G.J.J., Ortiz, R.B. 2004. Evaluación nutricional de cuatro especies de nopal (*Opuntia spp*) forrajero. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- García, A. M. 2003. La familia de las cactáceas: Alternativa para la agricultura en zonas áridas en el siglo XXI pp. 3-4.
- Gibbons, B.J., Roach, P.J., and Hurley. 2002 T. *Biolgy*. Crystal structure of the autocatalytic initiator of glycogen synthesis. *Bioly*. 319: 463-477, 2002.
- Gonzalez C.A., 1998. Utilización del nopal como sustituto parcial de alfalfa en dietas para vacas lecheras. *Tec. Pecuaria en México*.36:73-81.
- Gopar, E.E.A. 2001. Tasa de degradación *in vitro* de algunas especies de *opuntia* cosechadas en primavera. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Granados, S.D., y P.A.D. Castañeda. 1991. El Nopal: Historia, fisiología, genética e importancia frutícola. México: Trillas. 227 p.
- Guzmán, G.L., y Chávez, J. 1007. Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus indica*) para el consumo humano. *Rev. Química de Perú*. 2007, 73, N° 1. Pp.41-45.
- Jackson, Jarrige, R., Demarquilly, C., & Dulphy, J.P. 2005. Forage conservation. *En: J.B. Hacker (ed.) Nutritional limits to animal production from pastures. Proceedings of the International Symposium. Commonwealth Agricultural Bureaux, UK.*

- Kramer, P. J. 1989. Relaciones hídricas de suelos y plantas *ed.* Harla, México 538 pp.
- López, J.J. y Elizondo, J.L. 2003. Conocimiento y aprovechamiento del nopal en México. En López, M.J.L. y M.J. Ayala. Memorias de la 3a Reunión Nacional y Primera Internacional sobre el Conocimiento y aprovechamiento del Nopal. UAAAN, Saltillo, Coah., México.
- Marroquín, J.S. 1964. Estudio Ecológico y Dasonómico de las Zonas Áridas del Norte de México. INIF. Publicación especial. México. Pp. 166.
- Monroy, R. Betancourt H. y Olivares, R. 1989. Estudio comparativo de las características edáficas del cultivo del nopal. *Opuntia* sp. De tres edades diferentes. In: resúmenes. XXI congreso nacional de las ciencias del suelo. San José Iturbide, México. 1. 14 p.
- Murillo, A. B. 2003. El nopal, alternativa para la agricultura de zonas áridas en el siglo XXI. Centro de investigaciones del noreste. Pp. 1-2.
- Nobel, P. S. 1999. Biología ambiental: agroecología, cultivo y usos del nopal. (*Eds.*) Barbera, G. P. Inglese y E. Pimienta, B. FAO 29-35 pp.
- Pimienta, E. 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.
- Sarli, 2004. Taxonomy of utilized *opuntias*. In: G. Barbera, P. Inglese and E. Pimienta B. Agroecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant Production and Protection Paper 132. Rome, Italy.
- Silveira y Alonso, 2004. Intensidade de corte na cultura da palma gigante (*Opuntia ficus-indica*). p.270-271, *in: Anais 11<sup>a</sup> Reunião da Soc. Bras. de Zoot.*, Fortaleza, Brazil.

- Sudzuki, F. H. 1999. Anatomy and morphology. p.28-35, *En: G. Barbera, P. Inglese & E. Pimienta B. (eds) Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant Production and Protection Paper, 132.*
- The Merck Index. Edition, 1976. Somatic embryogenesis in angiosperms. *Hort. Reviews.1:1-78.*
- Turnes, N. C. y M. M. Jones. 1980. Cactáceas forrageiras. p.74-81, *in: Pecuária intensiva, com uma introdução sobre forrageiras e pastos. 10<sup>th</sup> ed.. Sao Paulo, Brazil.*
- Universidad Nacional Autónoma de México. 1989. Historia de la Ciencia en México. Vol. XVII. México: Fondo de Cultura Económica. 298 pp.
- Valdez, S.L. 2010. Estudio microbiológico de líquido ruminal de ganado Holsteín alimentado con dietas enriquecidas con productos de la industria cervecera (masillas y levadura). Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.