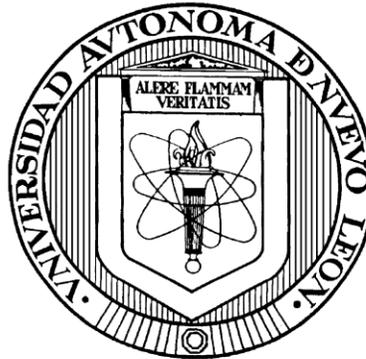


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**Efecto del aceite de orégano sobre la productividad, fermentación
ruminal y calidad de la leche en cabras lecheras**

POR

JOCELYN CYAN LÓPEZ PUGA

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

Marzo de 2022

**Efecto del aceite de orégano sobre la productividad, fermentación
ruminal y calidad de la leche en cabras lecheras**

Aprobación de tesis por el comité particular de

Jocelyn Cyan López Puga

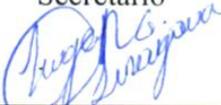
COMITÉ DE TESIS



D.Ph. Gerardo Méndez Zamora
Presidente



Ph.D. Jorge R. Kawas Garza
Secretario



Dra. Sughey R. Sinagawa García
Vocal



Dra. Daniela Sarai Rico Costilla
Vocal



Dra. Sara Paola Hernández Martínez
Vocal



M.C. Gustavo Sobrevilla Hernández
Vocal



Dr. Gustavo Moreno Degollado
Vocal

**Efecto del aceite de orégano sobre la productividad, fermentación
ruminal y calidad de la leche en cabras lecheras**

Aprobación de tesis por el comité particular de

Jocelyn Cyan López Puga

COMITÉ DE TESIS



D.Ph. Gerardo Méndez Zamora
Director



Ph.D. Jorge R. Kawas Garza
Co-Director



Dra. Sughey R. Sinagawa García
Co-Directora



Dra. Daniela Sarai Rico Costilla
Co-Directora



Dra. Sara Paola Hernández Martínez
Co-Directora



M.C. Gustavo Sobrevilla Hernández
Co-Director



Dr. Gustavo Moreno Degollado
Co-Director



Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres
Subdirector de Posgrado e Investigación

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Nuevo León por ser la máxima casa de estudios que me permitió realizar mis estudios de maestría.

Al CONACYT por el apoyo económico brindado para realizar estos estudios y al PAICYT por el apoyo (CT1108-20; UANL) destinado a la elaboración del proyecto.

A la empresa MNA de México S.A. de C.V. y personal, así como al de AQUA Laboratorios S.A. de C.V. Especialmente al Ph.D. Jorge R. Kawas, M.C. Eduardo Belarmino Pérez y MVZ. Juan Manuel Garza Barrera. De igual manera, a la empresa Natural Solutions SMI por proveer el aceite de orégano.

Al Rancho Caprino Santa Úrsula, por el préstamo de las cabras para el experimento *in vitro*, particularmente al C.P. Jaime René Quintanilla Martínez †.

Al Rancho Agrícola La Gloria y personal, quienes facilitaron instalaciones y animales para la fase *in vivo*, especialmente a la Dra. Karla Castillo y al Ing. Gustavo Castillo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, especialmente los laboratorios de Nutrición y Metabolismo Animal, Parasitología, Inmunología, Virología y Toxicología.

Así mismo, de muy grata manera a los encargados de cada uno de estos: a la Dra. Daniela Saraí Rico Costilla, Dra. Heidi Gisselle Rodríguez Ramírez, Dr. Ramiro Ávalos Ramírez, Dr. Juan José Zárate Ramos y Dra. Alicia Guadalupe Marroquín Cardona. Finalmente, al personal técnico: TLQ. María Julia Arteaga Muñoz y TLC. Lesly Nallely de la Rosa Contreras.

A la Facultad de Agronomía y al Centro de Investigación y Desarrollo en Industrias Alimentarias de la misma, por facilitar sus equipos e instalaciones, particularmente los Laboratorios de Lácteos, Biotecnología, Ingeniería y Microbiología. Así mismo, agradecimientos especiales al Ing. Miguel Neftali Pérez Sánchez, Ing. Alondra Valadez Pineda, Ing. Jesús Alberto Lara Reyes, Ing. Zayd Eliud Rangel Nava y Don Jorge.

Al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas, particularmente al Departamento de Bionanotecnología y a la Dra. Diana Ginette Zarate Triviño por el préstamo de sus instalaciones y equipos.

Al D.Ph. Gerardo Méndez Zamora, por ser un excelente asesor, siempre creer en mí, alentarme a la superación personal y profesional, pero sobre todo por ser un gran amigo.

Al Ph.D. Jorge R. Kawas Garza, por compartir sus conocimientos, experiencia, sus aportaciones innovadoras, así como el apoyo incondicional hacia mi persona.

A la Dra. Sara Paola Hernández Martínez, por ser una gran maestra, su paciencia y amistad.

Al M.C. Gustavo Sobrevilla Hernández por ser pilar fundamental y su enorme compromiso en la elaboración de este proyecto.

A la Dra. Sugey R. Sinagawa García, Dra. Daniela Saraí Rico Costilla y Dr. Gustavo Moreno Degollado por su apoyo absoluto y grandes contribuciones.

También agradezco a mis compañeros: Armando Delgado Cedeño, Francisco Javier Hernández de Luna y Pilar E. Rincón por los momentos vividos durante la maestría, mismos que atesoraré por siempre. Aprovecho estas líneas para agradecer también a la T.L.Q. María Julia Arteaga Muñoz, por su ayuda en el laboratorio y ser una gran amiga durante todo este proceso.

Muchas gracias a cada uno de ustedes por hacer posible el presente trabajo.

DEDICATORIA

A mi hermosa madre, Norma Angélica Puga Sánchez:
Que bendición ser tu hija, lo mereces todo en este mundo.
Te amo mucho mami ♡



ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	XV
RESUMEN.....	XX
ABSTRACT.....	XXII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Producción mundial de leche caprina	2
2.2. Producción Nacional de leche caprina.....	3
2.3. El rumen: enfoque de análisis en la síntesis de leche	6
2.4. Antibióticos en la producción de leche y alternativas naturales	7
2.5. Aceites esenciales en la producción lechera caprina	9
2.5.1. <i>Aceite esencial de orégano.....</i>	<i>9</i>
2.5.2. <i>Aceite esencial de ajo.....</i>	<i>10</i>
2.5.3. <i>Aceite esencial de romero</i>	<i>10</i>
2.5.4. <i>Aceite esencial de zacate de limón.....</i>	<i>11</i>
2.5.5. <i>Otros aceites esenciales</i>	<i>12</i>
2.6. Biosíntesis de la leche	12
2.7. Composición de la leche de cabra	14
2.8. Características fisicoquímicas y antioxidantes de la leche	16
2.9. Propiedades sensoriales de la leche.....	18
2.10. Nanotecnología y nanopartículas	18
2.11. Caracterización y tamaño de nanopartículas	21
2.11.1. <i>Potencial zeta (carga de la superficie)</i>	<i>22</i>
2.11.2. <i>Índice de polidispersidad</i>	<i>22</i>
3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
4. HIPÓTESIS	24
5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	24

5.1. Objetivo general	24
5.2. Objetivos específicos.....	24
6. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1. Ubicación del estudio.....	25
6.2. Preparación de las nanopartículas.....	25
6.3. Análisis de las nanopartículas de aceite de orégano.....	27
6.4. Evaluación <i>in vitro</i>	27
6.4.1. Elaboración de dieta experimental	27
6.4.2. Características de los animales y extracción de líquido ruminal.....	30
6.4.2. Digestibilidad experimental <i>in vitro</i>	30
6.4.3. Producción de gas total (PGT), pH y liberación de amoníaco (NH ₃) <i>in vitro</i>	
33	
6.5. Evaluación <i>in vivo</i>	35
6.5.1. Dieta experimental.....	35
6.5.2. Características de los animales, instalaciones y diseño experimental.....	37
6.5.3. Evaluación del comportamiento productivo	38
6.5.4. Parámetros sanguíneos.....	40
6.5.5. Evaluación de la calidad de la leche cruda y ajuste de su rendimiento	40
6.5.6. Capacidad antioxidante de leche cruda.....	41
6.5.7. Características fisicoquímicas y evaluación sensorial de la leche de cabra	
ultra pasteurizada	42
6.6. Análisis estadístico.....	43
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
7.1. Análisis de las nanopartículas	45
7.2. Variables de fermentación <i>in vitro</i>	48
7.2.1. Digestibilidad de la materia seca (DMS)	48
7.2.2. Digestibilidad de la fibra detergente neutro con base a materia orgánica	
(DFDN _{mo})	50
7.2.3. Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de la digestibilidad	
52	
7.2.4. Producción de gas total	56

7.2.5.	<i>Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de la PGT</i>	58
7.2.6.	<i>Evaluación de pH y NH₃</i>	61
7.2.7.	<i>Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de pH ruminal y NH₃</i> 65	
7.3.	<i>Evaluación in vivo</i>	69
7.3.1.	<i>Comportamiento productivo</i>	69
7.3.2.	<i>Parámetros bioquímicos de la sangre</i>	71
7.3.3.	<i>Biometría hemática</i>	73
7.3.4.	<i>Composición de la leche cruda</i>	75
7.3.5.	<i>Ajuste del rendimiento productivo de la leche cruda</i>	78
7.3.6.	<i>Capacidad antioxidante de leche cruda</i>	80
7.3.7.	<i>Variables fisicoquímicas de la leche ultrapasteurizada</i>	83
7.3.8.	<i>Evaluación sensorial por atributos de la leche ultrapasteurizada</i>	84
8.	CONCLUSIONES	86
9.	PERSPECTIVA	87
10.	BIBLIOGRAFÍA	88
11.	ANEXOS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Glándula mamaria ampliada y sus componentes.	14
Figura 2. Proceso de elaboración de AON y NQ para experimentación in vitro.....	26
Figura 3. Análisis de nanopartículas mediante DLS.....	27
Figura 4. RTM elaborada para el experimento in vitro en una mezcladora industrial. ..	29
Figura 5. Instalaciones experimentales de cabras para experimento in vitro.....	29
Figura 6. Suministro de CO ₂ en líquido ruminal de cabra e incubadora Daisy II.	32
Figura 7. Análisis de presión de gas total in vitro.....	33
Figura 8. Procedimiento para medición de pH y concentración de NH ₃	34
Figura 9. Dieta experimental elaborada para experimento in vivo.....	35
Figura 10. Planeación de área experimental para alojamiento de las cabras.	37
Figura 11. Área experimental construida para las cabras lecheras en experimentación.	38
Figura 12. Pesaje de las cabras.....	39
Figura 13. Medición del CDA a cabras en tratamientos experimentales.....	39
Figura 14. Ordeño diario de las cabras.	39
Figura 15. Muestreo de sangre mediante venopunción yugular.	40
Figura 16. Medición de la composición química y pH.....	41
Figura 17. Determinación de compuestos fenólicos de la leche cruda mediante el método Folin-Ciocalteu.....	42
Figura 18. Evaluación sensorial de leche de cabra.	43
Figura 19. Espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier: AON y NQ liofilizadas.	47
Figura 20. Alimentación de cabras durante experimentación in vitro.	100
Figura 21. Cuidado de las cabras para experimentación in vitro.	100
Figura 22. Ordeño matutino de cabras durante experimentación in vivo.	101
Figura 23. Leche ultrapasteurizada de cabras alimentadas con los tratamientos experimentales.....	101
Figura 24. Instalaciones y cuidados de las cabras durante experimentación in vivo....	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción mundial de leche de cabra del 2016 al 2018.	4
Tabla 2. Rendimiento mundial de leche de cabra del 2016 al 2018.....	5
Tabla 3. Producción Mexicana de leche de cabra durante 2018 y 2019.	6
Tabla 4. Aceites esenciales investigados en dietas de cabras para la producción y calidad de leche.....	8
Tabla 5. Componentes de la leche (%) de diferentes especies.....	15
Tabla 6. Características y aplicaciones de algunos nanosistemas.....	20
Tabla 7. Herramientas y métodos de caracterización de nanopartículas.....	21
Tabla 8. Compuestos volátiles (%) del aceite esencial de orégano utilizado para la elaboración de nanopartículas y tratamientos experimentales de AO.	26
Tabla 9. Dieta experimental formulada para cabras.....	28
Tabla 10. Dieta formulada para cabras durante la fase in vivo.....	36
Tabla 11. Análisis proximal de las dietas experimentales.	36
Tabla 12. Caracterización de las nanopartículas de AEO.....	45
Tabla 13. Digestibilidad de la materia seca (%) in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	49
Tabla 14. Digestibilidad de la fibra detergente neutro (%) in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	51
Tabla 15. Coeficientes de regresión lineal de primer orden de la digestibilidad in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	53
Tabla 16. Análisis de regresión lineal cuadrática de digestibilidad in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	55
Tabla 17. Comportamientos de la producción de gas total (mL) en la fermentación in vitro de una dieta para lactancia en líquido ruminal de cabras por efecto del aceite de orégano.	57
Tabla 18. Coeficientes de regresión lineal de primer orden de la producción de gas total in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.....	59

Tabla 19. Coeficientes de regresión lineal de segundo orden de gas total de la fermentación in vitro de una dieta de lactancia para cabras tratada con aceite de orégano.	61
Tabla 20. Comportamiento del pH en el líquido ruminal de cabras durante la fermentación in vitro por efecto de aceite de orégano.	63
Tabla 21. Evaluación de NH ₃ (mg/dL) durante la fermentación in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	65
Tabla 22. Coeficientes de regresión lineal de primer orden en el pH y NH ₃ durante la fermentación ruminal in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	66
Tabla 23. Coeficientes de regresión lineal de segundo orden en el pH y NH ₃ de la fermentación in vitro de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.	68
Tabla 24. Productividad y eficiencia de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado durante 12 días.	69
Tabla 25. Perfil bioquímico de la sangre de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado durante 12 días de experimentación.	72
Tabla 26. Biometría hemática de la sangre de cabras suplementadas durante 12 días de estudio con aceite de orégano puro y nanoparticulado.	74
Tabla 27. Composición de la leche cruda de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en 12 días de experimentación.	75
Tabla 28. Rendimiento productivo de leche de cabras suplementadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado.	78
Tabla 29. Impacto del aceite de orégano puro y nanoparticulado sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante 12 días.	80
Tabla 30. Efecto del aceite de orégano puro y nanoparticulado sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante en diferentes periodos.	82
Tabla 31. Variables fisicoquímicas de leche ultrapasteurizada de cabras alimentadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado.	83

Tabla 32. Evaluación sensorial de leche de cabras ultrapasteurizada alimentadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado por 12 días.....85

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

<i>ad libitum</i>	A libre acceso
\$	Pesos
%	Por ciento
±	Más menos
× <i>g</i>	Fuerza centrífuga
° C	Grados centígrados
° K	Grados Kelvin
a*	Tendencia al color rojo
ABTS	Ensayo del ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ADE	Anchura de distribución de los eritrocitos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AE	Aceites esenciales
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGCM	Ácidos grasos de cadena media
AGV	Ácidos grasos volátiles
AO	Aceite esencial de orégano
AOAC	Official Methods of Analysis
AON	Aceite esencial de orégano nanoparticulado
AQP	Análisis químico proximal
ATP	Adenosín trifosfato
ATR	Reflectancia total atenuada
b*	Tendencia al color amarillo
BH	Biometría hemática
Ca	Calcio
CAg	Consumo de agua
CAx	Capacidad antioxidante
CDA	Consumo diario de alimento
Chroma	Índice de saturación

CLA	Ácido linolénico conjugado
cm	Centímetros
CMH	Concentración media de hemoglobina
CMHC	Concentración media de hemoglobina corpuscular
CMS	Consumo de materia seca
CO₂	Dióxido de carbono
CoA	Coenzima-A
CON	Control
d	Día
DFDN	Digestibilidad de la fibra detergente neutro
DFDN_{mo}	Digestibilidad de la fibra detergente neutro en base a materia orgánica
dl	Decilitros
DLS	Dispersión de luz dinámica
DMS	Digestibilidad de la materia seca
EAG	Equivalente de ácido gálico
EBL	Energía bruta en leche
EE	Eficiencia de encapsulación
Ee	Extracto etéreo
EEM	Error estándar de la media
ENL	Energía neta de lactancia
et al.	Y colaboradores
ε_{ij}	Error
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDN	Fibra detergente neutro
fl	Femtolitro
FRAP	Ensayo del poder antioxidante reductor férrico.
FT	Fenoles totales
FTIR	Espectroscopía infrarroja
g	Gramos
GLM	Modelo lineal general (general linear model)

h	Hora
H₀	Hipótesis nula
hg/An	Hectogramo por animal
Hue	Tonalidad
<i>in vitro</i>	Ambiente controlado fuera de un organismo vivo
<i>in vivo</i>	Dentro de un organismo vivo
IVDFDN_{mo}	Digestibilidad de la fibra detergente neutro <i>in vitro</i> en base a materia orgánica
IVDMS	Digestibilidad de la materia seca <i>in vitro</i>
kg	Kilogramo
kPa	Kilopascales
L	Litro
L*	Luminosidad
LCG 4%	Leche corregida por grasa al 4%
LDH	Lactato deshidrogenasa
M	Molar
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
mg	Miligramo
Mil ton	Miles de toneladas
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Micromolar
mmol/l	Milimoles por litro
mo	Materia orgánica
mol	Moles
MS	Materia Seca
n	Número de muestra experimental
N	Normalidad
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NAO	Nanopartículas de aceite de orégano
NH₃	Amoníaco

nm	Nanómetros
NPCL	Nanopartículas de policaprolactona de poliéster alifática
NQ	Nanopartículas de quitosano
NRC	National Research Council
NUS	Nitrógeno ureico en sangre
P	Fósforo
PC	Proteína cruda
PCL	Policaprolactona de poliéster alifática
PCo	Punto de congelación
PDI	Índice de polidispersidad
pg	picogramo
PGT	Producción de gas total
pH	Potencial de hidrógeno
PL	Producción de leche
ppm	Partes por millón
Prod	Producción
psi	Presión atmosférica
P-value	Nivel de probabilidad
PZ	Potencial zeta
QS	Química sanguínea
QT	Quitosano
QTS	Quitosano
Rend	Rendimiento
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
RTM	Ración totalmente mezclada
s	Segundos
SNG	Sólidos no grasos
ST	Sólidos totales
TGO	Transaminasa glutámica oxalacética
TGP	Transaminasa glutámica-pirúvica
Ti	Tratamiento

ton	Toneladas
TPP	Tripolifosfato de sodio
Trolox	6-hidroxil-2,5,7,8-tetra metil cromano-2- carboxílico
Tβ_{ij}	Interacción
U/L	Unidades por litro
VCM	Volumen corpuscular medio
β_I	Coefficiente de regresión estandarizado
β_{II}	Coefficiente de regresión estandarizado cuadrático
β_j	Tiempo
μL	Microlitros

RESUMEN

Un experimento fue realizado para evaluar el aceite esencial de orégano puro (AO) y nanoparticulado (AON) *in vitro* e *in vivo* en el proceso de fermentación de una dieta para lactancia en líquido ruminal de cabras, parámetros productivos, sanguíneos y calidad de la leche de cabras. Nanopartículas de quitosano (NQ) y AO fueron elaboradas y caracterizadas. El experimento consistió en dos fases: *in vitro* e *in vivo*. Los tratamientos para la fase *in vitro* fueron 0CON (0 ppm de AON), 100AON (100 ppm de AON), 300AON (300 ppm de AON), 300AO (300 ppm de AO puro) y 300NQ (300 ppm de NQ). Estos se adicionaron individualmente a una ración totalmente mezclada y posteriormente fue evaluada la digestibilidad ruminal *in vitro* a distintos tiempos (0, 12, 24, 36, 48 h), producción de gas total (PGT) (5 min, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 h), NH₃ y pH (0, 3, 6, 12 y 24 h) en líquido ruminal de caprinos. En la etapa *in vivo*, un total de 15 cabras primiparas Alpino Francés con 3 meses de lactancia y un peso promedio de 33.12 ± 3.27 kg fueron agrupadas en 3 tratamientos bajo un diseño completamente al azar; CON: dieta control (sin aceite de orégano); AON: dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro. Durante esta fase fue evaluada la productividad, parámetros sanguíneos (perfil bioquímico y biometría hemática), composición de la leche cruda, rendimiento productivo de la leche, pH, composición y propiedades antioxidantes de leche cruda, además del pH, color y evaluación sensorial de la leche ultrapasteurizada. En los resultados de caracterización de las nanopartículas, las nanopartículas de orégano (AON) presentaron diferencia en el tamaño promedio (332.95 nm) en comparación con NQ (3.39 nm); además, el valor negativo del PZ (-22.7 mV) mostró que las AON fueron cinéticamente estables, mientras que el valor de PDI (0.07) indicó que las AON fueron heterogéneas. En la fermentación *in vitro*, 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado (300AON) a las 12, 36 y 48 h tuvo la mejor digestibilidad de materia seca, pero a las 36 h, 300AO obtuvo digestibilidad más alta de la fibra detergente neutro (FDN); así mismo, este tratamiento presentó la mayor PGT a 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 h. Los análisis de regresión lineal indicaron que 300AON aumentó la PGT *in vitro*. En la etapa *in vivo*, la productividad de las cabras de AO resultó eficiente ya que presentó una buena eficiencia en relación con el consumo de alimento, mientras que, en relación con el consumo de agua, AON y AO fueron iguales. En el perfil bioquímico de la sangre

se vio afectado ($P < 0.05$) en los triacilglicéridos y Ca, los cuales fueron menores en AO. En la composición de la leche, AO y AON incrementaron el pH, contenido de agua, el punto de congelación y los sólidos no grasos (SNG), por lo tanto, aumentaron la proteína, lactosa, sales y la densidad. En el rendimiento productivo de los componentes de la leche, AO obtuvo los menores valores de LCG 4%, EBL y grasa (kg/d). En las variables fisicoquímicas de la leche ultra pasteurizada, pH y L^* incrementaron en AON, pero b^* y Chroma disminuyeron. Finalmente, el grupo CON mostró mayor capacidad antioxidante (CAx) y compuestos fenólicos en leche que los grupos AON y AO. En conclusión, el AON presentó diferencia de tamaño con respecto a las NQ, indicando que el AO fue encapsulado; además, PZ mostró que AON es cinéticamente estable y el PDI indicó que el AON fue heterogéneo. El tratamiento de 300AON mejoró la digestibilidad de la materia seca, de la fibra detergente neutro y las características de fermentación ruminal *in vitro*. En la productividad, las cabras del tratamiento AO resultaron eficientes, además disminuyó el Ca y triglicéridos en sangre. AO y AON mejoraron el pH de la leche, el punto de congelación y los SNG. En las variables fisicoquímicas de la leche, AON aumentó la luminosidad, sin embargo, AON y AO disminuyeron la capacidad antioxidante de la leche. La evaluación sensorial demostró que los tratamientos experimentales no afectaron negativamente los atributos sensoriales de la leche de cabra.

ABSTRACT

A series of *in vitro* and *in vivo* experiments were carried out to evaluate oregano essential oil (OO) and oregano oil nanoparticles (OON) on fermentation process of a lactation diet in ruminal fluid of goats, productive parameters, blood and milk quality. Chitosan (CH) and OO nanoparticles were elaborated and characterized. The experiment consisted of two phases: *in vitro* and *in vivo*. Treatments for *in vitro* phase were 0CON (0 ppm of OON), 100OON (100 ppm OON), 300OON (300 ppm OON), 300OO (300 ppm of pure OO) and 300CHN (300 ppm of CHN). These were added individually to a totally mixed ration and subsequently *in vitro* ruminal digestibility was evaluated at different times (0, 12, 24, 36, 48 h), total gas production (TGP) (5 min, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 h), NH₃ and pH (0, 3, 6, 12 and 24 h) in goat ruminal fluid. On *in vivo* stage, 15 French Alpine sibling goats with 3 months in milk and 33.12 ± 3.27 kg average weight, were grouped into 3 treatments under completely randomized design; CON: control diet (without oregano oil); OON: diet with 300 ppm of OON; AO: diet with 300 ppm OO. During this phase, productivity, blood parameters (biochemical profile and blood count), raw milk composition, milk yield, pH, raw milk antioxidant properties, UHT milk color, pH and sensory evaluation were evaluated. Results of characterization of nanoparticles, showed that OON presented differences on average size (332.95 nm) compared to CHN (3.39 nm); furthermore, PZ negative value (-22.7 mV) showed OON were kinetically stable, while PDI value (0.07) indicated OON were heterogeneous. On *in vitro* fermentation, 300 AON at 12, 36 and 48 h had the best dry matter digestibility, but at 36 h, 300OO obtained higher neutral detergent fiber digestibility (FDN); likewise, this treatment presented the highest TGP at 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 h. Linear regression analyzes indicated that 300 OON increased TGP *in vitro*. On *in vivo* trial, goats from OO were efficient since results presented a good efficiency in relation to feed consumption, while, in relation to water consumption, OON and OO were the same. On blood biochemical profile, triacylglycerides and Ca were affected ($P < 0.05$), which were lower in OO group. On milk composition, OO and OON increased pH, water content, freezing point and non-fat solids (NFS), therefore, increased protein, lactose, salts and density. On milk yield components, OO obtained lowest values of FCM 4%, milk energy and fat (kg/d). On physicochemical variables of ultra-pasteurized milk, pH and L* increased in AON, but b*

and Chroma decreased. Finally, CON group showed higher antioxidant capacity (CAx) and phenolic compounds in milk than OON and OO groups. AON presented difference size between NQ and OON, indicating that it was encapsulated; furthermore, ZP showed OON is kinetically stable and PDI indicated OON was heterogeneous. The 300OON treatment improved dry matter digestibility, neutral detergent fiber digestibility and *in vitro* ruminal fermentation characteristics. In terms of productivity, goats in OO treatment were efficient, and also had decreased Ca and triglycerides in blood. The OO and OON treatments improved milk pH, freezing point and NFS. On physicochemical variables of milk, OON increased luminosity, however, OON and OO decreased antioxidant capacity of milk. Sensory evaluation showed that the experimental treatments did not negatively affect the sensory attributes of goat milk.

1. INTRODUCCIÓN

La adición de plantas aromáticas en las dietas de cabras u ovejas proporciona compuestos fenólicos que enriquecen los productos de leche y carne (Boutoial et al., 2013). Estas dietas suplementadas con compuestos aromáticos pueden beneficiar la fermentación ruminal y el comportamiento productivo de las cabras. Para contribuir con alternativas naturales en las dietas de la producción animal, el uso de aceites esenciales (AE) puede ser una alternativa a los promotores del crecimiento, producir actividad antibacteriana selectiva e inhibir la degradación de proteínas en el rumen, lo que aumenta potencialmente el suministro intestinal de aminoácidos (Wallace, 2004; Westendarp, 2005; Chaves et al., 2008).

Los AE son compuestos volátiles y lipofílicos extraídos de las plantas por destilación (Westendarp, 2005). Estudios han evaluado los componentes de los AE como eugenol, timol y cinamaldehído con la finalidad de reemplazar los moduladores antibióticos del rumen (ionóforos) (Kim et al., 2019). El aceite esencial de orégano (AO) contiene más de 30 compuestos, donde el timol y carvacrol constituyen del 78% al 82% de su totalidad; éstos son conocidos por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Barky et al., 2015). La inclusión en la dieta del AO produce cambios en la fermentación ruminal en ovinos, aumentando la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) (Chaves et al., 2008). En vacas lecheras suplementadas con AO, se evaluó sensorialmente su leche, resultando más fresca que aquella proveniente del tratamiento control (Lejonklev et al., 2016). Estudios demuestran que los AE en las dietas de cabras son capaces de modificar la fermentación ruminal *in vitro* (Bechaar et al., 2007), funcionando como alternativa en la alimentación de las cabras lecheras (López-Puga et al., 2021).

De acuerdo con las aseveraciones de López-Puga et al. (2021) sobre los AE en caprinos, los AE de ajo, jengibre, romero y zacate limón pueden mejorar la producción de leche, y el AE de canela puede disminuir el contenido de colesterol en leche. Entonces, el AO posee un gran potencial para utilizarlo puro, emulsificado o nanoparticulado en las dietas de animales. La nano-encapsulación es un proceso en donde se construye una barrera entre el contenido interior y el material de la pared de una nanopartícula elaborada, evitando reacciones tanto químicas como físicas con el medio donde se utilizará (Barky et al., 2015) y estas nanopartículas pueden contener aceites esenciales.

2. ANTECEDENTES

2.1. Producción mundial de leche caprina

La industria láctea caprina a nivel mundial está creciendo. Los factores decisivos en el aumento del consumo de la leche de cabra y productos derivados son los beneficios que ofrece sobre la salud humana (García et al., 2014). Entre los beneficios destaca el ser menos alérgica que la leche de vaca (Park et al., 2007) y es más digestible para el ser humano (Jandal, 1996). En 2018 se produjeron 18,712.09 ton de leche de cabra en el mundo, donde México ocupó el puesto 24 (FAO, 2021). Diversos sistemas de producción e ingredientes en las dietas pueden ser empleados para mejorar la eficiencia y rendimiento productivo.

La inclusión de subproductos agroindustriales en las dietas de rumiantes puede ser de interés para reducir los costos de alimentación y disminuir el impacto ambiental asociado con la acumulación de subproductos (Vasta et al., 2008; Arco-Pérez et al., 2017). Recientemente, los subproductos de la industria han sido investigados sobre su impacto en la producción animal, así como en productos y subproductos, principalmente de vacas lecheras; aunque en años recientes se ha extendido la investigación sobre su utilización en caprinos y ovinos. Algunos subproductos de la industria que se han investigado en caprinos son los aceites vegetales, harinas, subproductos de frutas o verduras y aceites esenciales de plantas aromáticas.

La mayoría de la población caprina se localiza en países en desarrollo, donde predominan los sistemas doble propósito o vaca-cría. Por otro lado, los países desarrollados han optado por una orientación especialmente lechera (Bidot-Fernández et al., 2017). La producción mundial de leche de cabra de los años 2016, 2017 y 2018 se muestra en la Tabla 1 con un total de 18.15, 18.83 y 18.71 millones de ton de leche, respectivamente. Los primeros tres países productores son India, Sudán y Bangladesh con un total de 6,098.73, 1,151.00 y 1,122.65 millones de ton de leche, respectivamente. México ocupó el lugar 26 durante el año 2016 y 2017 con una producción de 160.0 y 162.0 mil ton de leche de cabra, y en el año 2018 ocupó el lugar 24 con una producción de 163.0 mil ton.

La leche caprina contiene proteínas similares a las de leche de vacas Holstein, sin embargo, posee mayor contenido de grasa, permitiendo mayor rendimiento en queso (FAO, 2000). De acuerdo con la Tabla 2, Luxemburgo, Francia y Alemania representaron

los primeros tres países productores en el año 2016 y 2017, mientras que en el 2018 correspondió a Bélgica (12.09 hg/An), Luxemburgo (11.00 hg/An) y Francia (7.35 hg/An). Numerosas variedades de quesos blandos y semiduros se elaboran particularmente con leche de cabra; Grecia y Francia tienen la mayor producción de queso de leche de cabra. Los quesos producidos en países europeos son considerados de excelente calidad (Pal et al., 2011; Bhattarai, 2014), lo cual puede deberse a la calidad de la leche con la que son elaborados. México ocupó el lugar 33 durante el año 2016 y 2018 con un rendimiento 2.11 y 2.17 hg/An, mientras que en el año 2017 obtuvo el lugar 35 con 2.14 hg/An.

2.2. Producción Nacional de leche caprina

La producción de leche de cabra en México se localiza principalmente en zonas áridas y semiáridas del país (la laguna, centro y bajío), donde también se produce cabrito como subproducto de esta industria. Del mismo modo, la cabra aporta una fuente de ingresos en estas regiones y cada vez incrementa la producción de leche caprina y su transformación (Escareño et al., 2013). Como se muestra en la Tabla 3, los primeros tres estados productores son Coahuila, Guanajuato y Durango con un total de 163,650.0 miles de litros de leche en el 2019, donde el precio promedio por litro se estimó en \$5.51 y el total del valor de la producción en miles de pesos de \$902,530.0. En el 2018, los primeros tres estados productores fueron Coahuila, Guanajuato y Durango, con un total de 161, 901.0 miles de litros de leche, promediando \$6.10 por litro, y \$987,347.0 el valor de la producción.

Tabla 1. Producción mundial de leche de cabra del 2016 al 2018.

Lugar	2016	Prod. ¹	Lugar	2017	Prod.	Lugar	2018	Prod.
	País	(miles ton)		País	(miles ton)		País	(miles ton)
1	India	5,752.39	1	India	6,165.50	1	India	6,098.73
2	Sudán	1,136.00	2	Sudán	1,143.00	2	Sudán	1,151.00
3	Bangladesh	1,066.87	3	Bangladesh	1,114.32	3	Bangladesh	1,122.65
4	Pakistán	867.00	4	Pakistán	891.00	4	Pakistán	915.00
5	Francia	628.44	5	Francia	648.90	5	Francia	652.33
26	México	160.22	26	México	162.32	24	México	163.65
	Otros	8,542.78		Otros	8,710.72		Otros	8,608.74
	Total	18,153.69		Total	18,835.76		Total	18,712.09

¹Prod = Producción; FAO, 2020.

Tabla 2. Rendimiento mundial de leche de cabra del 2016 al 2018.

Lugar	2016 País ²	Rend. ¹ (hg/An)	Lugar	2017 País	Rend. (hg/An) ²	Lugar	2018 País	Rend. (hg/An)
1	Luxemburgo	10.99	1	Luxemburgo	11.00	1	Bélgica	12.09
2	Francia	7.30	2	Francia	7.45	2	Luxemburgo	11.00
3	Alemania	7.19	3	Alemania	7.19	3	Francia	7.35
4	Países Bajos	7.18	4	Países Bajos	7.17	4	Alemania	7.18
5	Austria	6.57	5	Austria	6.59	5	Países Bajos	7.15
33	México	2.11	35	México	2.14	33	México	2.17
	Otros	165.50		Otros	168.30		Otros	166.12
	Total	206.84		Total	209.84		Total	213.06

¹Rend = Rendimiento

²Hg/An: Hectogramo por animal (miles); Fuente: FAO, 2020.

Por otro lado, datos oficiales de la FAO (2021) registraron una producción de 12,005,692 ton de leche fresca de vaca producida en México en 2018. Sin embargo, debido a la alta demanda de leche en el país, fueron importadas 37,174.0 ton el mismo año, lo cual indica que es importante mejorar la producción en la industria lechera. La leche caprina puede servir como una fuerte alternativa a la leche bovina que complementa esta demanda, sin embargo, es importante atender algunas áreas de oportunidad como el mejoramiento genético del hato, los sistemas de producción y mejorar la formulación de las dietas.

Tabla 3. Producción Mexicana de leche de cabra durante 2018 y 2019.

2018					2019				
Lugar	Estado ¹	Prod. (miles L)	Precio (\$/L)	Valor (miles \$)	Lugar	Estado	Prod. (miles L)	Precio (\$/L)	Valor (miles \$)
1	Coah.	45,065.22	6.01	270,821.86	1	Coah.	44,956.73	5.26	236,280.14
2	Gto.	42,196.38	5.80	244,748.02	2	Gto.	43,766.86	5.20	227,454.91
3	Dgo.	25,180.58	6.09	153,264.78	3	Dgo.	25,687.50	5.31	136,400.33
4	Jal.	9,015.30	6.26	56,391.06	4	Jal.	8,767.49	5.87	51,501.91
5	Chih.	7,340.81	6.00	44,009.13	5	Chih.	7,220.68	5.62	40,574.60
	Otros	29,206.38	6.96	190,379.91		Otros	29,324.74	6.95	184,792.69
	Total	161,901.26	6.10	987,347.70		Total	163,650.43	5.51	902,530.93

¹Coah. = Coahuila; Gto. = Guanajuato; Dgo. = Durango; Jal. = Jalisco; Chih. = Chihuahua.

Fuente: SIAP, 2020.

2.3. El rumen: enfoque de análisis en la síntesis de leche

El microbioma ruminal está conformado por bacterias (1,010-1,011 células/mL), arqueobacterias (107-109 células/mL), protozoarios (104-106 células/mL), hongos (103-106 células/mL) y bacteriófagos (109-1010 /mL), poblaciones importantes en el desarrollo productivo del rumiante ya que promueven las condiciones óptimas (factores químicos y físicos) para llevar a cabo la fermentación y metabolismo ruminal (Portela-Díaz, 2018). La fermentación producida por las bacterias del rumen produce AGV (principalmente acético, propiónico y butírico), los cuales son absorbidos por las papilas ruminales y son importantes para el metabolismo en la producción de leche y carne (Klein, 2013). Existen otros productos de la fermentación como los gases, entre ellos el metano. Por otro lado, el

crecimiento y productividad del rumiante están en función de la alimentación y poblaciones bacterianas, por lo que la cantidad de las poblaciones bacterianas y la producción de gases pueden variar. En consecuencia, la fermentación ruminal puede ser controlada para alterar las poblaciones bacterianas con el fin de disminuir gases como el metano y producir AGV en mayor o menor proporción para mejorar la producción láctea (Calabrò, 2015).

2.4. Antibióticos en la producción de leche y alternativas naturales

Durante años los ionóforos (antibióticos coccidiostáticos) han sido usados como aditivos en la dieta de rumiantes debido a que mejoran la relación de ácido propiónico:ácido acético y disminuyen la degradación de proteína en amoníaco (Russell & Strobel, 1989). También previenen la acidosis y mejoran el metabolismo energético, la producción de leche y su composición (Duffield & Bagg, 2000). Sin embargo, el uso incontrolado de los antibióticos ha generado resistencia bacteriana de microorganismos patógenos que pueden poner en riesgo la salud humana (Wallace, 2004; Castanon, 2007; Martínez-Martínez et al., 2015). Esta situación causó la prohibición de dichos compuestos en la unión Europea en el 2000 (Anadón et al., 2018). En consecuencia, los compuestos naturales y plantas medicinales han sido evaluados como alternativa a los ionóforos, entre ellos los AE de plantas aromáticas, debido a que el microbioma ruminal es dinámico, por lo que las poblaciones de microorganismos se adaptan con facilidad al consumo de diferentes ingredientes de la dieta (Portela-Díaz, 2018). Los AE son metabolitos secundarios de plantas aromáticas con actividad antimicrobiana y antioxidante. Estos, se consideran seguros para el consumo humano, lo cual ha propiciado su evaluación en la microbiota ruminal (Kim et al., 2019). La adición de plantas aromáticas en las dietas de cabras u ovejas proporcionan compuestos fenólicos que enriquecen los productos derivados de la leche y la carne (Boutoial et al., 2013). Adicionalmente, estas dietas suplementadas con compuestos aromáticos pueden beneficiar el comportamiento productivo de las cabras debido a la actividad antibacteriana selectiva e inhibir la degradación de proteínas en el rumen, lo que aumenta potencialmente el suministro intestinal de aminoácidos (Wallace, 2004; Chaves et al., 2008). Ha sido descrito que la reformulación de las dietas para caprinos e incorporación de nuevos ingredientes de plantas aromáticas ofrecen resultados

prometedores (García et al., 2014). La Tabla 4 muestra información de artículos en cabras lecheras donde se estudiaron los AE.

Tabla 4. Aceites esenciales investigados en dietas de cabras para la producción y calidad de leche.

Autor	Planta		Forma utilizada	Dosis	Tiempo de estudio	Resultados sobresalientes ¹
	Nombre común	Nombre científico				
Paraskevakis (2015)	Orégano	<i>Origanum vulgare ssp. hirtum</i>	Hoja seca molida	30 g de hoja (equivalente a 1 mL de aceite/ animal/ día)	24 días	Mejoró el sistema antioxidante, redujo la producción de metano y estimuló la proteólisis
Paraskevakis (2017)	Orégano	<i>Origanum vulgare ssp. hirtum</i>	Hoja seca molida	20 g de orégano seco y molido (equivalente a 1 mL de aceite/ animal/ día)	69 días	Disminuyó las poblaciones de bacterias metanogénicas
Kholif et al. (2012)	Ajo; Canela; Jengibre	<i>Alilum sativum</i> ; <i>Cinnamomum cassia</i> ; <i>Zingiber officinale</i>	Aceite esencial	2 mL / animal / día	90 días	Aumentó la producción de leche (16.48%), proteína y sólidos no grasos e incrementó los CLA (ácido linoléico conjugado); Disminuyó el colesterol, aumentó la glucosa y proteína en suero sanguíneo y la producción láctea (23.74%); Aumentó la producción de leche (18.85%), el contenido de proteínas y sólidos no grasos
Boutoial et al. (2013)	Romero	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Hoja seca	115 g y 230 g hoja seca / animal / día	7 meses	Inclusión de 20% disminuyó el tiempo de coagulación de la leche y 10% aumentó los AGP (ácidos grasos poliinsaturados)
Kholif et al. (2017)	Romero; Zacate de limón	<i>Rosmarinus officinalis L.</i> ; <i>Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.</i>	Hoja seca	10 g / animal / día	12 semanas	Mejoró la digestibilidad nutricional y la producción láctea (15.11%); Mejoró la producción de leche (11.70%) y la digestibilidad de los nutrientes
Smeti et al. (2014)	Romero	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Hoja seca y aceite esencial	0.36g aceite esencial de romero/ animal / día y 36g de hojas de romero / animal / día	95 días	Aumentó la producción de leche (31.67% AE y 57.01% hoja seca), el contenido de grasa y mejoró el crecimiento de cabritos cuando las madres fueron alimentadas con hojas de romero
Yesilbag et al. (2016)	Enebro	<i>Juniperus communis</i>	Aceite esencial	0.4, 0.8 y 2 mL/kg de aceite esencial de enebro esparcido	60 días	Aumentó enzimas importantes para el sistema antioxidante
Kholif et al. (2018)	Moringa	<i>Moringa oleifera</i>	Extracto	10, 20 y 40 mL/cabra/día	7 días	Aumentó la producción (6%), el rendimiento en leche y ácidos grasos insaturados

¹Los porcentajes de aumento en la producción lechera fueron estimados tomando en cuenta la diferencia respecto al grupo control.

2.5. Aceites esenciales en la producción lechera caprina

2.5.1. Aceite esencial de orégano

El AO se ha estudiado en la producción animal. Se puede obtener del orégano griego (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) y orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer y *Poliomintha longiflora* Gray). El AO contiene más de 30 compuestos, donde el carvacrol y timol constituyen del 78% al 82% de su composición, mismos que poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Bakry et al., 2015).

Paraskevakis (2015) evaluó la inclusión de 30 g de orégano griego molido (*Origanum vulgare ssp. hirtum*), equivalente a 1 mL de AO por animal, en la dieta de cabras Alpinas en lactación. Estos autores observaron un aumento significativo del glutatión peroxidasa y reductasa en sangre y en leche, mejorando el sistema antioxidante, minimizando el daño oxidativo durante el periodo de lactancia. Además, la suplementación de orégano griego seco con un perfil rico en carvacrol y bajo en timol redujo la población total de metanógenos, afectando la producción de metano en las cabras y estimuló la proteólisis, aumentando así la producción de amoníaco. En ovinos ha sido reportado que la inclusión en la dieta de AO produce cambios en la fermentación ruminal, aumentando la producción de AGV (Chaves et al., 2008). Lo anterior sugiere que lo mismo ocurra en caprinos, aunque es necesaria más investigación en este tema. Por otro lado, Paraskevakis (2017) evaluó la adición a la dieta de 1 mL AO/animal/día para evaluar cambios en la fermentación ruminal de cabras Alpinas adultas no lactantes. Encontró que el AO aumentó la actividad de la proteasa y la concentración de amoníaco en el rumen, además, observó que *Peptostreptococcus anaerobius* y *Clostridium sticklandii* eran los microorganismos más sensibles al AO bajo las condiciones en su estudio. Así mismo, la población total de bacterias metanogénicas disminuyó, comprobando que la adición de AO a la dieta puede suprimir microorganismos específicos del rumen, entre ellos bacterias metanogénicas.

La hoja triturada de orégano griego (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) mejoró los valores de actividad antioxidante mediante la prueba FRAP en leche, por lo que Paraskevakis (2015) concluyó que, en el caso de hoja triturada, el consumo de orégano griego seco puede fortalecer el sistema antioxidante enzimático y no enzimático minimizando el daño oxidativo en la lactancia de las cabras. La actividad antioxidante se atribuyó a las propiedades de activación de enzimas antioxidantes y directamente a través de la

eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Por otro lado, en vacas lecheras suplementadas con AO, se demostró durante el análisis sensorial que los evaluadores percibieron la leche proveniente de vacas suplementadas con aceite de orégano como más fresca (Lejonklev et al., 2016). Este hallazgo podría ser información útil para utilizarlo en cabras lecheras y así favorecer en el sabor de la leche proveniente de los caprinos.

2.5.2. *Aceite esencial de ajo*

El aceite esencial de ajo (*Allium sativum*) se caracteriza por sus compuestos que contienen azufre como la aliína, sulfuros de dialilo y alicina, mismos que le confieren su efecto antibacteriano y reductor de metano (Amagase et al., 2001; Kholif et al., 2012). Kholif et al. (2012) adicionaron aceite de ajo (*Allium sativum*) en dosis de 2 mL/cabeza/día a la dieta de cabras Damasco lactantes durante 90 días; sus resultados mostraron que el aceite de ajo aumentó la producción de leche, el contenido de proteínas y sólidos no grasos. Sin embargo, el porcentaje de grasa y el nitrógeno no proteico de la leche disminuyeron. El aceite de ajo incrementó ácidos grasos insaturados en la leche especialmente C18: 1n9c y ácidos linolénicos conjugados (CLA) (Kholif et al., 2012).

2.5.3. *Aceite esencial de romero*

El romero se adiciona en la dieta de los animales como fuente de polifenoles, entre ellos el rosmanol, genikwanina, carnosol, rosmadial, cafeico, rosmarínico y ácido carnósico (Cuvelier et al., 1996; Boutoial et al., 2013). Los autores han reportado que el aceite esencial de romero beneficia la producción de leche y favorece la producción de quesos maduros (Boutoial et al., 2013; Smeti et al., 2014). Kholif et al. (2017) evaluaron romero en dosis de 10 g/animal/día sobre el consumo de alimento, la producción de leche, la composición y el perfil de ácidos grasos en cabras lactantes de Damasco; esos autores concluyeron que la inclusión de romero mejoró la digestibilidad de los nutrientes, producción de leche y mejoró la fermentación ruminal no afectando el pH.

Los efectos de la adición de hojas de romero o la inclusión de aceite esencial de romero sobre el rendimiento productivo de las cabras se investigaron por Smeti et al. (2014). Entre sus principales hallazgos se encuentra el incremento de la producción diaria de leche para los grupos de romero en comparación con la dieta control. El romero aumentó el contenido

de grasa y proteína en leche; también evaluaron el crecimiento de los cabritos alimentados con leche proveniente de las madres suplementadas con los tratamientos y se observó mayor crecimiento de los cabritos para el grupo de hojas de orégano respecto al grupo de aceite esencial de romero. Las dos formas de adicionar los compuestos a la dieta mostraron resultados favorables en comparación con la dieta control.

Boutoial et al. (2013) estudiaron la inclusión de un suplemento (50% hojas destiladas de *R. officinalis* spp. y 50% cebada) a razón de 10 y 20% (115 g y 230 g hoja seca de romero/animal/día) adicional a la dieta control en cabras Murciano-Granadina para ver sus efectos en la composición fisicoquímica, el conteo de células somáticas de leche pasteurizada y queso Mucia Al Vino. El experimento fue realizado desde el parto hasta los siete meses de lactación. La inclusión de 20% de romero en la dieta redujo el tiempo de coagulación de la leche (3.68% a comparación del control), reduciéndolo hasta la materia seca y el contenido de lactosa, mientras que la adición del 10% de esta planta disminuyó el porcentaje de ácidos grasos C14:0 y aumentó el contenido de C18:2 y AGP (ácidos grasos poliinsaturados); por otro lado, la suplementación con 20% de romero disminuyó el contenido de ácidos grasos C10:0 y C14:0, y aumentó el porcentaje de ácidos grasos C17:0, C18:2 y AGP. También observaron que el 20% de inclusión de hojas de romero, hubo diferencia en proteína, pH y actividad del agua de los quesos. Finalmente, en los parámetros sensoriales, la adición del 10% de romero afectó el olor del queso Mucia Al Vino. Gillian et al. (2008) atribuyen un mayor contenido de ácidos grasos saturados a enfermedades cardiovasculares y obesidad, mientras que los ácidos grasos insaturados tienen un efecto positivo en la salud humana (Boutoial et al., 2013).

2.5.4. Aceite esencial de zacate de limón

El limoncillo o zacate limón (*Cymbopogon citratus*) está compuesto por citral, que es esencial para la síntesis de vitamina A, y también ha llamado la atención por tener actividad ruminal selectiva, antioxidante y anti-hiperproductora de amoníaco (Wanapat et al., 2008; Kholif et al., 2017). Fue reportado que el limoncillo ejerce efecto en la utilización del alimento y la producción de leche. Por otro lado, su composición y el perfil de ácidos grasos se mostró similar a los encontrados en la adición de romero en la ración (Kholif et al., 2017).

2.5.5. Otros aceites esenciales

El AE de enebro se evaluó en 0.4 mL/kg, 0.8 mL/kg o 2 mL/kg sobre el crecimiento, parámetros de fermentación y población de protozoos en el rumen, enzimas antioxidantes de la sangre y el contenido fecal en cabritos Saanen en crecimiento por Yesilbag et al. (2016). En su estudio, determinaron que las enzimas más responsables de la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el sistema antioxidante (superóxido dismutasa, catalasa y actividades antioxidantes totales) aumentaron significativamente en los grupos experimentales con este aceite.

En un experimento realizado por Kholif et al. (2018) se evaluó la administración oral de extracto de hoja de *Moringa oleifera* a diferentes dosis y demostró que este extracto mejoró la producción de leche (6%), la composición y el perfil de ácidos grasos en cabras Nubias. Las dosis consistieron en 0, 10, 20 o 40 mL diarios del extracto. Se observaron mayores rendimientos de leche y contenido de energía bruta en leche, sólidos totales, sólidos no grasos, grasas, proteínas, lactosa y cenizas con el extracto de *M. oleifera*, y a medida que la dosis aumentó, los efectos mostraron un comportamiento lineal en las concentraciones de sólidos totales, sólidos no grasos, grasas y lactosa en la leche. En la leche, las proporciones de ácidos grasos insaturados y ácidos linolénicos conjugados incrementaron, mientras que los ácidos grasos saturados disminuyeron, por lo que este extracto redujo un 4.6% los ácidos grasos individuales y totales en 4.6-5.6%, y aumentó los ácidos grasos insaturados individuales y totales entre 11.5 y 13.9%.

2.6. Biosíntesis de la leche

La leche que se origina en el tejido secretor se acumula en conductos que aumentan de tamaño a medida que se acerca a la región del pezón (Figura 1a); el área de almacenamiento es el alvéolo (Figura 1b): un compartimento esférico que consta de lumen rodeado por una sola capa de células epiteliales secretoras, que está conectado al sistema de conductos (Figura 1c) (Damodaran et al., 2008). Estas células están orientadas al extremo apical con su membrana única, y el extremo basal está separado de la sangre y la linfa por una membrana basal; en consecuencia, se produce un flujo unidireccional de metabolitos a través de la célula, con los componentes básicos de la leche entrando desde

la sangre a través de la membrana basolateral. Los componentes básicos de la leche se sintetizan en el retículo endoplásmico, que recibe energía del metabolismo oxidativo en las mitocondrias. Luego, los componentes se empaquetan en vesículas secretoras por el aparato de Golgi o como glóbulos de grasa en el citoplasma (Figura 1d). Finalmente, las vesículas y los glóbulos de grasa atraviesan la membrana plasmática apical y se almacenan en la luz (Figura 1d). A su vez, la capa de células epiteliales secretoras que rodea la luz del alvéolo está rodeada por una capa de células mioepiteliales y capilares sanguíneos. Finalmente, cuando la oxitocina, una hormona hipofisaria que circula en la sangre, se une a las células mioepiteliales, el alvéolo se contrae y expulsa la leche almacenada en el lumen hacia el sistema de conductos (Damodaran et al., 2008; Fox et al., 2015).

En el retículo endoplásmico, donde ocurre la síntesis activa, cuenta con tubos conocidos como cisternas, que desembocan en el aparato de Golgi, donde se transforman los componentes en vesículas de Golgi y cuyos paquetes transportan los componentes de la leche en fase acuosa a la membrana plasmática apical (Damodaran et al., 2008). Los ribosomas sintetizan las proteínas y existen libres en el citoplasma, unidos al retículo endoplásmico. Cerca de la membrana basolateral, el retículo endoplásmico está cubierto de ribosomas, lo que hace que esta membrana parezca rugosa. Sin embargo, al moverse en la dirección del extremo apical, los aminoácidos se agotan y la síntesis se hace más lenta, lo que permite que los ribosomas se disocien. Por lo tanto, esta membrana se vuelve suave a medida que se transforma en la membrana de Golgi. La síntesis se completa en la luz del aparato de Golgi; por ejemplo, las proteínas se glicosilan, fosforilan y se sintetiza lactosa. Es aquí y en las vesículas de Golgi donde aparecen por primera vez las micelas de caseína (Figura 1d). La secreción de los productos de síntesis se completa cuando las vesículas de Golgi se fusionan con la membrana plasmática apical, se fusionan para formar parte de esa membrana y vacían el contenido del paquete en la luz alveolar para su almacenamiento (Figura 1c). Las caseínas, la β -lactoglobulina y la α lactoalbúmina se sintetizan en las células epiteliales mamarias, mientras que la albúmina sérica y las inmunoglobulinas no se sintetizan en estas células, pero aparecen receptores específicos para estas proteínas en la membrana basolateral, entonces, estas proteínas se transportan desde la sangre hasta la luz alveolar mediante la internalización del complejo proteína-

receptor y el paso a través de la célula en vesículas de membrana (Damodaran et al., 2008; Fox et al., 2015).

En resumen, los constituyentes (lactosa, lípidos y proteínas) de la leche son sintetizados en la glándula mamaria a partir de los precursores absorbidos de la sangre. Una modificación considerable de los constituyentes es realizada en la glándula mamaria, los cuales se absorben de la sangre a través de la membrana basal, se modifican (si es necesario) y se sintetizan en la molécula terminada (lactosa, triglicéridos, proteínas) dentro del mamocito (principalmente en el retículo endoplásmico) y se excretan del mamocito a través de la membrana apical hacia la luz del alvéolo (Fox et al., 2015) (Figura 1).

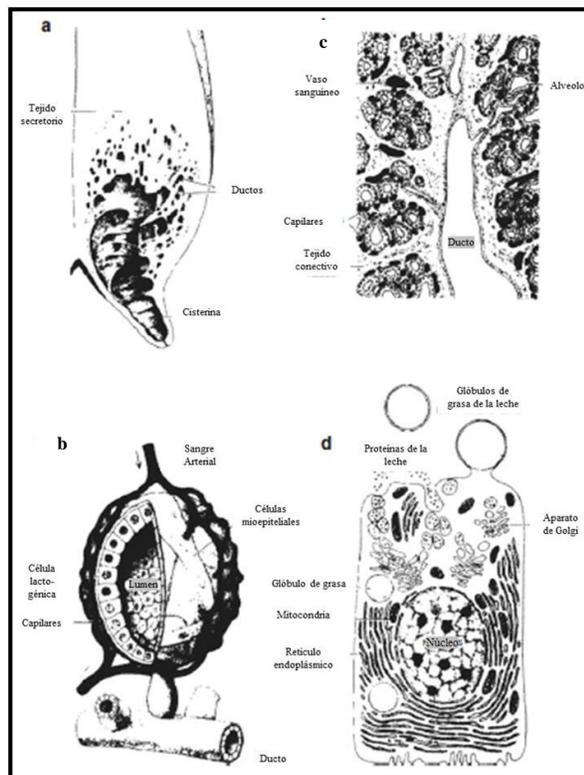


Figura 1. Glándula mamaria ampliada y sus componentes. (Fox et al., 2015)

2.7. Composición de la leche de cabra

La leche es un fluido secretado por las hembras de todas las especies de mamíferos (Fox et al., 2015). La leche se encuentra bien caracterizada para las vacas, cabras, ovejas, búfalas y humanas. Este fluido se compone de agua, ácidos grasos, proteínas, carbohidratos (de los cuales la lactosa es el principal constituyente), minerales y vitaminas. Adicionalmente, contiene en menor cantidad iones metálicos y componentes

que contribuyen al sabor (Fox et al., 2015). En la Tabla 5 se muestra un cuadro comparativo de los principales componentes de la leche de diferentes especies.

Tabla 5. Componentes de la leche (%) de diferentes especies.

Especie	Sólidos totales	Grasa	Proteína	Lactosa	Cenizas	¹ Energía neta (kJ/kg)
Vaca	12.7	3.7	3.4	4.8	0.7	2,763
Cabra	12.3	4.5	2.9	4.1	0.8	2,719
Oveja	19.3	7.4	4.5	4.8	1.0	4,309
Cerda	18.8	6.8	4.8	5.5	0.9	3,917
Yegua	11.2	1.9	2.5	6.2	0.5	1,883
Burra	11.7	1.4	2.0	7.4	0.5	1,966
Coneja	32.8	18.3	11.9	2.1	1.8	9,581

¹Kj/kg: Kilojoules por kilogramo
Fox et al. (2015)

La composición de la leche caprina es diferente comparada con la leche de otras especies (oveja, bisonte, reno) pero similar a la leche de vaca con algunas diferencias claras. El tamaño de los glóbulos de grasa es menor en la leche de cabra en comparación con la leche de vaca (Jenness, 1980; Zervas & Tsiplakou, 2013). Los glóbulos de grasa de la leche de cabra se distribuyen mejor en la emulsión de lípidos de leche que los glóbulos de grasa de la leche de bovino, ya que son más pequeños. Estos se dispersan mejor, homogeneizan de forma natural y proporcionan una mejor digestión humana por las lipasas (Zervas y Tsiplakou, 2013).

En relación con los ácidos grasos (AG), la leche de cabra contiene una mayor proporción de C6:0 (caproico); C8:0 (caprílico); ácidos C10:0 (cáprico) y C12:0 (láurico) (Fox et al., 2015). Los cuales son ácidos grasos de cadena corta (AGCC), mientras que el ácido láurico (C12:0) pertenece a los ácidos grasos de cadena media (AGCM) como el ácido láurico (C12:0) (Amigo & Fontecha, 2011). Los AGCC representan hasta el 15-18 % de los AG en la leche de cabra. Otro aspecto destacable es su contenido en ácidos grasos libres de cadena ramificada con menos de 11 átomos de carbono, y que dan el característico sabor caprino a los productos lácteos de cabra (Amigo & Fontecha, 2011). Por otro lado, el contenido de CLA en la leche de cabra suele ser mayor que en la leche de vaca (Zervas & Tsiplakou, 2013).

La leche de cabra tiene seis proteínas principales: β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, κ -caseína, β -caseína, α_{s1} -caseína y α_{s2} -caseína, que son casi iguales a las de la leche de vaca, pero difieren en los polimorfismos genéticos y sus frecuencias en las poblaciones caprinas (Park et al., 2007; Zervas & Tsiplakou, 2013). La caseína es la proteína básica de la leche y constituye aproximadamente el 80% del total de proteínas de la leche; las micelas de caseína en la leche de vaca son pequeñas (60 a 80 nm) en comparación con las de la leche de cabra, que oscilan entre 100 y 200 nm (Zervas & Tsiplakou, 2013).

Los carbohidratos de la leche de cabra incluyen oligosacáridos, glicopéptidos, glicoproteínas y azúcares de nucleótidos (Amigo & Fontecha, 2011). La lactosa es el principal carbohidrato en la leche de cabra, aproximadamente 0.2-0.5% menos que en la leche de vaca (Amigo & Fontecha, 2011). La leche de cabra es significativamente más rica en oligosacáridos derivados de la lactosa que la leche de vaca (Zervas & Tsiplakou, 2013). Hay cuatro veces más ácido siálico en la leche de cabra (230 mg de ácido siálico por kg de leche fresca) que en la leche de vaca (60 mg de ácido siálico por kg de leche fresca) (Amigo & Fontecha, 2011). La lactosa favorece la absorción de calcio, fósforo, magnesio y uso de la vitamina D en la digestión humana (Zervas & Tsiplakou, 2013). La leche de cabra tiene un nivel más alto de calcio, fósforo, potasio, magnesio y cloro, y un nivel más bajo de sodio que la leche de vaca, también, la leche de cabra generalmente contiene más magnesio que la leche de vaca y niveles más bajos o comparables de yodo y cobre (Amigo & Fontecha, 2011). El contenido mineral de la leche de cabra varía de 0,7 a 0,85% en comparación con la leche humana y de vaca (Zervas & Tsiplakou, 2013).

2.8. Características fisicoquímicas y antioxidantes de la leche

La calidad de la leche se puede evaluar según parámetros sanitarios, nutricionales, tecnológicos y sensoriales (García et al., 2014).

El pH (potencial de hidrógeno) constituye un indicador de la acidez real de la leche y es medido utilizando un potenciómetro que registra los iones de hidrógeno (H^+) procedentes de los ácidos que contiene la leche; por ejemplo, el ácido láctico en la leche fermentada (Villegas de Gante & Santos-Moreno, 2010).

La densidad de la leche es mayor que la del agua a la misma temperatura, esto se debe a que contiene diversos sólidos disueltos y suspendidos (Villegas de Gante y Santos-

Moreno, 2010). En la tecnología lechera, se considera la densidad relativa, y tres factores importantes afectan la densidad relativa: 1) el porcentaje de sólidos totales, si éstos suben, aumenta; 2) el porcentaje de grasa, si aumenta, la densidad disminuye; 3) la temperatura, si la leche se enfría, su densidad se incrementa y viceversa (Villegas de Gante & Santos-Moreno, 2010).

Los criterios que se relacionan con la calidad de la leche dependen de numerosos factores y de sus interacciones, que están vinculados a los principales componentes fisicoquímicos (grasa, proteína, lactosa), así como a los microcompuestos que se encuentran comúnmente en ella, como minerales, vitaminas, colesterol y terpenos (García et al., 2014).

El color de la leche es una característica fisicoquímica, al igual que el pH. De acuerdo con Fox et al. (2015), el color blanco de la leche resulta de la dispersión de la luz visible por las micelas de caseína y los glóbulos de grasa. La homogeneización de la leche da como resultado un producto más blanco debido a la mayor dispersión de la luz por parte de glóbulos de grasa homogeneizados más pequeños, también puede influir en la luminosidad (L^*). La fase sérica de la leche es verdosa (a^* influye en esta tonalidad) debido a la presencia de riboflavina, que es la responsable del color característico del suero.

Los antioxidantes son sustancias químicas que pueden neutralizar y eliminar los radicales libres, que se producen continuamente en el organismo. Las ROS se producen constantemente, pero si se producen en exceso y no son neutralizadas, pueden provocar estrés oxidativo, ocasionando múltiples enfermedades (Kris-Etherton et al., 2002; Khan et al., 2019). La demanda de alimentos que contienen antioxidantes naturales está aumentando en todo el mundo; una gran cantidad de alimentos y productos lácteos se complementan con antioxidantes naturales (Khan et al., 2019). La capacidad antioxidante de la leche y los productos lácteos se debe a los aminoácidos que contienen azufre, vitaminas A, E, carotenoides, sistemas enzimáticos, superóxido dismutasa, catalasa y glutatiónperoxidasa (Khan et al., 2019). La leche también contiene cantidades apreciables de equol, un metabolito polifenólico de la daidzeína (Mustonen et al., 2009). Los radicales superóxido, hidroxilo y peróxido pueden ser inhibidos por los sistemas antioxidantes de la leche (Tong et al., 2000).

2.9. Propiedades sensoriales de la leche

La evaluación sensorial se ha definido como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar las respuestas a los productos tal como se perciben a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído (Stone & Sidel, 2004; Chapman, 2010). Existen diferentes métodos de evaluación sensorial: análisis por discriminación, análisis descriptivo y análisis de aceptación/preferencia (Chapman, 2010). Generalmente, estos análisis se realizan al final del proceso de desarrollo del producto. La escala más utilizada para determinar el grado de preferencia es la escala hedónica de 9 puntos y es descrita con palabras que van desde “me gusta mucho” hasta “me disgusta mucho” (Chapman, 2010). Algunos atributos que pueden ser evaluados en la leche son aroma a cocido, aroma caramelizado, aroma a grano/malta, sabor a cocido, sabor dulce, sabor a caramelo, viscosidad, granulosidad, sabor amargo, resequedad, brillo, color blanco y aceptación global (Chapman, 2010).

2.10. Nanotecnología y nanopartículas

La nanotecnología es importante en la agricultura moderna, y se prevé que la nanotecnología agroalimentaria tome fuerza económica debido a su aplicación en la sanidad animal y cría de animales (Sekhon, 2014). La definición de nanotecnología se expresa como el control y la comprensión de la estructura de la materia en el rango de nanoescala. Al proceso de conversión de moléculas a nanoescala se denomina nanotecnología (Abdelnour et al., 2021). La conversión se lleva a cabo mediante varios métodos químicos, físicos, biológicos o mixtos, cuya idea principal es inducir alteraciones en la naturaleza química y física fundamental del material original (Abdelnour et al., 2021). Las formas procesadas de nanomateriales son aquellas con formas o funciones especiales; por ejemplo, puntos cuánticos, dendrímeros, fullerenos, nanotubos de carbono y nanopartículas (Tabla 6) (Bathia, 2016). El uso de nanotecnología facilita el desarrollo de nano-vehículos para los nutrientes, lo que permite una entrega eficiente para mejorar la digestión y la absorción mejorando el metabolismo y la fisiología (Abdelnour et al., 2021). Entre las aplicaciones de la nanotecnología en la cría de animales es mejorar la eficiencia de la alimentación y nutrición de los animales, minimizar las pérdidas por enfermedades animales, así como convertir los subproductos y desechos animales (Chen et al., 2011; Sekhon, 2014). Los aditivos de tamaño nanométrico pueden unir y eliminar

toxinas o patógenos (Sekhon, 2014). Las nanopartículas de plata han sido utilizadas como aditivo en dietas para lechones destetados sobre la microbiota digestiva, la morfología intestinal, y los rendimientos productivos (Fondevila et al., 2009). Las nanopartículas son un agente antimicrobiano para su uso en pollos de engorda; por ejemplo, las nanopartículas magnéticas resultaron exitosas para la recuperación de aflatoxina β_1 y zearalenona del alimento (Kim et al., 2012). En la actualidad, las nanopartículas empleadas en rumiantes han sido las poliméricas o metálicas de selenio y zinc como suplementación dietética y como tratamiento clínico para mastitis en bovinos (Abdelnour et al., 2021).

Las nanopartículas pueden envolver una sustancia sólida, líquida o gaseosa dentro de otra sustancia en una cápsula sellada pequeña. El material del núcleo se difunde gradualmente a través de las paredes de la cápsula, ofreciendo propiedades de liberación controlada bajo condiciones deseadas (Fang & Bhandari, 2010). Por lo tanto, la tecnología de nanoparticulado se puede utilizar para suministrar componentes bioactivos, mejorando sus propiedades de manipulación (Barky et al., 2015). Los aceites esenciales poseen un gran potencial para esto, pero son químicamente inestables y susceptibles al deterioro oxidativo y pérdida de compuestos volátiles en determinadas condiciones (oxígeno, luz, humedad, calor). Esto provoca degradación oxidativa, formación de sabores desagradables y generación de radicales libres afectando las propiedades sensoriales y aceptación del consumidor. Entonces, la microencapsulación podría ser una opción viable para mantener características biológicas y funcionales de los productos (Barky et al., 2015).

Tabla 6. Características y aplicaciones de algunos nanosistemas.

Tipos de nanosistemas	Tamaño (nm)	Características	Aplicaciones
Nanotubos de carbono	0.5 - 3 diámetro y 20 - 1000 largo	Forma cristalina alotrópica de láminas de carbono, de una capa (nanotubo de pared simple) o de múltiples capas (nanotubo de pared múltiple). Estos cristales poseen mucha fuerza y propiedades eléctricas (conductoras, semiconductoras o aislantes)	Mejoran la solubilidad, la penetración en el citoplasma celular y el núcleo, como portador para la entrega de genes, entrega de péptidos
Dendrímeros	< 10	Sistema polimérico ramificado, mono disperso producido por polimerización controlada: núcleo, rama y superficie	Entrega controlada y circulatoria prolongada de bioactivos, entrega dirigida de bioactivos a los macrófagos
Liposomas	50 – 100	Vesículas de fosfolípidos, biocompatibles, versátiles, buena eficiencia de captura.	Entrega pasiva y activa de genes, proteínas, péptidos y otros
Nanopartículas metálicas	< 100	Coloides de oro y plata que dan como resultado una superficie disponible para encapsulado, muy estables	Administración de fármacos y genes, ensayos de diagnóstico de alta sensibilidad, ablación térmica y mejora de la radioterapia
Puntos cuánticos nanocristalinos	2 – 9.5	Fluorescencia brillante, emisión estrecha, amplia excitación UV y alta fotoestabilidad	Hibridación de ADN, inmunoensayo; endocitosis mediada por receptores.
Micelas poliméricas	10 – 100	Micelas de copolímeros anfifílicos en bloque, alto atrapamiento de fármacos, carga útil, bioestabilidad	Liberación activa y pasiva del fármaco, valor diagnóstico
Nanopartículas poliméricas	10 – 1000	Biodegradable, biocompatible, ofrece protección completa contra medicamentos	Portador para la entrega controlada y sostenida de medicamentos. Las nanopartículas ocultas y modificadas en la superficie se pueden usar para la administración activa y pasiva de bioactivos

(Nahar et al., 2006; Bathia, 2016).

2.11. Caracterización y tamaño de nanopartículas

Bathia (2016) describe que la caracterización de las nanopartículas se basa en el tamaño, morfología y carga superficial, utilizando diferentes técnicas. También explica que la distribución del tamaño, diámetro promedio de las partículas y carga afectan la estabilidad física y distribución *in vivo* de las nanopartículas. Por otro lado, este autor indica que la morfología de la superficie, tamaño y forma general se determinan mediante técnicas de microscopía electrónica de fuerza atómica (MFA), barrido (MEB) y transmisión (MET)). Así mismo, redacta que características como la estabilidad física y dispersión polimérica, así como su rendimiento *in vivo*, se ven afectadas por la carga superficial de las nanopartículas. En la Tabla 7 se mencionan diferentes herramientas y métodos de caracterización para las nanopartículas.

Tabla 7. Herramientas y métodos de caracterización de nanopartículas.

Parámetro	Método de caracterización
Interacción fármaco o activo-acarreador	Calorimetría diferencial de barrido
Determinación de la carga	Anemometría láser Doppler Potenciómetro zeta (potencial zeta)
Análisis químico de la superficie.	Espectrometría de masas de iones secundarios Sorptómetro (distribución de poros)
Estabilidad del activo o fármaco	Bioensayo de fármaco extraído de nanopartículas Análisis químico del activo o fármaco.
Estabilidad de dispersión de nanopartículas	Temperatura crítica de floculación (aglomeración)
Tamaño y distribución de partículas	Microscopía de fuerza atómica Difractometría láser (granulometría) Espectroscopía de correlación de fotónica Microscopía electrónica de barrido Microscopía electrónica de transmisión
Hidrofobicidad superficial	Tinción rosa de bengala Ángulo de contacto con el agua Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

(Vyas, 2002; Bathia, 2016).

El tamaño de nanopartícula se puede medir mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y se utiliza para determinar el tamaño de nanopartículas brownianas en suspensiones coloidales en los rangos nano y submicron (Bathia, 2016). La solución de partículas esféricas en movimiento browniano provoca un desplazamiento doppler cuando se exponen a la luz monocromática brillante (láser); la exposición a la luz monocromática golpea la partícula en movimiento, lo que provoca un cambio en la longitud de onda de la luz entrante (Bathia, 2016). La extensión de este cambio en la longitud de onda determina el tamaño de la partícula.

2.11.1. Potencial zeta (carga de la superficie)

Bathia (2016) describe que el potencial zeta (PZ) es una medida indirecta de la carga superficial y se puede evaluar la diferencia de potencial entre el plano exterior de Helmholtz y la superficie de corte. Por lo tanto, el PZ de la dispersión de base coloidal evalúa la estabilidad de almacenamiento. Valores de PZ elevados, ya sean positivos o negativos, garantizan la estabilidad y evitan la agregación de las partículas (Bathia, 2016). Los valores de PZ se pueden utilizar para evaluar la hidrofobicidad de la superficie y naturaleza del material encapsulado dentro de las nanopartículas o recubierto sobre la superficie.

2.11.2. Índice de polidispersidad

La polidispersidad de una cadena polimérica es medida por su índice polimérico (PDI). El PDI se define como la relación entre la masa molar promedio (M_w) y su masa molar promedio en número (M_n) (Wen-Shyan et al., 2001). El índice de polidispersidad se usa como una medida del ancho de la distribución del peso molecular, que generalmente se mide por la desviación estándar δ de una distribución (Rogošić, 1996).

3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los AE poseen un gran potencial, aunque, son químicamente inestables en determinadas condiciones (oxígeno, luz, humedad, calor), por lo que la nanoparticulación podría ser una opción viable para mantener sus características biológicas y funcionales (Barky et al., 2015). Aunque el AO puede retardar la oxidación de los aceites vegetales comunes, éste puede ser encapsulado como los aceites vegetales comestibles comunes y ser adicionado en las dietas de los animales para abasto, buscando mejorar la productividad, fermentación ruminal, disminuir la producción de metano y mejorar los productos primarios como la leche y carne. El uso de AO en cabras lecheras ha sido estudiado escasamente, por lo que es imprescindible generar información para ver su efecto sobre la productividad, fermentación ruminal y los cambios que genera en la calidad de la leche. Esto es importante ya que en la biosíntesis de la leche en la célula mioepitelial, sus componentes provienen de los procesos enzimáticos y fermentativos en el rumen, entonces el tamaño de partícula de los componentes de la leche varía (agua, grasa, proteínas, lactosa y minerales) y definen las características fisicoquímicas de la leche (composición, emulsión grasa/agua, solución/suspensión coloidal y solución verdadera); esto en función del tamaño de partícula de estas moléculas (glóbulos de grasa 10^{-2} - 10^{-3} mm, caseína 10^{-1} - 10^{-5} mm, proteínas del suero 10^{-5} - 10^{-6} mm, lactosa y sales minerales 10^{-6} - 10^{-7} mm). Entonces es posible que el AO nanoparticulado logre llegar a la biosíntesis en la célula a este tamaño de partícula y por lo tanto en la composición de la leche.

4. HIPÓTESIS

La inclusión del aceite de orégano puro y nanoparticulado en las dietas durante la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia en líquido ruminal de cabras mejora la digestibilidad, producción de gas, pH y amoníaco *in vitro*, mientras que en las dietas de cabras lecheras *in vivo* beneficia el comportamiento productivo, parámetros sanguíneos, capacidad antioxidante y calidad de la leche.

5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del aceite de orégano puro y nanoparticulado en dietas durante la fermentación *in vitro* de líquido ruminal de cabras y su influencia en las dietas de cabras lecheras *in vivo* sobre el comportamiento productivo, parámetros sanguíneos, capacidad antioxidante y calidad de la leche.

5.2. Objetivos específicos

1. Determinar la digestibilidad de la materia seca y fibra detergente neutro durante la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano puro y nanoparticulado en líquido ruminal de cabras.
2. Evaluar la producción de gas, pH y amoníaco durante la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano puro y nanoparticulado en líquido ruminal de cabras.
3. Evaluar *in vivo* los parámetros productivos, eficiencia productiva y parámetros sanguíneos de cabras lecheras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en las dietas.
4. Evaluar la calidad de la leche cruda (composición química, pH, punto de congelación, densidad y capacidad antioxidante) de cabras lecheras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en las dietas.
5. Evaluar el pH, colorimetría y parámetros sensoriales de la leche ultrapasteurizada de cabras lecheras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en las dietas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Ubicación del estudio

El estudio involucró dos fases de experimentación: *in vitro* e *in vivo*. La fase *in vitro* del experimento se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Nutrición y Metabolismo Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), ubicada en el Campus de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), en el municipio de General Escobedo, Nuevo León México. General Escobedo está ubicado en las coordenadas 25°48'30"N 100°19'36"O, a una altitud de 498 – 510 m.s.n.m., con una temperatura media de 20°C y precipitaciones de 400-600 mm (INEGI, 2022). La fase *in vivo* fue realizada en las instalaciones del Rancho Agrícola La Gloria en el municipio de Allende, Nuevo León. Allende está ubicado en las coordenadas 25°17'13"N 100°00'30"O, a una altitud de 438 m.s.n.m., con una media de temperatura anual de 21.3°C y una precipitación de 1099 mm (INEGI, 2022). El análisis antioxidante de la leche se determinó en el Laboratorio de Biotecnología, mientras que su colorimetría se midió en el Laboratorio de Ingeniería y la evaluación sensorial en el Laboratorio de Sensorial de la Facultad de Agronomía, UANL. Las nanopartículas de quitosano y aceite esencial de orégano (AO) fueron elaboradas en los laboratorios de Bionanotecnología (Departamento de Inmunología y Virología), Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. También, las nanopartículas se obtuvieron en el Laboratorio de Nutrición y Metabolismo Animal, FMVZ, UANL.

6.2. Preparación de las nanopartículas

El AO fue obtenido de la empresa Natural Solutions SMI (Cd. Jiménez, Chih., México), extraído por arrastre de vapor de las hojas de la planta *Lippia berlandieri* Schauer, compuesto por 65.2 % de carvacrol. El análisis de los compuestos del AO se observa en la Tabla 8. Las nanopartículas de quitosano (NQ) y AO (AON) se obtuvieron de acuerdo con el método descrito por Hosseini et al. (2013) con ligeras modificaciones. Para la preparación de NQ una solución de quitosano (QT) al 1% en ácido acético 0.1 M se preparó para añadirle Tween 80 al 2% como agente tensioactivo y se agitó durante 2 h hasta obtener una solución homogénea.

Posteriormente, 2 mL de tripolifosfato de sodio (TPP) fueron añadidos a una concentración de 2mg/mL y se agitó durante 40 min. Las nanopartículas formadas fueron recuperadas por centrifugación a 3,000 rpm durante 20 min a 22 °C y posteriormente fue retirado el sobrenadante obteniendo una suspensión de NQ. El mismo procedimiento fue seguido para las AON, con diferencia en la elaboración de una emulsión previa a la adición de TPP. La emulsión fue elaborada por separado, donde el AO (0.5 mg) se disolvió en 1 mL de etanol (C₂H₅OH) y esta fase oleosa fue goteada gradualmente en la solución acuosa de QT (10 mL) durante la homogenización a una velocidad de 500 rpm. Al finalizar, una suspensión de AON fue obtenida.

Las suspensiones de NQ y AON se liofilizaron inmediatamente a -35 °C utilizando un liofilizador FreeZone 4.5 (LABCONCO; Kansas City, MO, USA). En la Figura 2 se observa un diagrama de la elaboración de las nanopartículas. Tanto las partículas de quitosano como el sobrenadante se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis.

Tabla 8. Compuestos volátiles (%) del aceite esencial de orégano utilizado para la elaboración de nanopartículas y tratamientos experimentales de AO.

Compuesto	% ^a
Carvacrol	65.20
<i>p</i> -Cymeno	10.99
Timol	10.26
Cariofleno	2.71
α -cariofleno	1.77
Óxido de cariofileno	1.64
3-t-butil-4-metoxifenol	1.09
Otros	4.31

^a Los porcentajes de compuestos volátiles fueron obtenidos utilizando el método interno por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas con ionización por impacto electrónico.

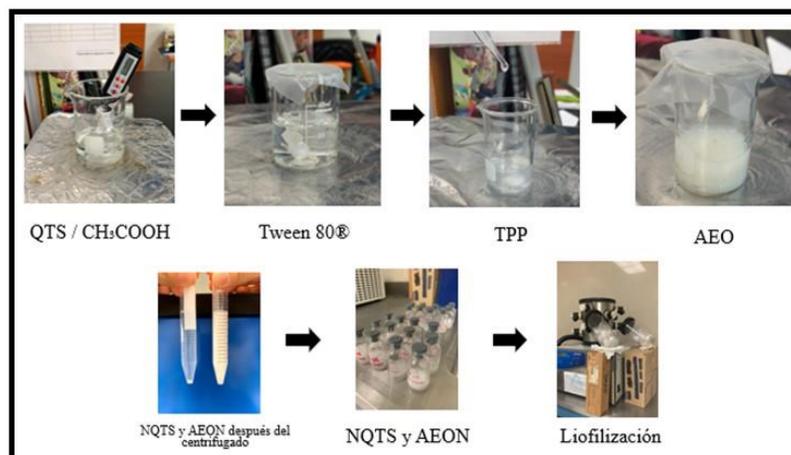


Figura 2. Proceso de elaboración de AON y NQ para experimentación *in vitro*.

6.3. Análisis de las nanopartículas de aceite de orégano

Las nanopartículas fueron caracterizadas por dispersión de luz dinámica (DLS) para evaluar el tamaño de partícula, índice de polidispersidad (PDI) y potencial zeta (PZ) en un Zetasizer ZS90-Nano (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) y por espectroscopía infrarroja (FTIR) como se muestra en la Figura 3. La determinación de los grupos funcionales del QTS y el AO se analizaron por reflectancia total atenuada (ATR), usada en conjunto con la técnica de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Las muestras se colocaron en el cristal ATR de diamante utilizando una placa superior y un brazo de presión, y los espectros de infrarrojo fueron obtenidos por un accesorio de muestreo ATR (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA) por 16 barridos a una resolución de 4 cm^{-1} . Los datos obtenidos fueron analizados con el software Perkin Elmer Spectrum 10 (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA).

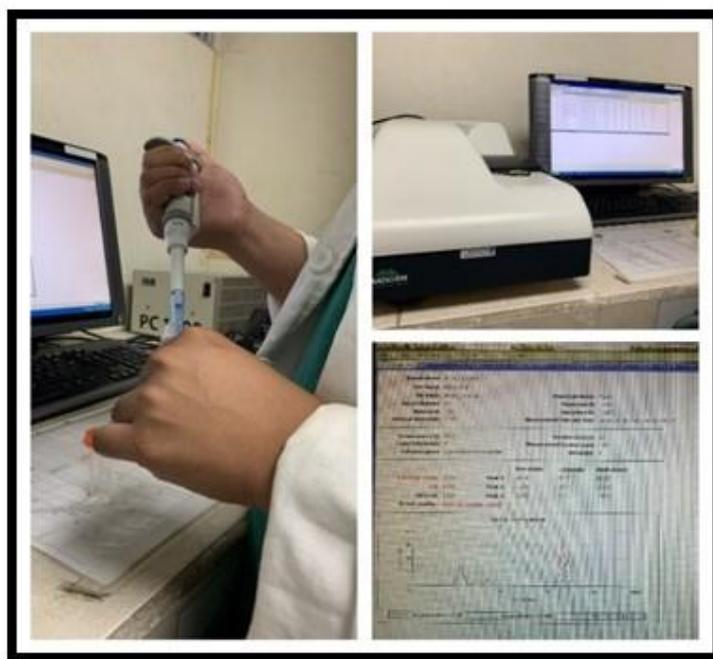


Figura 3. Análisis de nanopartículas mediante DLS.

6.4. Evaluación *in vitro*

6.4.1. Elaboración de dieta experimental

Una dieta isoproteica e isoenergética fue formulada para la fase *in vitro* utilizando pellets integrados por alfalfa (30%), cascarilla de soya (6%), maíz molido (31.7%), salvado de

trigo (8%), pasta de soya (8.2%), semilla de algodón (10%), melaza (4%) y premezcla de aditivos (1%) y una mezcla base vitamínica y mineral (2%). La dieta fue formulada en forma de ración totalmente mezclada (RTM) cuidando que los requerimientos de energía neta de lactancia (ENL), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), extracto etéreo (EE), vitaminas y minerales fueran cubiertos (Tabla 9) de acuerdo con el NRC (2007). La dieta fue elaborada en las instalaciones de MNA de México, S.A. de C.V. utilizando una mezcladora industrial (Figura 4). Una vez elaborado, un análisis químico proximal se realizó de acuerdo a la AOAC (2012).

Tabla 9. Dieta experimental formulada para cabras.

Ingredientes (%)	
Pellet de alfalfa	30.00
Cascarilla de soya	6.00
Maíz molido	31.7
Salvado de trigo	8.00
Pasta de soya	8.20
Semilla de algodón	10.0
Melaza	4.00
Premezcla aditivos	0.10
Premezcla vitaminas y minerales	2.00
Composición Química (% BS)	
Humedad	11.6
EM (kcal/kg)	2.643
ENL (kcal/kg)	1.713
PC	16.48
PC _I	5.729
FDN	31.34
FDA	21.51
FDN _{fe}	60.18
EE	4.394
Cenizas	6.868
Carb. no-fibrosos	40.41
Minerales (%)	
Calcio	0.80
Fósforo	0.51
Potasio	1.25

EM = Energía metabolizable, ENL= Energía neta de lactancia, PC = Proteína cruda, PC_I = Proteína cruda indegradable, FDN= Fibra detergente neutro, FDA = Fibra detergente ácido FDN_{fe} = Fibra físicamente efectiva, EE = Extracto etéreo.



Figura 4. RTM elaborada para el experimento *in vitro* en una mezcladora industrial.



Figura 5. Instalaciones experimentales de cabras para experimento *in vitro*.

6.4.2. Características de los animales y extracción de líquido ruminal

La fermentación *in vitro* de los tratamientos experimentales se llevó a cabo utilizando líquido ruminal de tres cabras, de raza Boer de 3 ± 1.5 años (Figura 5) proveniente del rancho caprino Santa Úrsula, General Zuazua, Nuevo León, México. Las cabras fueron alojadas en el área experimental del Laboratorio de Nutrición y Metabolismo Animal en la FMVZ, UANL. Una dieta isoproteica e isoenergética controlada y agua a *ad libitum*, se usaron para alimentar a las cabras, pasando por un periodo de adaptación de 21 d. Al día 22, 2 h después de la alimentación vespertina, la extracción de líquido ruminal se realizó mediante una sonda orogástrica bajo los lineamientos de bienestar animal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO (1999).

6.4.2. Digestibilidad experimental *in vitro*

Para la evaluación de digestibilidad *in vitro* fue utilizada la incubadora Daisy II (ANKOM Technology; Macedon NY, EUA) respetando la técnica e indicaciones del Método 3 de ANKOM TECHNOLOGY (2017^b) como es mostrado en la Figura 6. Bolsas ANKOM F57 (5 × 5 cm; tamaño de poro 25 µm) se utilizaron en esta fase, las cuales fueron lavadas con acetona, rotuladas y pesadas. Previo al inicio de la fase *in vitro*, 1 kg de la ración mixta total (RTM) se tomó para molerla en un molino (Thomas Scientific Wiley Modelo 4, Swedesboro, NJ, USA) durante 5 min; después, la RTM molida fue mezclada con los tratamientos establecidos usando aceite esencial de orégano puro (AO) y nanoparticulado (AON), y un control negativo nanopartículas de quitosano (NQ). Los tratamientos fueron 0CON: dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; y 300NQ: dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano. Una vez preparado los tratamientos, 0.50 g de éstos fueron colocados dentro las bolsas ANKOM F57, registrando el peso, y después se sellaron con una selladora de impulso de mesa presionando de 2-3 s a 4 mm del extremo. Una vez selladas, las muestras se colocaron en las jarras Daisy II distribuyendo las bolsas ANKOM F57 entre ambos lados de las jarras; también una bolsa control se incluyó equivalente al factor de corrección. A cada jarra se le añadieron 1,600 mL de la solución buffer descrita por el método ANKOM (2017^b) que simula la saliva del animal y

400 mL de líquido ruminal de las cabras (300 mL de líquido ruminal de cada una) previamente filtrado y mezclado, cuidando que durante el filtrado y mezclado se suministre suficiente CO₂ para el mantenimiento de las bacterias anaerobias. El líquido ruminal se colocó en las jarras de digestión, después las jarras se cerraron y fueron introducidas cuidadosamente a la incubadora Daisy II por 48 h a una temperatura de 39.5 °C ± 0.5 para iniciar con el proceso de fermentación *in vitro*. Al completar el periodo de incubación, las bolsas fueron enjuagadas con agua común y se secaron durante 48 h en una estufa de secado a 60 °C. Este peso fue registrado para realizar el cálculo de digestibilidad de la materia seca (DMS) *in vitro* (Ecuación 1). Posteriormente, las bolsas ANKOM F57 fueron colocadas en el analizador de fibra ANKOM 2000 (ANKOM Technology; Macedon NY, EUA) para determinar la digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) incluyendo α-amilasa (ANKOM, 2017^a). Después de la determinación de DFDN, el peso de las bolsas fue registrado y las cenizas fueron obtenidas a 550 °C por 2 h para realizar el ajuste de la DFDN con base a la materia orgánica (mo). Así, la DFDN se estimó considerando la mo en su cálculo (DFDN_{mo}). Este ajuste se realizó (ecuación 2) de acuerdo con Mertens (2002) y adaptación de Udén et al. (2005). Para las variables DMS y DFDN_{mo} se realizaron tres repeticiones (bolsas) por tratamiento y tres réplicas por tratamiento (n = 9 por tratamiento), las cuales fueron determinadas a las 0, 12, 24, 36 y 48 h usando en total 225 bolsas ANKOM F57 (más 3 control).

$$(1) \% DMSIV \text{ (según la base recibida)} = 100 - \left(\frac{(\text{peso antes de incubación} - (\text{peso bolsa sola} \times \text{factor de corrección}))}{\text{peso de la muestra}} \right) \times 100$$

$$(2) \% DFDNIV_{mo} = 100 \times \frac{(\text{peso crisol} + \text{residuo FDN}) - \text{crisol y cenizas}}{\text{muestra} \times MS}$$



Figura 6. Suministro de CO₂ en líquido ruminal de cabra e incubadora Daisy II.

6.4.3. Producción de gas total (PGT), pH y liberación de amoníaco (NH_3) *in vitro*

La PGT se midió a ocho tiempos (0.084 (5 min), 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 h) mediante el sistema de producción de gases ANKOM RF (ANKOM Technology; Macedon NY, EUA) siguiendo las indicaciones del Manual del Operador ANKOM Gas Production System (2018) (Figura 7). La presión de gas medida durante la evaluación fue convertida a moles de gas producido usando la Ley de Gas Ideal (ecuación 3), y luego fue convertida a mL de gas producido usando la Ley de Avogadro (ecuación 4):

$$n = p \left(\frac{V}{RT} \right) \times 100 \quad (3)$$

Dónde:

n = gas producido en moles (mol)

p = presión en kilopascal (kPa)

V = volumen cabeza-espacio en la botella de gas en litros (L)

T = temperatura en grados Kelvin ($^{\circ}K$)

R = constante de gas ($8.314472 \text{ L}\cdot\text{kPa}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$)

$$\text{Gas producido (mL)} = n \times 22.4 \times 1000 \quad (4)$$



Figura 7. Análisis de presión de gas total *in vitro*.

La determinación del pH y NH_3 fueron determinados a distintos tiempos de incubación (0, 3, 6, 12 y 24 h). El pH fue medido introduciendo directamente el electrodo del potenciómetro UB-10 (Denver Instrument, Bohemia, NY, USA) en la muestra a cada tiempo establecido. El NH_3 fue medido mediante espectrofotometría de acuerdo con el método de Broderick y Kang (1980) y ligeras modificaciones. Las muestras fueron incubadas a 39 °C en un baño María por triplicado en tubos cónicos de 50 mL a la concentración de 20 mg de MS por mL de líquido ruminal durante 0, 3, 6, 12 y 24 h. Las muestras de líquido ruminal fueron centrifugadas a 3,000 rpm durante 20 min. El sobrenadante fue utilizado para determinar la concentración de NH_3 , usando 40 μL de líquido ruminal. Posteriormente fueron añadidos 2.5 mL de reactivo de fenol-nitroprusiato de sodio y 2.0 mL de reactivo de hipoclorito alcalino para la formación de indofenol, cuya absorbancia es directamente proporcional a la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ de la muestra (Berthelot, 1859). De cada tubo fueron obtenidos 300 μL y se colocaron en una placa de microtitulación de 96 pocillos para medir la absorbancia a una longitud de onda de 630 nm (ChroMate®; © Awareness Technology, Inc.; Palm City, FL, USA). Para estas variables (PGT, pH y NH_3) se realizaron seis réplicas experimentales con una repetición por cada tratamiento ($n = 6$ por tratamiento). En la Figura 8 se muestra el procedimiento.



Figura 8. Procedimiento para medición de pH y concentración de NH_3 .

6.5. Evaluación *in vivo*

6.5.1. Dieta experimental

Una dieta isoproteica e isoenergética fue formulada (Tabla 10) para la fase *in vivo* utilizando pellet de alfalfa (40%), cascarilla de soya (6%), sorgo (26.5%), salvado de trigo (6%), pasta de soya (9.5 %), semilla de algodón (5%), melaza (4%), aceite (1%) y una mezcla de vitaminas y minerales (2%). La dieta fue formulada como RTM (Figura 9) cuidando que los requerimientos de ENL, PC, FDN, EE, vitaminas y minerales fueran cubiertos (NRC, 2007). La dieta fue elaborada en las instalaciones de MNA de México S.A. de C.V. En el caso de los tratamientos de orégano puro y nanoparticulado fueron mezclados con el aceite vegetal justo antes de adicionar el aceite vegetal en la ración. Las nanopartículas fueron mezcladas en el aceite sin que quedara precipitado. Así, estos fueron adicionados a la mezcladora industrial con el resto de los ingredientes y obtener una mezcla homogénea. Una vez elaborado el alimento, un análisis químico proximal se realizó a las dietas de acuerdo con la AOAC (2012; Tabla 11).



Figura 9. Dieta experimental elaborada para experimento *in vivo*.

Tabla 10. Dieta formulada para cabras durante la fase *in vivo*.

Ingredientes	%
Pellet de alfalfa	40.00
Cascarilla de soya	6.00
Sorgo	26.50
Salvado de trigo	6.00
Pasta de soya	9.50
Semilla de algodón	5.00
Melaza	4.00
Aceite	1.00
Premezcla vitaminas y minerales.	2.00

Tabla 11. Análisis proximal de las dietas experimentales.

Componente (%) ¹	Tratamientos ²		
	CON	AON	AO
Humedad	9.10	8.88	9.51
Cenizas	6.46	6.46	6.99
Proteína cruda	14.46	15.04	16.57
Grasa cruda	3.86	4.16	4.19
Fibra cruda	14.30	13.50	12.36
FDN	25.01	25.08	23.36
FDA	17.83	17.39	15.97
ELN	60.92	60.84	59.89
CNF	35.91	35.76	36.53

¹FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; ELN: Extracto libre de nitrógeno; CNF: Carbohidratos no fibrosos.

² CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro.

6.5.2. Características de los animales, instalaciones y diseño experimental

Un total de 15 cabras primalas Alpino Francés con 3 meses de lactancia y un peso promedio de 33.12 ± 3.27 kg del rancho Agrícola La Gloria fueron usadas en el experimento. Las cabras fueron alojadas en corrales individuales de 1.20 x 1.40 x 1.20 m equipados con bebedero y comedero (Figuras 10 y 11). Las cabras se asignaron bajo un diseño completamente al azar a cinco tratamientos ($n = 5$ cabras/tratamiento). Los tratamientos fueron CON: dieta control (sin aceite de orégano); AON: dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro. Las 300 ppm elegidas para esta fase *in vivo* se seleccionó de los resultados obtenidos de la fase *in vitro*, la cual obtuvo mejores efectos. Los animales pasaron por un periodo de 14d de adaptación 12 d de experimentación. El alimento fue ofrecido dos veces al día, a las 9:00 am y a las 3:00 pm, mientras que el ordeño se llevó a cabo a las 6:00 am y a las 5:00 pm. El manejo de las cabras durante la investigación se llevó a cabo bajo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO (1999).

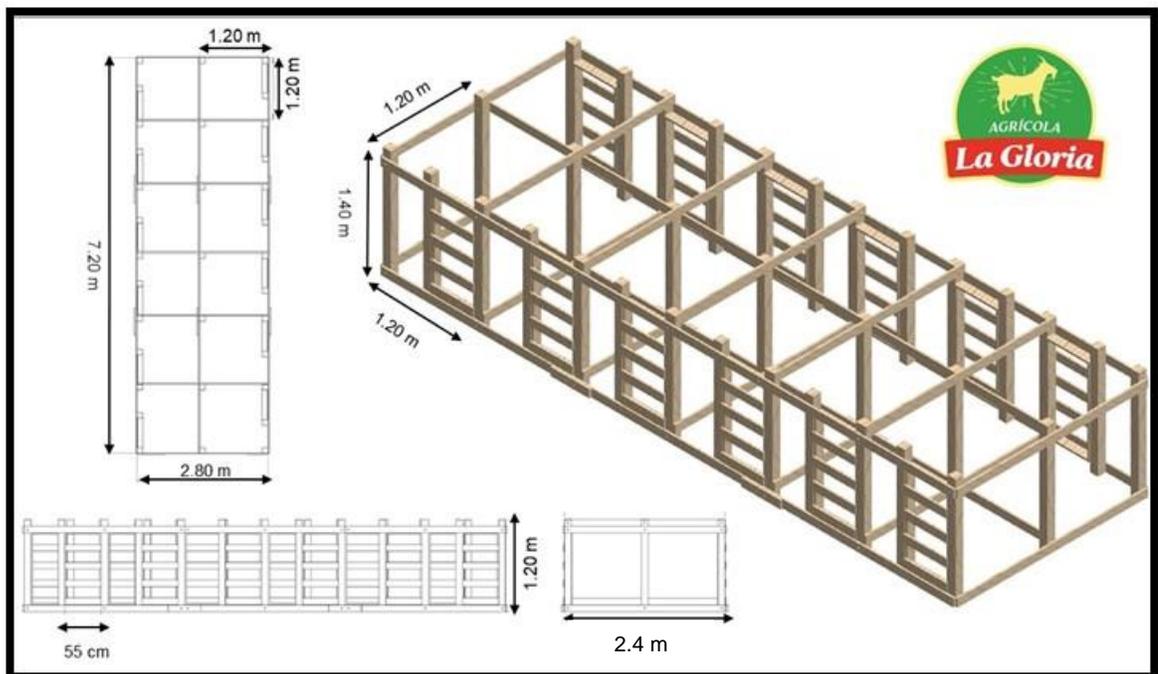


Figura 10. Planeación de área experimental para alojamiento de las cabras.



Figura 11. Área experimental construida para las cabras lecheras en experimentación.

6.5.3. *Evaluación del comportamiento productivo*

La evaluación del comportamiento productivo fue medida a los días 1, 4, 8 y 12 una vez iniciada la experimentación. El peso, consumo diario de alimento (CDA), consumo de agua, producción de leche (PL) y eficiencia productiva en leche y agua (PL/CDA y PL/CAg) fueron evaluados en estos periodos, los cuales fueron considerados como bloques en el análisis de datos. Dos pesajes consecutivos por cada periodo fueron promediados (Figura 12). Para la evaluación del CDA fueron retirados los rechazos de alimento de cada día y medidos por la mañana antes de ofrecer la dieta nuevamente como lo realizaron Borges et al. (2019). El CDA fue calculado a través de la diferencia entre las cantidades de comida ofrecida y el rechazo en los días de evaluación como se muestra en la Figura 13; así mismo, el CAg se estimó como el CDA. La producción de leche fue evaluada durante cada periodo (Figura 14). La eficiencia productiva fue estimada midiendo la producción de leche diaria con relación al CDA y CAg.



Figura 12. Pesaje de las cabras.



Figura 13. Medición del CDA a cabras en tratamientos experimentales.



Figura 14. Ordeño diario de las cabras.

6.5.4. *Parámetros sanguíneos*

Al día 13 fueron recolectadas muestras de sangre mediante venopunción yugular (Figura 15) para evaluar la química sanguínea (QS) y biometría hemática (BH). Tubos BD vacutainer de 4 mL (Becton Dickinson, Vacutainer System, Franklin Lake, Nueva Jersey, EUA) con activador de la coagulación se usaron para la QS y tubos BD vacutainer de 6 mL con anticoagulante se utilizaron para la BH. Las variables bioquímicas fueron analizadas por espectrofotometría mediante un analizador bioquímico automatizado (Miura 200, ISE SRL, Roma, Italia). Las variables hematológicas fueron determinadas mediante un analizador hematológico automatizado (KX 21N, Sysmex, Kobe, Japón).



Figura 15. Muestreo de sangre mediante venopunción yugular.

6.5.5. *Evaluación de la calidad de la leche cruda y ajuste de su rendimiento*

La composición de la leche fue medida con un analizador ultrasónico de leche Master Eco (Milkotester Ltd. ©, Belovo, Bulgaria; Figura 16). Las variables evaluadas fueron agua, punto de congelación (PCo), sólidos totales (ST), sólidos no grasos (SNG), grasa, proteína, lactosa, sales y densidad. El pH fue medido insertando el electrodo del potenciómetro (HANNA; HI98127, Woonsocket RI, USA) directamente en 20 mL de leche. Las muestras de leche fueron obtenidas durante cada periodo y evaluadas inmediatamente después de la ordeña. El ajuste del rendimiento de los componentes de la leche fue calculado como $PL \times \text{componente producido}/100$. La energía bruta en leche

(EBL) fue calculada con el método de Tyrrell & Read (1965). La leche corregida por grasa al 4% fue calculada con la formula Gaines descrita en el NRC (2001). Así mismo, 45 mL de leche fueron congelados hasta su posterior análisis.



Figura 16. Medición de la composición química y pH.

6.5.6. Capacidad antioxidante de leche cruda

La capacidad antioxidante fue medida utilizando el método de Re et al. (1999) a través de ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) que se genera por oxidación con persulfato de potasio y se reduce en presencia de antioxidantes donantes de hidrógeno utilizando una curva Trolox (6-hidroxil-2,5,7,8-tetra metil cromano -2- carboxílico) como estándar. Una dilución de 200 μL de leche fue realizada en 800 μL de agua biodestilada, después fueron tomados 10 μL de la dilución y agregado 1 mL de ABTS. Enseguida, la absorbancia fue medida al inicio de la reacción y 6 min después a 707 nm en un espectrofotómetro SmartSpec Plus (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). El porcentaje (%) de inhibición del radical fue obtenido mediante las diferencias de absorbancia, utilizando la curva Trolox para determinar la actividad antioxidante con una regresión lineal. La

determinación de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con el protocolo descrito por Kim et al. (2003) con ligeras modificaciones (Figura 17). Las muestras fueron incubadas durante 2 h con reactivo Folin-Ciocalteu 2 N y posteriormente se realizó la lectura de las muestras a 750 nm mediante espectrofotometría (SmartSpec Plus, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Una curva de calibración se usó con diferentes concentraciones de ácido gálico. Los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG).



Figura 17. Determinación de compuestos fenólicos de la leche cruda mediante el método Folin-Ciocalteu.

6.5.7. Características fisicoquímicas y evaluación sensorial de la leche de cabra ultra pasteurizada

Un total de 500 mL de leche fueron ultrapasteurizados (85 °C por 3 min) y refrigerados (4 °C) para realizar un análisis de colorimetría, pH y evaluación sensorial de consumidor. El pH de la leche de cabra ultrapasteurizada fue determinado con un electrodo (HI99163, Hanna Instruments WoonSocket, Rhode Island, EE. UU.) insertándolo indirectamente en la muestra. Las variables de color fueron medidas con un colorímetro (CR-400; Konica Minolta®; Tokio, Japón; CIE Standard Illuminant/Observer, D65/10) para registrar la luminosidad (L^*), enrojecimiento (a^*), amarillez (b^*), Chroma (índice de saturación) y ángulo Hue (tonalidad).

Una prueba sensorial afectiva por atributos fue realizada con 30 panelistas semientrenados que toman leche con frecuencia (Figura 18). Cada panelista evaluó 15 mL de muestras de leche colocadas en vasos de plástico codificados con tres números al azar. La prueba sensorial se realizó en cabinas individuales con lavabo, mesa y silla en cada una (Cantú-

Valdés et al., 2020; López-Puga et al., 2021^b). El color blanco, olor, sabor dulce, cremosidad y aceptabilidad general se evaluaron con una escala hedónica de 5 puntos (5 = me gusta mucho; 4 = me gusta, 3: ni me gusta ni me disgusta, 2 = me disgusta y 1 = me disgusta mucho) (Meilgaard et al., 2006).



Figura 18. Evaluación sensorial de leche de cabra.

6.6. Análisis estadístico

Los datos provenientes de la fase *in vitro* sobre la digestibilidad (DMS y DFDN), producción de gas total (PGT), pH y NH₃ se analizaron mediante el modelo lineal general (GLM) para evaluar el efecto de los tratamientos (Ti), el tiempo (β_j) y su interacción [(T β)_{ij}] considerando el modelo estadístico $y = \mu + T_i + \beta_j + (T\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$, y cuando H_0 se rechazó ($P \leq 0.05$) para los efectos fijos y la interacción, la comparación de medias fue realizada con la instrucción comparaciones (adjust Tukey). Adicionalmente, una regresión lineal simple de primer y segundo orden se realizó para evaluar la dependencia de y en función del tiempo (X) para cada tratamiento, considerando como modelo estadístico: $y = \beta_0 + \beta_1 X_i + E_i$; así mismo, el modelo de la regresión cuadrática incluyó $\beta_{11} X_{11}^2$. Posteriormente, como para la digestibilidad *in vitro* (DMS y DFDN) fueron realizadas nueve repeticiones por tratamiento, se obtuvieron nueve modelos de regresión lineal (nueve coeficientes de regresión) por tratamiento, y para PGT, pH y NH₃ se obtuvieron seis modelos de regresión (coeficientes de regresión), entonces se realizó un análisis de varianza con la instrucción GLM por coeficiente de regresión de todos los tratamientos y obtener el análisis de las pendientes (β_1 y B_{11}). Cuando H_0 se rechazó ($P \leq 0.05$), la

comparación de medias fue hecha con la prueba Tukey. Todos los análisis de los datos fueron realizados con el software Minitab® (2014).

Los datos de la fase *in vivo* sobre la evaluación productiva, parámetros sanguíneos, composición de la leche, ajuste de rendimiento y capacidad antioxidante se analizaron mediante el GLM. En esta fase se consideró un arreglo de datos y análisis de bloques al azar en el modelo estadístico: efecto de los tratamientos (T_i), efecto bloque (días de muestreo). En el modelo de análisis se consideró al peso inicial de las cabras como efecto covariable. En el caso de los análisis de capacidad antioxidante, el efecto tratamiento, tiempo de muestreo e interacción $[(T\beta)_{ij}]$ se consideraron en el modelo estadístico para el análisis de los datos. Cuando H_0 se rechazó ($P \leq 0.05$), la comparación de medias fue hecha con la prueba Tukey. En el análisis sensorial, la prueba estadística no paramétrica de Friedman fue realizada considerando a los panelistas semientrenados como bloque. Todos los análisis de los datos fueron realizados con el software Minitab® (2014).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Análisis de las nanopartículas

En la Tabla 12 se muestran los resultados de la caracterización de las AON. Tamaños de partícula de 332.95 nm fueron identificados, PDI de 0.08 en la dilución de 1:1000, mientras que en el PZ fue de -22.7 mV; en los resultados de las nanopartículas blanco (NQ) se encontraron tamaños de 3.39 nm, PDI de 0.35 en la dilución de 1:1000 y un PZ de -11.1. Hosseini et al. (2013) reportaron tamaños de partícula de AON diferentes a los encontrados en este estudio, ya que las nanopartículas de QTS (NQ) y AON se distribuyen entre los rangos de 40 y 80 nm. Sin embargo, ellos señalan que el tamaño de las NQ es menor en comparación con el AON, similar a los resultados obtenidos en este estudio. El aumento del tamaño de las nanopartículas se debe a la carga de AO en las nanopartículas de quitosano (Hosseini et al., 2013), lo cual puede explicar la variación de rangos encontrados en el presente trabajo de AON y NQ.

Tabla 12. Caracterización de las nanopartículas de AEO.

Prueba ¹	Resultados ²	
	AON	NQ
Tamaño (nm)	332.95	3.39
PDI	1:1000 = 0.08	1: 1000 = 0.35
ZP	-22.7	-11.1

¹ nm: Nanómetros, PDI: Polidispersidad, ZP: Potencial zeta.

² AON: Nanopartículas de orégano; NQ: Nanopartículas de quitosano.

Estudios similares no han evaluado PDI ni PZ en NQ con AO; sin embargo, Fraj et al. (2019) evaluaron AON con policaprolactona de poliéster alifática (PCL) como material de encapsulación. En este caso, valores de PZ negativos altos se observaron para todas las suspensiones de AON a diferentes relaciones de PCL/AO: 1/3.2, 1/3.4 y 1/ 4, resultando en -40.90 ± 0.93 mV , -42.53 ± 1.01 mV y -30.67 ± 1.27 mV, respectivamente; en

contraste con las nanopartículas de PCL (NPCL) -18.60 ± 0.50 mV. Estos autores mencionaron que valores de PZ negativos altos, reflejan formulaciones cinéticamente estables, ya que aseguran mayores fuerzas de repulsión electrostática entre las nanopartículas y esta repulsión conduce a mayores distancias de separación entre las nanopartículas en la suspensión. Valores negativos altos también se reportaron en el presente trabajo, entonces puede indicarse que son cinéticamente estables. En cuanto al PDI, informan valores de 0.133 ± 0.01 , 0.144 ± 0.01 y 0.178 ± 0.02 en la AON. Para las NPCL se encontraron valores de PDI de 0.140 ± 0.01 . Estos autores también mencionan que valores de PDI más bajos indican una alta homogeneidad en la población de partículas, estabilidad y distribución, mientras que el aumento en el valor de PDI puede generar una población de partículas heterogénea. En los resultados de este estudio los valores de PDI del AON se encuentran bajos (0.08), mientras que los valores de PDI de las NQ se encuentran más elevados (3.39), indicando que la población de AON es más homogénea que las NQ.

Los resultados del FTIR de las NQ y AON se muestran en la Figura 19. Para las NQ, el pico de amida I (flexión $-\text{NH}_2$) se encontró a $1,446 \text{ cm}^{-1}$ y fueron observados a $1,133 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento C-O-C) y $1,568 \text{ cm}^{-1}$ (amida II). El FTIR de las AON muestra picos característicos de AO a $2,964 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento $-\text{CH}$), $1,593 \text{ cm}^{-1}$ (flexión $-\text{NH}$), $1,427 \text{ cm}^{-1}$ (flexión $-\text{CH}_2$), $1,116 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento C-O-C) y 956 cm^{-1} (flexión $-\text{CH}$).

Los picos de $1,133 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento C-O-C) y $1,568 \text{ cm}^{-1}$ (amida II), en NQ indican formación de complejos a través de la acción electrostática entre NH_3^+ entre grupos de quitosano y grupos fosfóricos del TPP dentro de las nanopartículas como lo reportó Hosseini et al. (2013), quienes encontraron estos picos a $1,238 \text{ cm}^{-1}$ y $1,555 \text{ cm}^{-1}$. Esos autores también observaron que los picos característicos de la adición de AO en las AON dieron como resultado un aumento notable en la intensidad del pico de estiramiento CH a $2,867\text{--}2,955 \text{ cm}^{-1}$, lo que indica un aumento en el contenido de grupos éster, que podría provenir de moléculas de AO. Este aumento también fue encontrado en los resultados de este estudio, ($2,964 \text{ cm}^{-1}$) para las AON, lo cual indica que el AO fue encapsulado.

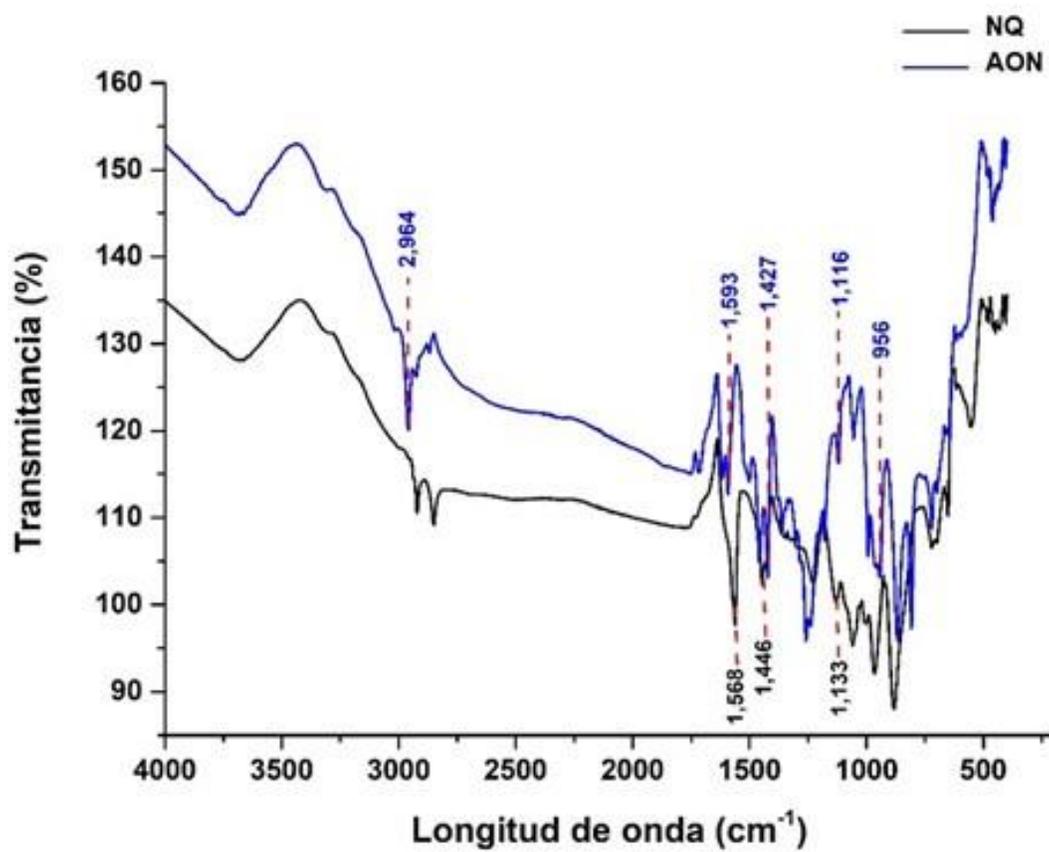


Figura 19. Espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier: AON y NQ liofilizadas.

7.2. Variables de fermentación *in vitro*

7.2.1. Digestibilidad de la materia seca (DMS)

En la Tabla 13 se muestran los resultados de la DMS *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras en 48 h. El efecto de interacción entre los tratamientos con el tiempo no fue significativo ($P > 0.05$) sobre la DMS, pero el efecto tratamiento y tiempo si tuvieron efecto significativo ($P < 0.05$) en esta variable. Otros trabajos (Rhigi et al., 2017; Benchaar et al., 2007) donde evaluaron la DMS de dietas tratadas con diversos aceites esenciales y sus compuestos como el timol, eugenol y carvacrol no reportaron efectos en la interacción. A las 12, 36 y 48 h se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$), donde 300AON tuvo la mejor ($P < 0.05$) DMS y 0CON tuvo la menor ($P < 0.05$) DMS a las 12 y 48 h, mientras que 300AO tuvo menor ($P < 0.05$) DMS a las 36 h. Particularmente, a las 0 y 24 h no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos.

En relación, Benchaar et al. (2007) investigaron los efectos del AO (200 mg L^{-1}), timol (400 mg L^{-1}), eugenol (800 mg L^{-1}) y carvacrol (400 mg L^{-1}) en líquido ruminal de vacas Holstein, encontrando que solo los compuestos fenólicos tuvieron un efecto en la DMS a las 24 h con respecto al grupo control (31.7%), con porcentajes de digestibilidad del timol de 30.5%, eugenol 24.5% y carvacrol 26.8%. Estos fueron menores a los obtenidos en el presente estudio donde se evaluó el AO (carvacrol y timol), lo que indica una mejor DMS *in vitro* cuando el AO es usado puro y nanoparticulado.

Por otro lado, en un estudio similar, Righi et al. (2017) evaluaron estos mismos compuestos a dosis de 0.5 mg L^{-1} en diferentes sustratos (heno de alfalfa, harina de soya y harina de maíz), entre ellos una ración totalmente mezclada (RTM) como en el presente estudio. La evaluación de la DMS reportada por esos autores fue evaluada a las 4 y 24 h, encontrando diferencia en la DMS entre los sustratos evaluados, donde el AO tuvo menor DMS (61.56%) en la RTM a las 24 h; eugenol, timol y carvacrol obtuvieron porcentajes de DMS de 70.05, 75.38 y 75.78 % respectivamente; sin embargo, el AE que mayor DMS obtuvo fue el de clavo (76.11%). La diferencia en los porcentajes de DMS de otros trabajos con respecto al presente estudio, podrían deberse a la composición química de la RTM elaborada, particularmente, de la fibra detergente neutro (FDN). Adicionalmente, Benchaar et al. (2007) obtuvieron un valor de FDN de 33% y Righi et al. (2017) de 34.8%

comparado al 26.60% del presente estudio. La digestibilidad de la FDN (DFDN) es de interés ya que ésta mide las fracciones de celulosa y hemicelulosa de la pared celular del forraje (NRC, 2007). El dato de DMS podría ser útil para predecir el comportamiento de un insumo sobre la producción, como lo indicaron Ballard et al. (2001), a menor DMS menor producción de leche. De acuerdo con lo anterior, en este estudio donde fue encontrada mayor DMS en 300AON podría encontrarse mayor producción de leche *in vivo*. No existen estudios similares donde hayan evaluado el efecto de AON sobre la fermentación ruminal de la DMS *in vitro*, siendo este el primer trabajo en reportarlo.

Tabla 13. Digestibilidad de la materia seca (%) *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Tratamientos [†]	Tiempo (h)					P-values [§]		
	0	12	24	36	48	T _i	δ _j	(Tδ) _{ij}
0CON	8.08 ^a	37.12 ^b	47.44 ^a	52.79 ^{ab}	55.73 ^b	0.001	0.000	0.723
100AON	7.99 ^a	37.96 ^{ab}	47.27 ^a	53.07 ^{ab}	56.88 ^{ab}			
300AO	8.22 ^a	37.94 ^{ab}	46.74 ^a	52.27 ^b	57.25 ^{ab}			
300AON	8.40 ^a	39.33 ^a	47.72 ^a	54.40 ^a	57.99 ^a			
300NQ	8.32 ^a	38.26 ^{ab}	47.56 ^a	53.22 ^{ab}	57.16 ^{ab}			
EEM	0.41	0.35	0.56	0.47	0.48			
P-value	0.954	0.002	0.774	0.036	0.034			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano.

[§] T_i: Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j: Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; (Tδ)_{ij}: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo (P < 0.05).

7.2.2. Digestibilidad de la fibra detergente neutro con base a materia orgánica (DFDNmo)

En la DFDNmo, el efecto de la interacción tratamiento-tiempo no fue significativo ($P > 0.05$), ni el efecto tratamiento ($P > 0.05$); sin embargo, diferencia ($P < 0.05$) se encontró en el tiempo (Tabla 14). Estudios similares no han evaluado esta interacción (Benchaar et al., 2007; Righi et al., 2017). A las 36 h de fermentación, 300AO obtuvo la mayor ($P < 0.05$) DFDNmo y 300AON la menor ($P < 0.05$) DFDNmo. En todos los demás tiempos no fue encontrado efecto ($P < 0.05$) de los tratamientos sobre la DFDNmo.

Ha sido reportado el efecto del AO sobre la DFDNmo en una RTM elaborada para vacas lecheras Holstein (Benchaar et al., 2007), donde hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) en comparación con el grupo control (23.5% DFDNmo), donde se describe que el AO (16.9% DFDNmo) disminuyó la DFDNmo. También evaluaron la DFDNmo de la RTM tratada con compuestos de AE como el carvacrol (12.2%), timol (21.2%) y eugenol (7.2%), mismos que fueron diferentes ($P < 0.05$) con respecto al grupo control (27.7%). Estos resultados demostraron que bajo las condiciones del estudio de Benchaar et al. (2007), tanto el AO y sus componentes disminuyeron la DFDNmo. En el presente estudio, no fue encontrada diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$) a las 24 h; sin embargo, los tratamientos de AON disminuyeron ligeramente la DFDNmo, mientras que a las 36 h esta disminución fue estadísticamente notoria ($P < 0.05$) en 300AON, lo cual podría deberse al efecto conjunto del AO y el quitosano.

Por otro lado, Righi et al. (2017) reportaron la DFDNmo de una RTM tratada con diversos AE, entre estos el AO y sus componentes (timol, eugenol y carvacrol) a las 4 y 24 h, y no obtuvieron diferencia ($P > 0.05$) a las 4 h, pero si obtuvieron diferencia ($P < 0.05$) a las 24 h, donde el AO presentó la mayor DFDNmo (72.14%), seguido de eugenol (70.11%), control (69.99%), carvacrol (67.87%) y timol (62.77%). Los resultados de este estudio tratados con AON son similares a los obtenidos por Righi et al. (2017), particularmente en la DFDNmo de la RTM adicionada con carvacrol, ya que la composición del AO utilizado en el presente trabajo fue de 65% carvacrol. Un descenso en la DFDNmo ha sido reportado por otros autores (Castillejos et al., 2006; Benchaar et al., 2007; Fraser et al., 2007) cuando evaluaron AE ricos en compuestos fenólicos o compuestos fenólicos puros,

sugiriendo que las bacterias fibrolíticas pueden ser particularmente sensibles a estos compuestos.

Tabla 14. Digestibilidad de la fibra detergente neutro (%) *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Tratamientos [†]	Tiempo (h)					P-value [§]		
	0	12	24	36	48	T _i	δ _j	(Tδ) _{ij}
0CON	35.38	34.20	29.79	27.57 ^{ab}	26.72	0.437	0.000	0.926
100AON	34.94	32.06	28.95	27.16 ^{ab}	25.76			
300AO	35.23	32.01	30.13	28.39 ^a	25.79			
300AON	35.41	33.37	28.83	26.39 ^b	24.86			
300NQ	34.53	30.86	29.57	27.99 ^b	25.77			
EEM	0.79	1.63	0.42	0.41	0.48			
P-value	0.930	0.650	0.160	0.014	0.136			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano.

[§] T_i: Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j: Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; (Tδ)_{ij}: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo (P < 0.05).

7.2.3. Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de la digestibilidad

El análisis de regresión de primer orden para la DMS y DFDNmo *in vitro* de los tratamientos con AO indicó que estas variables fueron dependientes (β_1 ; $P < 0.05$) del tiempo, obteniendo un ajuste del modelo de 81.90% (0CON) al 83.60% (300AO) en DMS, y de 42.36% (300AON) a 71.85% (300AO) en DMS (Tabla 15). Por otra parte, los coeficientes de regresión no resultaron diferentes ($P > 0.05$) entre los tratamientos, indicando que los niveles y forma de ofrecer el AO no influyen en una unidad de cambio en la DMS y DFDNmo durante la fermentación *in vitro* (48 h). Otros trabajos similares (Castillejos et al., 2006; Benchaar et al., 2007; Fraser et al., 2007) no han evaluado los coeficientes de regresión lineal de la DMS y DFDNmo *in vitro* de raciones de cabras tratadas con AO puro y nanoparticulado.

Tabla 15. Coeficientes de regresión lineal de primer orden de la digestibilidad *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Digestibilidad/ Tratamientos [†]	Coeficientes [§]			P-value de β_1
	β_0	β_1	R ²	
DMS				
0CON	18.04	0.9247	81.90	0.000
100AON	18.06	0.9407	82.32	0.000
300AON	18.71	0.9523	82.34	0.000
300AO	18.01	0.9367	83.60	0.000
300NQ	18.37	0.9390	82.53	0.000
EEM	0.85	0.0203		
P-value	0.809	0.910		
DFDN _{mo}				
0CON	35.52	-0.1997	53.11	0.000
100AON	34.43	-0.1938	69.52	0.000
300AON	35.39	-0.2341	42.36	0.000
300AO	34.81	-0.1876	71.85	0.000
300NQ	33.82	-0.1700	65.45	0.000
EEM	0.82	0.02		
P-value	0.593	0.424		

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; DA: Digestibilidad aparente; DV: Digestibilidad verdadera; EEM: Error estándar de la media. DFDN_{mo}: Digestibilidad de la fibra detergente neutro con base a la materia orgánica.

[§] β_0 : Intercepto ordenada al origen cuando X = 0; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; R²: Coeficiente de determinación.

Los resultados del análisis de regresión lineal de segundo orden (β_1 y β_{11} ; cuadrática) en los tratamientos demostraron que DMS fue dependiente ($P < 0.05$) del tiempo (β_1 y β_{11}), así como en DFDNmo (β_1 ; $P < 0.05$) (Tabla 16). Así mismo, el análisis de regresión cuadrático indicó un ajuste del 96.79% (100AON) al 97.45% (0CON) para DMS, pero en la DFDNmo el ajuste incrementó ligeramente (42.73% en 300AON y 72.05% en 300AO). Los análisis de las pendientes no mostraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre tratamientos en ambas variables. Esto indica que los niveles y forma de ofrecer el AO no influyen en una unidad cuadrática para causar un cambio en la DMS y DFDNmo *in vitro*.

Tabla 16. Análisis de regresión lineal cuadrática de digestibilidad *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Digestibilidad/ Tratamientos [†]	Coeficientes [§]				P-values	
	β_0	β_1	β_{11}	R^2	β_1	β_{11}
DMS						
0CON	9.87	2.29	-0.02836	97.45	0.000	0.000
100AON	10.08	2.27	-0.02770	96.79	0.000	0.000
300AON	10.66	2.30	-0.02797	96.87	0.000	0.000
300AO	10.47	2.19	-0.02617	96.86	0.000	0.000
300NQ	10.42	2.26	-0.02760	97.10	0.000	0.000
EEM	0.46	0.04	0.00056			
P-value	0.754	0.367	0.162			
DFDNmo						
0CON	35.93	-0.2670	0.00141	53.64	0.012	0.491
100AON	35.03	-0.2953	0.00212	71.19	0.000	0.126
300AON	35.83	-0.3080	0.00154	42.73	0.044	0.605
300AO	35.01	-0.2206	0.00069	72.05	0.001	0.591
300NQ	34.20	-0.2323	0.00130	66.22	0.001	0.334
EEM	0.93	0.0700	0.00130			
P-value	0.687	0.89	0.957			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; DA: digestibilidad aparente; DV: digestibilidad verdadera; EEM: error estándar de la media. DFDNmo: digestibilidad de la fibra detergente neutro con base a la materia orgánica.

[§] β_0 : Intercepto ordenada al origen cuando $X = 0$; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; β_{11} : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad cuadráticamente; R^2 : coeficiente de determinación.

7.2.4. Producción de gas total

En la Tabla 17 se observan los comportamientos de la producción de gas total (mL) (PGT) en la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia por el efecto de AO durante 24 h. En la interacción tratamiento-tiempo no fue encontrada diferencia significativa ($P > 0.05$). Por otro lado, el tratamiento y tiempo fueron significativos ($P < 0.05$) en la fermentación *in vitro*. En este sentido, en 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 h los tratamientos fueron diferentes ($P < 0.05$) en la producción de gas total, siendo 300AON con la mayor producción de gas y el resto de los tratamientos fueron similares.

Goiri et al. (2009) evaluaron el efecto de distintas fuentes y grados de acetilación de quitosano sobre la fermentación ruminal de ensilaje de maíz en líquido ruminal de borregos, sin obtener diferencia ($P > 0.05$) entre los distintos quitosanos; sin embargo, sus valores de PGT registrados fueron de 115 a 180 mL/g de materia orgánica. Esos autores reportaron que sus tratamientos disminuyeron la producción de metano, lo cual es una aportación importante para este trabajo, ya que sugiere que puede haber un efecto importante en la disminución de este gas en el estudio *in vivo*, debido a la alta concentración de AO en el tratamiento de 300AON, además de la adición del quitosano como encapsulante.

Tabla 17. Comportamientos de la producción de gas total (mL) en la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia en líquido ruminal de cabras por efecto del aceite de orégano.

Tratamientos [†]	Tiempo (h)								
	0.084	3	6	9	12	15	18	21	24
0CON	1.15 ^a	17.50 ^b	25.66 ^b	31.62 ^b	34.66 ^b	38.12 ^b	41.47 ^b	42.31 ^b	43.46 ^b
100AON	1.36 ^a	16.05 ^b	27.38 ^b	33.97 ^b	37.11 ^b	41.04 ^b	45.75 ^{ab}	47.32 ^{ab}	48.74 ^{ab}
300AO	1.36 ^a	18.12 ^{ab}	26.60 ^b	32.36 ^b	35.60 ^b	38.95 ^b	42.41 ^b	43.25 ^b	44.61 ^{ab}
300AON	1.78 ^a	21.87 ^a	33.31 ^a	40.47 ^a	43.61 ^a	46.75 ^a	49.90 ^a	50.65 ^a	51.78 ^a
300NQ	1.05 ^a	17.33 ^b	26.00 ^b	31.78 ^b	35.18 ^b	38.69 ^b	42.46 ^b	43.59 ^b	45.35 ^{ab}
EEM	0.19	1.04	0.86	0.98	0.96	1.12	1.37	1.48	1.77
P-values	0.103	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.007	0.036
			T_i	δ_j	$(T\delta)_{ij}$				
			0.000	0.000	0.928				

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: error estándar de la media; T_i : Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j : Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; $(T\delta)_{ij}$: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo ($P < 0.05$).

7.2.5. Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de la PGT

La producción de gas total en todos los tratamientos fue dependiente (β_1 ; $P < 0.05$) del tiempo, y el ajuste del modelo fue de 78.48% en 300AON y 85.00% en 300NQ (Tabla 18). Los coeficientes de regresión lineal de primer orden de la producción de gas total *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con AO en líquido ruminal de cabras fueron diferentes ($P < 0.05$) en β_0 y β_1 , donde 300AON presentó los valores más altos de β_0 y β_1 , lo que indica que desde un inicio la fermentación inició en el punto más alto y desde ahí obtuvo la mayor pendiente. Por otra parte, β_0 fue la menor en 300NQ y la menor pendiente (β_1) fue para 300AO. El menor ajuste del modelo lineal fue para 300AON y mayor para 100AON.

En un estudio donde fueron evaluadas dosis (0, 1.5, 3.0, 5.0 y 10.0 mmol/L) de cinco AE, entre ellos AO y tres constituyentes puros (timol y carvacrol incluidos) sobre la fermentación ruminal *in vitro* con líquido ruminal proveniente de borregos Texel en la PGT a las 5 y 16 h (Macheboeuf et al., 2007), encontraron que el carvacrol presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre dosis en ambos periodos, reportando mayor PGT con el tratamiento de 0 mmol/L (1.663 y 3.815 mmol/L) y menor PGT para 5.0 mmol/L (0.423 y 0.536 mmol/L) para ambos tiempos. A estos tiempos y concentraciones, también fue observado efecto lineal, cuadrático y cúbico. En los resultados de la PGT por efecto del timol se observó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, donde a las 5 h las dosis de 0 y 1 mmol/L mostró PGT y 6.0 mmol/L menor PGT. A las 16 h fue observado un comportamiento similar, a excepción de la similitud de PGT de 0 y 1 mmol/L. Ambos tiempos tuvieron efectos lineales, cuadráticos y cúbicos. Este mismo comportamiento fue observado en la PGT de este estudio en la fermentación de una dieta para lactancia tratada con AO en líquido ruminal de cabras, a excepción de efecto cuadrático a las 16 h. En general, a mayor concentración del compuesto fenólico se observó menor PGT. En contraste, en el presente estudio de fermentación no fue presentada diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos en el menor tiempo medido (0.084 h = 5 min), mientras que, a las 15 h, el tratamiento con mayor PGT fue 300AON, lo cual sugiere que el AON tuvo un efecto benéfico sobre la fermentación ruminal.

Tabla 18. Coeficientes de regresión lineal de primer orden de la producción de gas total *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Tratamientos [†]	Coeficientes [§]			P-value de β_1
	β_0	β_1	R ²	
0CON	11.88 ^b	1.56 ^{ab}	84.15	0.000
100AON	12.80 ^b	1.72 ^{ab}	87.14	0.000
300AO	12.34 ^b	1.55 ^b	83.98	0.000
300AON	15.99 ^a	1.81 ^a	78.48	0.000
300NQ	11.41 ^b	1.59 ^{ab}	85.00	0.000
EEM	0.55	0.06		
P-value	0.000	0.030		

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: Error estándar de la media.

[§] β_0 : Intercepto ordenada al origen cuando X = 0; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; R²: Coeficiente de determinación.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos (P < 0.05).

Cuadráticamente (β_1 y β_{11}), la producción de gas total fue dependiente (P < 0.05) del tiempo en los tratamientos, y el ajuste de los modelos incrementó para los tratamientos desde 96.37% (300AON) a 97.77% (100AON) (Tabla 19). Los coeficientes de regresión lineal de segundo orden de la producción de gas total (mL) fueron altamente significativos (P < 0.05) entre los tratamientos para las pendientes (β_1 y β_{11}), donde β_1 fue mayor en 300AON y menor en 0CON, mientras que β_{11} fue alto en 300QT y bajo en 300AON. Estos

resultados demuestran que el aceite de orégano nanoparticulado en 300 ppm (300AON) durante la fermentación incrementa la PGT.

Zhou et al. (2020) estudiaron el efecto de diferentes niveles de inclusión (0, 13, 52, 91 y 130 mg/L) de AO en una ración 65.5: 34.5 forraje-concentrado evaluado en líquido ruminal de borregos Merino x Criollo. Esos autores reportaron que la PGT por 24 h en 0 y 130 mg/L (137 y 128.9 PGT mL) fue mayor a la de 13 (124.4 PGT mL), 52 (124.2 PGT mL) y 91 (125 PGT mL) mg/L en respuesta cuadrática. En términos generales, a medida que aumentó la concentración de AO la PGT disminuyó, coincidiendo con lo reportado por Macheboeuf et al. (2007), que contrasta con 300 AON de este trabajo. Zhou et al. (2020) discutieron que el tipo de AE y la dosis pueden disminuir la PGT y reducen la producción de gas metano, sugiriendo que el AO inhibe la síntesis de gas metano, según hallazgos en su investigación. Los resultados obtenidos con la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con AO y AON sugirieron que al nanoparticular compuestos fenólicos con quitosano puede tener un efecto positivo en la PGT.

Tabla 19. Coeficientes de regresión lineal de segundo orden de gas total de la fermentación *in vitro* de una dieta de lactancia para cabras tratada con aceite de orégano.

Tratamientos [†]	Coeficientes [§]				P-values	
	β_0	β_1	β_{11}	R^2	β_1	β_{11}
0CON	4.18 ^a	3.75 ^b	-0.09067 ^a	97.45	0.000	0.000
100AON	4.58 ^a	4.04 ^b	-0.09674 ^a	97.77	0.000	0.000
300AO	4.51 ^a	3.81 ^b	-0.09215 ^a	97.41	0.000	0.000
300AON	5.68 ^a	4.73 ^a	-0.12146 ^b	96.37	0.000	0.000
300NQ	3.89 ^a	3.78 ^b	-0.08865 ^a	97.11	0.000	0.001
EEM	0.44	0.09	0.00382			
P-value	0.103	0.000	0.000			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: Error estándar de la media.

[§] β_0 : intercepto ordenada al origen cuando $X = 0$; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; β_{11} : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad cuadráticamente; R^2 : Coeficiente de determinación.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos ($P < 0.05$).

7.2.6. Evaluación de pH y NH_3

En el Tabla 20 se presentan las mediciones del pH del líquido ruminal de cabras durante la fermentación *in vitro* durante 24 h por efecto del AO. No se encontró efecto significativo ($P > 0.05$) de la interacción tratamiento-tiempo ni del efecto fijo tratamiento ($P > 0.05$) en el pH, pero el efecto fijo tiempo fue significativo ($P < 0.05$). A las 0, 3 y 6 h, el pH fue diferente ($P < 0.05$) entre los tratamientos y no así ($P > 0.05$) a las 12 y 24 h. En el tiempo 0 h, 300AO y 300NQ obtuvieron los valores de pH más elevados y 300AON

obtuvo el pH más bajo; no obstante, en el tiempo 3 h, 300AON tuvo el pH más elevado, mientras que 300AO el más bajo; por último, a las 6 h, 300NQ obtuvo el mayor pH y 300AON el menor pH. Estos resultados indicaron que 300AON disminuyó el pH más que los otros tratamientos durante el tiempo de fermentación.

Zhou et al. (2020) reportaron niveles de inclusión de 0, 13, 52, 91 y 130 mg/L de AO en una ración forraje-concentrado encontrando diferencia en el comportamiento lineal ($P < 0.05$) del pH a las 24 h (5.54, 5.59, 5.60, 5.67 y 5.72 pH, respectivamente), observando claramente que a mayor concentración de AO mayor pH (Macheboeuf et al., 2007; Zhou et al., 2020). Benchaar et al. (2007) observaron el mismo efecto cuando adicionaron carvacrol (pH 6.01), timol (pH 5.71) y eugenol (pH 5.92). En comparación, los valores de pH del líquido ruminal en el que fueron tratados distintas formas y grados de acetilación de quitosano por 24 h (Goiri et al., 2007), indicaron valores diferentes (pH 6.37 y 6.39) con respecto al control (pH 6.33). En el presente trabajo de fermentación ruminal *in vitro* a las 24 h no hubo diferencia entre tratamientos; sin embargo, el 300NQ y 300AON obtuvieron el pH más elevado a las 6 h.

Tabla 20. Comportamiento del pH en el líquido ruminal de cabras durante la fermentación *in vitro* por efecto de aceite de orégano.

Tratamientos [†]	Tiempo (h)					P-value [§]		
	0	3	6	12	24	T _i	δ _j	(Tδ) _{ij}
0CON	5.74 ^{ab}	5.11 ^{bc}	5.15 ^{ab}	4.85 ^a	4.86 ^a	0.483	0.000	0.543
100AON	5.72 ^{ab}	5.12 ^b	5.14 ^{ab}	4.86 ^a	4.86 ^a			
300AO	5.77 ^a	5.08 ^c	5.15 ^{ab}	5.02 ^a	4.74 ^a			
300AON	5.67 ^b	5.24 ^a	5.13 ^b	4.66 ^a	4.86 ^a			
300NQ	5.75 ^a	5.21 ^a	5.19 ^a	4.98 ^a	4.88 ^a			
EEM	0.02	0.01	0.01	0.16	0.08			
P-value	0.015	0.000	0.055	0.585	0.676			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300 NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: Error estándar de la media.

[§] T_i: Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j: Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; (Tδ)_{ij}: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación.

^{a-c} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo (P < 0.05).

La evaluación de NH_3 durante la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con AO en líquido ruminal de cabras mostró efecto significativo ($P < 0.05$; Tabla 21) de la interacción tratamiento-tiempo; así mismo, el efecto tiempo dio efecto significativo ($P < 0.05$), y no así ($P > 0.05$) para el efecto tratamiento. A las 3 y 12 h fue encontrada diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, observando que a las 3 h se produjo mayor cantidad de NH_3 en 0CON y menor NH_3 para 300NQ. A las 12 h, 300AO produjo más NH_3 y 100AON generó menos NH_3 .

Benchaar et al. (2007) reportaron producción de 11.7 mM (control) NH_3 , 10.1 (carvacrol), 12.0 (timol), 8.4 (eugenol) y 13.2 (orégano); sin embargo, no fue encontrada diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos a las 24 h, similar a lo reportado en este estudio con la fermentación *in vitro* de una dieta de lactancia tratada con AO puro y nanoparticulado. Otros autores, si encontraron diferencia ($P < 0.05$) en sus tratamientos; Macheboeuf et al. (2007) encontraron diferencia ($P < 0.05$) en las dosificaciones que utilizaron carvacrol con mayor producción de NH_3 (0.384 mmol/L) y 1.5 mmol/L (0.380 mmol/L) y el menor (0.130 NH_3). Estos resultados concuerdan con los hallazgos de esta investigación (a excepción de las 3 y 12 h). Los aceites esenciales son conocidos por reducir las concentraciones de NH_3 e inhibir la desaminación de las proteínas, inhibir la proteólisis, peptidólisis y la desaminación o un incremento en la síntesis de proteína microbiana o alguna combinación de estos factores, lo cual podría explicar la reducción del pH conforme aumenta la concentración de AO (Zhou et al., 2020).

Tabla 21. Evaluación de NH₃ (mg/dL) durante la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Tratamientos [†]	Tiempo (h)					P-value [§]		
	0	3	6	12	24	T _i	δ _j	(Tδ) _{ij}
0CON	0.52 ^a	1.25 ^a	1.01	1.43 ^{ab}	1.61 ^a	0.236	0.000	0.000
100AON	0.54 ^a	1.18 ^{ab}	1.02	1.13 ^b	1.59 ^a			
300AO	0.51 ^a	1.09 ^{abc}	1.06	1.65 ^a	1.50 ^a			
300AON	0.61 ^a	0.87 ^{bc}	0.96	1.46 ^{ab}	1.72 ^a			
300NQ	0.61 ^a	0.76 ^c	1.10	1.51 ^a	1.50 ^a			
EEM	0.05	0.07	0.04	0.08	0.07			
P-value	0.415	0.004	0.142	0.012	0.264			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: Error estándar de la media.

[§] T_i: Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j: Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; (Tδ)_{ij}: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación.

^{a-c} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo (P < 0.05).

7.2.7. Análisis de regresión lineal de primer y segundo orden de pH ruminal y NH₃

En todos los tratamientos, el análisis de regresión lineal de primer orden (β_1) mostró que el pH y NH₃ fueron dependientes (P < 0.05) del tiempo. El ajuste del modelo para el pH estuvo entre 54.13% (0CON) y 65.89% (300NQ), mientras que en NH₃ fue de 58.88% (300AO) y 91.05% (300AON) (Tabla 22). El origen de la recta (β_0) y la pendiente (β_1) de los tratamientos no fueron diferentes (P > 0.05) en las variables pH y NH₃. Zhou et al. (2020) encontraron efecto (P > 0.05) lineal reportando que los tratamientos con mayor producción de NH₃ fueron control (15.8 NH₃) y 13 mg/L AO (15.6 NH₃).

Tabla 22. Coeficientes de regresión lineal de primer orden en el pH y NH₃ durante la fermentación ruminal *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Variable/ Tratamientos [†]	Coeficientes [§]			P-value de β_1
	β_0	β_1	R ²	
pH				
0CON	5.40	-0.0286	54.13	0.003
100AON	5.39	-0.0282	57.31	0.001
300AO	5.45	-0.0327	61.62	0.001
300AON	5.38	-0.0303	58.77	0.009
300NQ	5.46	-0.0290	65.89	0.000
EEM	0.03	0.0035		
P-value	0.208	0.887		
NH ₃				
0CON	0.8300	0.03701	67.19	0.001
100AON	0.7833	0.03430	70.48	0.000
300AO	0.8350	0.03640	58.88	0.001
300AON	0.7080	0.04614	91.05	0.000
300NQ	0.7550	0.03793	74.69	0.000
EEM	0.0445	0.00388		
P-value	0.294	0.310		

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: error estándar de la media.

[§] β_0 : Intercepto ordenada al origen cuando X = 0; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; R²: Coeficiente de determinación.

En el análisis de regresión lineal cuadrático (β_1 y β_{11}) de los tratamientos se encontró que el pH y NH_3 estuvieron en función ($P < 0.05$) del tiempo durante la fermentación *in vitro*. En pH, β_{11} fue significativo ($P < 0.01$) para 0CON, 100AON, 300AON y 300QT; en NH_3 , β_{11} fue significativo ($P < 0.01$) para 300AO, 300AON y 300QT. Por otra parte, en el pH hubo un ajuste del modelo de 77.79% en 300AO y 90.79% en 300AON, y en NH_3 de 73.42% para 100AON y 97.31% para 300NQ (Tabla 23). Los coeficientes de regresión lineal de segundo orden (β_0 , β_1 y β_{11}) para el pH no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre los tratamientos. Sin embargo, en el NH_3 fue encontrada diferencia significativa ($P < 0.05$) en la pendiente lineal (β_1) y cuadrática (β_{11}); en β_1 , la mayor pendiente de NH_3 fue para 300AO y menor pendiente para 100AON; por el contrario, β_{11} fue mayor en 100AON y menor en 300AO. Zhou et al. (2020) encontraron efecto ($P > 0.05$) cuadrático al evaluar 0, 13, 52, 91 y 130 mg/L de AO en una ración digerida *in vitro*.

Tabla 23. Coeficientes de regresión lineal de segundo orden en el pH y NH₃ de la fermentación *in vitro* de una dieta para lactancia tratada con aceite de orégano en líquido ruminal de cabras.

Variable/ Tratamientos [†]	Coeficientes [§]				P-values	
	β_0	β_1	β_{11}	R ²	β_1	β_{11}
pH						
0CON	5.62	-0.1060	0.00313	82.82	0.000	0.002
100AON	5.61	-0.1031	0.00303	87.24	0.000	0.000
300AO	5.59	-0.0826	0.00202	77.79	0.006	0.060
300AON	5.65	-0.1255	0.00385	90.79	0.001	0.004
300NQ	5.64	-0.0914	0.00252	89.05	0.000	0.001
EEM	0.04	0.0228	0.00090			
P-value	0.813	0.731	0.683			
NH ₃						
0AON	0.6720 ^a	0.0931 ^{ab}	-0.00227 ^{abc}	79.06	0.005	0.054
100AON	0.7297 ^a	0.0533 ^b	-0.00077 ^a	73.42	0.051	0.440
300AO	0.5583 ^a	0.1345 ^a	-0.00396 ^c	91.42	0.000	0.000
300AON	0.5914 ^a	0.0875 ^{ab}	-0.00167 ^{ab}	96.50	0.000	0.010
300NQ	0.5442 ^a	0.1127 ^a	-0.00302 ^{bc}	97.31	0.000	0.000
EEM	0.0457	0.0118	0.00044			
P-value	0.072	0.007	0.004			

[†] 0CON: Dieta control sin aceite esencial de orégano puro o nanoparticulado; 100AON: Dieta + 100 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300AO: Dieta + 300 ppm aceite de orégano puro; 300AON: Dieta + 300 ppm aceite de orégano nanoparticulado; 300NQ: Dieta + 300 ppm nanopartículas de quitosano; EEM: Error estándar de la media.

[§] β_0 : Intercepto ordenada al origen cuando X = 0; β_1 : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad; β_{11} : Pendiente, el cambio en y cuando X incrementa una unidad cuadráticamente; R²: Coeficiente de determinación.

^{a-c} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos (P < 0.05).

7.3. Evaluación *in vivo*

7.3.1. Comportamiento productivo

En la Tabla 24 son mostrados los resultados de productividad y eficiencia de cabras alimentadas con aceite de orégano (AO) puro y nanoparticulado durante 12 días. Diferencia significativa ($P < 0.05$) fue observada para todas las variables a excepción ($P > 0.05$) de la eficiencia productiva en leche con relación al consumo de alimento (PL/CA). Las cabras del grupo AO obtuvieron más peso, consumieron más alimento y agua, incrementaron la producción de leche (respecto a las cabras del grupo control), y esto resultó con una mejor eficiencia en relación con el consumo de agua. También, con estos resultados puede destacarse que las cabras del tratamiento AON resultaron eficientes ya que presentó el menor peso, menos CDA, CAg y una buena eficiencia en relación con el CAg (estadísticamente la PL/CAg resultó igual entre AO y AON).

Tabla 24. Productividad y eficiencia de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado durante 12 días.

Variable ¹	Tratamiento ²				P-value
	CON	AON	AO	EEM	
Peso (kg)	37.33 ^b	35.90 ^c	38.24 ^a	0.22	0.000
CDA (kg)	2.05 ^b	2.07 ^b	2.56 ^a	0.06	0.000
CAg (L)	8.28 ^b	9.97 ^{ab}	10.77 ^a	0.48	0.002
PL (kg)	1.86 ^b	1.93 ^{ab}	2.09 ^a	0.06	0.033
PL/CDA	0.94	0.95	0.83	0.04	0.074
PL/CAg	0.26 ^a	0.21 ^b	0.21 ^b	0.01	0.009

¹CDA: Consumo diario de alimento; CAg: Consumo de agua; PL: Producción de leche; PL/CA: Eficiencia productiva de leche entre consumo de alimento; PL/CAg: Eficiencia productiva de leche entre consumo de agua.

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en filas (n = 5 cabras por tratamiento) con letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Paraskevakis (2015) examinó los efectos de plantas secas de orégano griego (*Origanum vulgare* ssp. Hirtum; 30 mg/animal/día, 1 mL de AO/animal /día) en la dieta para 12 cabras Alpinas no lactantes por cuatro semanas, pero el tratamiento no afectó el consumo de

materia seca (CMS). En el presente estudio se obtuvo diferencia en el CDA. De acuerdo con Bosco-Stivanin et al. (2019), esta discrepancia se puede atribuir al estado fisiológico del animal y al CMS que podría disminuir el balance energético negativo. Esos autores comprobaron, cuando en 24 vacas Jersey en transición suplementaron 10 g/día de extracto de orégano o 5 g/día de extracto de té verde, que los tratamientos no afectaron el CMS antes del parto, pero si después del parto al encontrar que la suplementación con orégano aumentó el CMS en 1.3 kg respecto al grupo control. Solaiman et al. (2010) indicaron que el pico de lactancia para cabras Alpinas es de los días 50 al 65. Entonces, los resultados obtenidos en este estudio con cabras suplementadas con AO pueden indicar que incrementaron el CMS a pesar de que iniciaban el pico de lactación (periodo de máxima producción), ya que las cabras utilizadas en este estudio tenían 53 d de lactación al finalizar el experimento.

Con el presente estudio en cabras Alpino Francés suplementadas con AO, se demostró efecto de los tratamientos, que evidenciaron una mejor eficiencia en pesos y la producción de leche. En contraste, Paraskevakis (2015) no reportó diferencia en el cambio de peso de cabras lecheras Alpinas. Así mismo, otros estudios similares en vacas lecheras Holstein y en vacas Jersey en periodo de transición (Tekippe et al., 2011; Bosco-Stivanin et al., 2019) no reportaron diferencia en el peso corporal. Bosco-Stivanin et al. (2019) mencionaron que 10 g de orégano/vaca/día no disminuye la movilización de tejido corporal durante el periodo de transición, ya que la pérdida de peso y la condición corporal fue similar en el grupo control. En estudios similares con cabras lecheras (Paraskevakis, 2015) y vacas lecheras (Tekippe et al., 2011; Bosco-Stivanin et al., 2019) no reportaron el CAg ni la eficiencia en relación a la ingesta de agua. Sin embargo, los resultados obtenidos en CA y CAg para AO evidenciaron un efecto del AO puro sobre estos parámetros, y en consecuencia que la PL se incrementara.

Resultados similares en PL fueron obtenidos por Paraskevakis (2015) en la segunda semana de experimentación al suplementar 1 mL/AO/animal/día. Adicionalmente, Bosco-Stivanin et al. (2019) obtuvieron incrementos en la producción de leche (18.6 Kg) de vacas cuando las suplementaron con AO. Estos autores indicaron que el incremento en el CMS incrementa la producción de leche; este comportamiento se encontró en el presente estudio con las cabras suplementadas con AO.

7.3.2. *Parámetros bioquímicos de la sangre*

En el análisis del perfil bioquímico de la sangre de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado, este tuvo efecto ($P < 0.05$) en los triacilglicéridos y Ca (Tabla 25). Las otras variables no se afectaron ($P > 0.05$) por los tratamientos. Las cabras suplementadas con AO puro presentaron el menor contenido de triacilglicéridos y Ca, pero el AON incrementó los valores de estas variables en la sangre de las cabras. Si se considera un error experimental del 10% ($\alpha = 0.10$) por el tipo de experimento en campo para rechazar H_0 (CON = AON = AO), entonces NUS, urea y TGP serían diferentes entre los tratamientos, notándose que las cabras del grupo CON y AO tuvieron valores bajos con respecto al grupo de cabras AON.

Hasta el momento no existen estudios que reporten el perfil bioquímico de la sangre de cabras lecheras suplementadas con AO. En relación, Kholif et al. (2012) encontraron que el aceite esencial (2 mL/animal/día) de jengibre disminuyó la albumina, actividad de la globulina y aumentó urea en suero, mientras que el aceite de canela aumentó glucosa, disminuyó el colesterol y no se afectaron los indicadores de daño hepático. Sin embargo, sus resultados no fueron similares a los presentados en este estudio. Por otra parte, Vizzotto et al. (2021) reportaron aumento en Ca por efecto del AO en el periodo de parto cuando evaluaron 10 g del extracto de orégano/vaca/día y TV sobre metabolitos sanguíneos en vacas Jersey lactantes durante el periodo de transición. Este efecto en Ca de la sangre también fue encontrado en este estudio con AO en dietas para las cabras. Estos resultados pueden atribuirse a lo indicado por Liesegang et al. (2007), que durante la lactación se observa un incremento en la demanda de Ca debido a la síntesis de leche, lo que disminuye las concentraciones séricas de Ca, afectando así el metabolismo mineral y esquelético. Lo anterior concuerda con lo observado en el presente estudio, ya que los tratamientos CON y AON presentaron los valores de Ca más elevados, mientras que AO los valores más bajos, ya que este grupo obtuvo mayor producción de leche. Estudios similares no han reportado el efecto de AO y AON en los triglicéridos sanguíneos pero los cambios encontrados en este estudio podrían atribuir el aumento de triglicéridos al quitosano, ya que AON aumentó los triglicéridos en sangre y AO los disminuyó.

Tabla 25. Perfil bioquímico de la sangre de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado durante 12 días de experimentación.

Variable ¹	Tratamiento ²				P-value
	CON	AON	AO	EEM	
Glucosa (mg/dl)	62.60	65.60	56.20	3.04	0.124
NUS (mg/dl)	12.60	17.20	13.00	1.49	0.093
Urea (mg/dl)	26.00	36.20	27.40	3.26	0.095
Creatinina (mg/dl)	0.32	0.36	0.32	0.05	0.783
Ácido úrico (mg/dl)	1.22	1.40	1.20	0.07	0.121
Colesterol (mg/dl)	65.80	68.00	66.25	7.34	0.978
Triglicéridos (mg/dl)	21.40 ^{ab}	31.60 ^a	18.20 ^b	2.88	0.017
Bilirrubina total (mg/dl)	0.28	0.40	0.26	0.05	0.159
Bilirrubina directa (mg/dl)	0.08	0.12	0.06	0.02	0.178
Bilirrubina indirecta (mg/dl)	0.20	0.28	0.20	0.04	0.272
Proteínas totales (g/dl)	5.26	5.88	4.82	0.38	0.180
Albumina (g/dl)	3.00	3.30	2.80	0.21	0.273
Globulina (g/dl)	2.26	2.58	2.02	0.21	0.218
TGO (U/L)	26.80	52.80	41.80	11.70	0.320
TGP (U/L)	12.80	24.20	15.25	3.56	0.089
LDH (U/L)	282.50	421.80	317.20	49.13	0.158
Fosfatasa alcalina (U/L)	165.80	114.40	221.80	59.33	0.457
Ca (mg/dl)	8.72 ^{ab}	9.18 ^a	8.66 ^b	0.12	0.023
P (mg/dl)	3.84	4.16	3.52	0.38	0.513

¹NUS: Nitrógeno ureico en sangre; TGO: Transaminasa glutámico oxalacética; TGP: Transaminasa glutámico-pirúvica; LDH: Lactato deshidrogenasa; Ca: Calcio; P: Fósforo.

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en filas (n = 5 cabras por tratamiento) con letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos (P < 0.05).

7.3.3. *Biometría hemática*

En la biometría hemática de cabras suplementadas durante 12 días de estudio con aceite de orégano puro y nanoparticulado no fue encontrada diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos (Tabla 26). En otros estudios de cabras (Paraskevakis, 2015) y vacas lecheras (Bosco-Stivanin et al., 2019; Vizzotto et al., 2021) suplementadas con AO no evaluaron la biometría hemática. Los resultados obtenidos en el presente estudio de cabras suplementadas con AO puro y nanoparticulado contrastan a los reportados por Kahn & Line (2011) debido a que el conteo de eritrocitos se encontró bajo (rango normal: $8-10 \times 10^6$ x mL), mientras que VCM (rango normal: 16-25 fl) y CMH (rango normal: 5.2 – 8.0 pg) resultaron altos. Además, Latimer et al. (2011) mencionaron que valores bajos de eritrocitos indican anemia, VCM elevado indica macrocitos (células largas e inmaduras) y valores normales de CMHC indican normocitosis. Por lo tanto, en este estudio de cabras suplementadas con AO es categorizada como anemia macrocítica normocítica, misma que puede estar asociada a una deficiencia de vitamina B12 (Mpofu et al., 2020). Asimismo, el valor de eritrocitos permite la determinación de VCM y CMH, por lo que al resultar baja la concentración eritrocitaria, estos valores se ven alterados (Latimer et al., 2011). Además, múltiples factores pueden alterar los parámetros hematológicos, como la fase de lactación de las cabras (El-Tarabany et al., 2016), el estado fisiológico (Azab et al., 1999), la raza (Piccione et al., 2014) y la dieta (Oni et al., 2012).

Tabla 26. Biometría hemática de la sangre de cabras suplementadas durante 12 días de estudio con aceite de orégano puro y nanoparticulado.

Variable ¹	Tratamiento ²				P-value
	CON	AON	AO	EEM	
Parámetros eritrocitarios					
Eritrocitos (1.000.000/mL)	2.56	2.66	2.88	0.16	0.375
Hemoglobina (mg/dL)	8.780	9.28	9.12	0.30	0.512
Hematocrito (%)	25.80	27.20	28.60	1.31	0.351
VCM (fl)	101.00	103.00	100.80	5.57	0.954
CMH (pg)	34.40	35.20	32.20	1.48	0.362
CMHC (%)	34.20	34.40	32.20	1.52	0.544
ADE (%)	23.08	22.86	22.76	0.46	0.881
Parámetros leucocitarios					
Leucocitos (1.000/mL)	16.12	15.74	18.20	1.21	0.388
Linfocitos (%)	46.80	42.40	41.60	2.34	0.278
Monocitos (%)	6.20	7.00	6.20	0.51	0.463
Basófilos (%)	0.60	1.00	1.00	0.14	0.110
Eosinófilos (%)	3.80	3.00	2.80	0.572	0.449
Neutrófilos (%)	42.60	46.60	48.40	2.89	0.379
Neutrófilos en banda (%)	4.60	4.80	5.00	0.52	0.862
Neutrófilos segmentados (%)	38.00	41.80	43.40	3.10	0.471

¹VCM: Volumen corpuscular medio; CMH: Concentración media de hemoglobina; CMHC: Concentración media de hemoglobina corpuscular; ADE: Anchura distribución de eritrocitos.

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

7.3.4. Composición de la leche cruda

La composición de la leche cruda de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en 12 días de experimentación mostró diferencia significativa ($P < 0.05$; Tabla 27) en los grupos experimentales de las cabras. Los tratamientos AO y AON incrementaron el pH, contenido de agua, el punto de congelación (PCo) y los sólidos no grasos (SNG), por lo tanto, aumentaron la proteína, lactosa y sales, así mismo la densidad. En relación, las cabras del tratamiento CON tuvieron más sólidos totales (ST) y grasa. Entonces, AO presentó los contenidos más altos en agua, PCo, SNG, proteína, lactosa, sales y densidad, pero resultó en menor contenido de ST y grasa.

Tabla 27. Composición de la leche cruda de cabras suplementadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado en 12 días de experimentación.

Variable ¹	Tratamiento ²				P-value
	CON	AON	AO	EEM	
pH	6.62 ^b	6.70 ^a	6.69 ^a	0.01	0.000
Agua (%)	88.80 ^b	89.38 ^{ab}	89.58 ^a	0.21	0.039
PCo (°C)	-0.54 ^a	-0.55 ^{ab}	-0.57 ^b	0.01	0.024
ST (%)	11.20 ^a	10.62 ^{ab}	10.42 ^b	0.21	0.039
SNG (%)	8.41 ^b	8.57 ^{ab}	8.84 ^a	0.09	0.003
Grasa (%)	2.79 ^a	2.05 ^b	1.58 ^b	0.18	0.000
Proteína (%)	3.10 ^b	3.15 ^{ab}	3.25 ^a	0.03	0.004
Lactosa (%)	4.71 ^b	4.82 ^b	4.98 ^a	0.05	0.001
Sales (%)	0.72 ^b	0.73 ^{ab}	0.75 ^a	0.01	0.006
Densidad (kg/l)	1.0281 ^b	1.0286 ^{ab}	1.0292 ^a	0.00	0.022

¹pH: Potencial de hidrógeno; Pco: Punto de congelación; ST: Sólidos totales; SNG: Sólidos no grasos.

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en filas (n = 5 cabras por tratamiento) con letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Lejonklev et al. (2016) obtuvieron similares aumentos de proteína en leche de vaca suplementadas con 0.2 y 1.0 g/kg de AO, pero contrastaron con el resto de los componentes. Esta variación puede deberse a la suplementación del orégano y a sus componentes bioactivos de 59.4% p-Cimeno, 6.2% sesquiterpenos y 34.4% otros monoterpenos (Lejonklev et al., 2016); mientras que el utilizado en este estudio fue de 65.20% carvacrol, 10.99% p-cimeno y 10.26% timol. Estos componentes podrían alterar la función ruminal y consecuentemente los componentes de la leche formados durante la biosíntesis de leche. Por otro lado, Kholif et al. (2012) encontraron similares efectos en proteína, grasa y SNG cuando evaluaron el efecto de AE de ajo, canela y jengibre (2 mL/cabeza/día) en 28 cabras lactantes Damasco durante 90 días. Dichos autores demostraron que los AE (ajo, canela y jengibre) disminuyeron la grasa en leche; mismo resultado fue obtenido en el presente estudio cuando 300 ppm de AO puro y nanoparticulado fue suplementado en las dietas de cabras Alpino Francés. Esta reducción de la grasa en la leche se puede atribuir a la menor proporción de acetato ruminal y acetato a propionato en el sistema de las cabras que recibieron AE a través de las dietas (Kholif et al., 2012). Además, estudios reportaron que la suplementación con AE en las dietas aumentan el contenido de proteína en la leche (Spanghero et al., 2008; Kholif et al., 2012). Con lo indicado anteriormente, y considerando que durante la síntesis de proteínas en la célula mioepitelial se necesitan fosfatos de calcio para unir las submicelas y formar las micelas de caseínas (Fox et al., 2015), entonces al incrementarse las proteínas en leche se incrementa el contenido de calcio, lo cual se mejoró en las cabras suplementadas con AO puro, ya que este tratamiento presentó más proteína y sales (Tabla 27); este tratamiento presentó más CDA y CAg, lo que indica más metabolismo y disponibilidad de nutrientes para sintetizar los componentes de la leche (proteína, grasa, lactosa y sales minerales) en las células mioepiteliales de los alveolos. Entonces, puede indicarse que se sintetizaron más aminoácidos, iones calcio, lactosa y ácidos grasos durante la biosíntesis de la leche en las células mioepiteliales de los alveolos de las glándulas mamarias de las cabras que se suplementaron con AO puro en las dietas. Ha sido reportado que el porcentaje de lactosa en la leche se incrementa con la suplementación de AE (Santos et al., 2010; Kholif et al., 2012). Este comportamiento también fue encontrado en el presente estudio con AE de orégano puro y nanoparticulado, lo cual puede relacionarse durante la síntesis de los

componentes de la leche. Las enzimas que regulan la síntesis de lactosa en el aparato de Golgi de la célula mioepitelial son la α -lactoalbúmina y lactosa sintetasa (Mellenberger et al., 1973; Fox et al., 2015), y es probable que la actividad de estas enzimas incremente por la inclusión de AO en la dieta, evidenciado por el aumento de lactosa por este tratamiento del presente estudio. Por otro lado, la concentración de lactosa en la leche está inversamente relacionada con las concentraciones de lípidos y proteínas, lo que refleja el hecho de que la síntesis de lactosa atrae agua hacia las vesículas de Golgi, diluyendo así las concentraciones de proteínas y lípidos en los constituyentes de la sal soluble excretada (Fox et al., 2015). Fox et al. (2015) indicaron que el contenido normal de lactosa en leche de cabra es 4.1%, grasa 4.1-4.5% y proteínas 2.9%. En el presente estudio el valor de lactosa fue superado (4.82% AON y 4.98% AO) por lo que se obtuvo una reducción en la grasa (2.05% AON y 1.58% AO).

Giannenas et al. (2011) investigaron el efecto de una mezcla de AE (50, 100 y 150 mg/kg de MS; Crina Ruminants, DSM, Basilea, Suiza) en borregas Chios lactantes, sin encontrar efecto en el pH de la leche, contrario al presente estudio. El rango de pH para leche de cabra se encuentra entre 6.50 - 6.80 e influye en la viscosidad y estabilidad de la leche para evitar la precipitación de proteínas (Park, 2007). El punto de congelación para leche de cabra oscila entre 0.540 – 0.573 °C, mientras que la densidad entre 1.029–1.039 kg m⁻³ (Park et al., 2006), los cuales fueron similares a CON y AO, a excepción de AON en la densidad, cuyo valor se encontró ligeramente abajo del rango normal.

Vizzoto et al. (2021) no obtuvieron efecto de AO y TV para ST (g/100 g) en vacas Jersey. En este estudio con AO y AON en dietas se encontró efecto en los ST, donde estos tratamientos obtuvieron menos ST, los cuales fueron ligeramente menores a los reportados por Vizzoto et al. (2021). Kholif et al. (2017) encontraron efecto en ST cuando evaluaron la adición de romero y zacate limón en la dieta (10 g/cabeza/día) de cabras Damascus incrementando los ST. Estudios similares con cabras lecheras (Paraskevakis, 2015) no han reportado el contenido de sales y agua en la dieta de cabras suplementadas con AO. En este estudio, el contenido de agua fue mayor para los grupos AO y AON, lo cual puede atribuirse al incremento de consumo de agua de las cabras que se suplementaron con el AO puro y nanoparticulado, aumentando así el contenido de agua en leche y diluyendo la

cantidad de ST porque los grupos experimentales (AO y AON) obtuvieron menor contenido de grasa en leche.

7.3.5. Ajuste del rendimiento productivo de la leche cruda

El rendimiento de los componentes de leche corregida por grasa al 4% (LCG 4%), energía bruta en leche (EBL) y grasa de cabras alimentadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado se muestra en el Tabla 28. La LCG 4%, EBL y grasa resultaron diferentes ($P < 0.05$) entre los tratamientos. Las cabras de CON obtuvieron los valores más altos y AO los más bajos en estas variables. La corrección de los ST, SNG, proteína y lactosa no se afectaron ($P > 0.05$) por la suplementación de aceite de orégano.

Tabla 28. Rendimiento productivo de leche de cabras suplementadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado.

Variable ¹	Tratamiento ²			EEM	P-value
	CON	AON	AO		
LCG 4% (kg/d)	1.56 ^a	1.38 ^{ab}	1.31 ^b	0.06	0.023
EBL (kcal/kg)	613.90 ^a	553.30 ^{ab}	523.60 ^b	17.97	0.003
ST (kg/d)	0.44	0.41	0.46	0.03	0.559
SNG (kg/d)	0.34	0.33	0.40	0.03	0.235
Grasa (kg/d)	0.11 ^a	0.08 ^{ab}	0.07 ^b	0.01	0.003
Proteína (kg/d)	0.12	0.12	0.15	0.01	0.238
Lactosa (kg/d)	0.19	0.19	0.22	0.02	0.226

¹4% LCG: Leche corregida por grasa al 4%; EBL: Energía bruta en leche; ST: Sólidos totales; SNG: Sólidos no grasos.

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en filas (n = 5 cabras por tratamiento) con letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Tekippe et al. (2011) no encontraron efecto en la LCG 3.5% de vacas Holstein suplementadas con 500 g/d de hojas secas de *Origanum vulgare L*, contrastando con LCG 4% del presente estudio, porque disminuyó en los tratamientos de AO y AON. Estos autores indicaron que el aumento de LCG es debido a un mayor suministro de energía metabolizable como resultado de la disminución en la producción de metano. Un menor suministro de energía metabolizable puede explicar el resultado de LCG en el presente estudio. Estudios similares (Tekippe et al., 2011; Paraskevakis, 2015; Bosco-Stivanin et al., 2019; Vizzoto et al., 2021) no evaluaron la EBL. Sin embargo, Kholif et al. (2017) reportaron incrementos de EBL, ST, SNG, grasa, proteína y lactosa en leche de cabras Damasco suplementadas con romero y zacate limón (10 g/ cabeza/ día). En el presente trabajo, AO y AON disminuyeron la EBL pudiéndose relacionar con el contenido de grasa en leche.

Tekippe et al. (2011) encontraron diferencia en el rendimiento de la grasa en vacas lecheras Holstein, este comportamiento también se obtuvo en el presente estudio. En contraste, Paraskevakis (2015) no encontraron efectos en variables productivas. Diversos autores (Bodas et al., 2012; Salem et al., 2014; Kholif et al., 2017) mencionan que los compuestos fenólicos de los AE alteran la producción y composición de la leche, ya que mejoran los procesos de fermentación ruminal al crear un ambiente estrictamente anaerobio. Esto porque las condiciones anaeróbicas del rumen permiten actividades metabólicas encaminadas a la producción de ácidos grasos volátiles; por lo que el piruvato puede actuar como captador de electrones reduciéndose más para lograr la regeneración del NAD y la retirada del exceso de electrones, con la consiguiente producción adicional de ATP, iniciando diferentes rutas metabólicas que conducen a la formación de AGV (Klein et al., 2013). En relación, ha sido comprobado que el aumento de ácido acético incrementa el contenido de grasa en leche al igual que el ácido butírico, mientras que el incremento de ácido propiónico tiene efectos negativos en el contenido de grasa en leche (Dijkstra et al., 1994). Los AGV son absorbidos por las papilas ruminales, posteriormente viajan a través del sistema circulatorio donde son distribuidos a distintos tejidos corporales, entre ellos la glándula mamaria (Klein et al., 2013). El acetato es el principal precursor de la síntesis de ácidos grasos en la célula mioepitelial de los rumiantes, posteriormente la acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa regulan la lipogénesis

(Rodwell et al., 2016). Es probable que la disminución de la grasa en leche por parte de los tratamientos experimentales en este estudio sea producto de una alta concentración de ácido propiónico lo que disminuyó el contenido graso en la leche de cabras suplementadas con AO puro y nanoparticulado.

7.3.6. Capacidad antioxidante de leche cruda

La Tabla 29 muestra los resultados del efecto del AO y AON sobre la capacidad antioxidante (CAx) y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante 12 días de experimentación. La CAx, el % inhibición (ABTS) y los fenoles totales (FT) mostraron diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos. El grupo CON mostró mayor CAx, % inhibición y FT; sin embargo, no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre AON y AO para estas variables.

Tabla 29. Impacto del aceite de orégano puro y nanoparticulado sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante 12 días.

Variable ¹	Tratamiento ²			EEM	P-value
	CON	AON	AO		
ABTS• (mM Trolox /mL)	1,348.40 ^a	1,211.90 ^b	1,144.40 ^b	21.73	0.000
Inhibición (%)	60.16 ^a	54.00 ^b	50.96 ^b	0.98	0.000
Fenoles (EAG/L)	1,321.80 ^a	1,172.20 ^b	1,118.10 ^b	22.00	0.000

¹ABTS•: Capacidad antioxidante mediante ensayo del ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico); Inhibición: Porcentaje de inhibición del radical mediante ABTS; Fenoles: Concentración de compuestos fenólicos totales expresados en equivalentes de ácido gálico por litro.

² CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media

^{a-b} Medias en la misma fila con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo ($P < 0.05$).

Estudios similares (Paraskevakis, 2015; Vizzoto et al., 2021) no han evaluado la CAx mediante ABTS o FT en leche de animales suplementados con AO y AON. Paraskevakis (2015) encontraron diferencia en la CAx (FRAP) de leche de cabras Alpinas multíparas suplementadas con *Origanum vulgare ssp. hirtum* (30 g de hoja, equivalentes a 1 mL

AO/cabeza/día), y atribuyeron esto a que los AE pueden transferirse al torrente sanguíneo, y en consecuencia a la leche a través de la absorción en el sistema digestivo y exhiben propiedades antioxidantes incluso en cantidades menores en la leche y el queso (De Feo et al., 2006; Pizzoferrato et al., 2007; Paraskevakis, 2015). Sin embargo, este efecto no fue observado bajo las condiciones de este estudio con 300 ppm de AON y AO. La cantidad de FT también fue menor para los tratamientos experimentales. Giller et al. (2020) evaluaron un producto comercial en polvo que contenía AE de eucalipto, tomillo y anís (25 g / día = 5 g de AE) en 24 vacas lecheras y no reportaron diferencia en FT.

Las variables de CAx y FT en leche cruda de cabra durante diferentes periodos (d 11, d 14, d 18 y d 22) son mostradas en el Tabla 30. El efecto fijo tratamiento (T_i) y tiempo (δ_j) y su interacción ($T\delta_{ij}$) fue evaluada. El T_i , δ_j y la ($T\delta_{ij}$) fueron significativas ($P < 0.05$) para CAx, % inhibición y FT. En el d 11 fue encontrada diferencia ($P < 0.05$) en CAx y % inhibición. El grupo CON incrementó ($P < 0.05$) estas variables en contraste con AON y AO; mismo comportamiento fue observado en los días 18 y 22; sin embargo, en AON no fue diferente ($P > 0.05$) a CON o AO. En FT fue obtenida diferencia ($P < 0.05$) los días 14, 18 y 22. En la mayoría de estos periodos, CON tuvo mayor ($P < 0.05$) FT con respecto a los demás tratamientos, pero en el d 14 AON no fue diferente ($P > 0.05$) a CON o AO.

Tabla 30. Efecto del aceite de orégano puro y nanoparticulado sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante en diferentes periodos.

Variable / Trat [†]	Días				P-values [§]		
	11	14	18	22	Ti	δj	(Tδ) _{ij}
ABTS• (mM Trolox /mL)					0.000	0.000	0.000
CON	1,688.90 ^a	1,075.60	1,337.50 ^a	1,311.30 ^a			
AON	1,391.70 ^b	1,038.40	1,193.90 ^b	1,218.00 ^{ab}			
AO	1,271.80 ^b	1,118.90	1,079.90 ^b	1,116.80 ^b			
EEM	45.93	33.67	36.10	43.70			
P-value	0.000	0.253	0.000	0.012			
Inhibición (%)					0.000	0.000	0.000
CON	75.51 ^a	47.86	59.67 ^a	58.49 ^a			
AON	62.11 ^b	46.18	53.19 ^b	54.28 ^{ab}			
AO	56.70 ^b	49.81	48.05 ^b	49.71 ^b			
EEM	2.07	1.52	1.63	1.97			
P-value	0.000	0.253	0.000	0.012			
Fenoles (EAG/L)					0.000	0.000	0.024
CON	1,353.50	1,163.10 ^a	1,309.30 ^a	1,461.10 ^a			
AON	1,290.20	1,085.70 ^{ab}	1,125.50 ^b	1,187.20 ^b			
AO	1,184.30	1,019.50 ^b	1,177.50 ^b	1,091.10 ^b			
EEM	51.80	23.80	34.90	53.80			
P-value	0.077	0.001	0.002	0.000			

[†] ¹ABTS•: Capacidad antioxidante mediante ensayo del ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico); Inhibición: Porcentaje de inhibición del radical mediante ABTS; Fenoles: Concentración de compuestos fenólicos totales expresados en equivalentes de ácido gálico por litro; CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

[§] T_i: Efecto del i-ésimo tratamiento; δ_j: Efecto del j-ésimo tiempo de evaluación; (Tδ)_{ij}: Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y j-ésimo tiempo de evaluación.

^{a-b} Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren significativamente entre tratamientos en cada tiempo (P < 0.05).

Este es el primer estudio en desglosar el efecto del aceite de orégano puro y nanoparticulado sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en leche cruda de cabra durante el tiempo. Por lo que puede indicarse que la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos disminuyen en la leche de cabras que se suplementaron con AO puro y nanoparticulado (AO y AON) a través del tiempo a los 11, 14, 18 y 22 días. Entonces puede inferirse que el AO afecta el metabolismo de las cabras y por lo tanto las propiedades de la leche al biosintetizarse en las células mioepiteliales.

7.3.7. Variables fisicoquímicas de la leche ultrapasteurizada

Las variables fisicoquímicas de leche ultrapasteurizada de cabras alimentadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado resultaron diferentes ($P < 0.05$) en pH, luminosidad (L^*), amarillez (b^*) y Chroma, pero no ($P > 0.05$) en tendencia al color rojo (a^*) y ángulo Hue (Tabla 31). El pH y L^* de las cabras se incrementaron en el tratamiento AON, pero b^* y Chroma disminuyeron en este grupo experimental. El grupo CON presento el menor pH y L^* pero más b^* y Chroma.

Tabla 31. Variables fisicoquímicas de leche ultrapasteurizada de cabras alimentadas durante 12 días con aceite de orégano puro y nanoparticulado.

Variable ¹	Tratamiento ²				P-value
	CON	AON	AO	EEM	
pH	6.47 ^b	6.68 ^a	6.60 ^a	0.03	0.000
L^*	92.96 ^b	95.74 ^a	92.60 ^b	0.92	0.042
a^*	-1.50	-1.60	-1.91	0.23	0.452
b^*	2.75 ^a	2.11 ^b	2.55 ^{ab}	0.18	0.047
Chroma	3.53 ^a	2.87 ^b	3.46 ^a	0.17	0.017
Hue	138.01	139.02	140.01	3.47	0.921

¹pH: Potencial de hidrógeno; L^* : Luminosidad; a^* : Tendencia color rojo; b^* : Tendencia color amarillo; Chroma: Índice de saturación; Hue: Ángulo Hue (tonalidad).

²CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media.

^{a-b} Medias en filas ($n = 5$ cabras por tratamiento) con letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Este es el primer estudio que evalúa las variables fisicoquímicas de leche ultrapasteurizada de cabras suplementadas con aceite de orégano. No existen estudios para comparar los resultados obtenidos con otros AE, pero con AO suplementado en las cabras se afectó el pH, L*, b* y saturación (Chroma) de la leche. Los resultados obtenidos en b* y Chroma pueden ser debido a que estos tratamientos presentaron menor contenido de grasa en leche, los cuales pigmentan (citocromos) el color de la leche (McDermott et al., 2016); esto porque los grupos AO y AON presentaron los valores más bajos de grasa en leche. Con los valores altos en pH de AO y AON puede indicarse que se mejora la estabilidad de la leche y vida de anaquel. Ya que el descenso del pH de la leche acorta el tiempo de coagulación debido a la acidez (ácido láctico) de una leche con menor pH (Santos-Moreno, 2007). La L* de la leche fue mayor en los grupos experimentales de este trabajo. Esto se puede atribuir al AO y a lo reportado por Scarso et al. (2017), un valor de L* más alto se asocia con a* y b*. Así mismo, la L* es afectada por el color blanco de la leche, producto de la dispersión y difusión de la luz debido a las micelas de caseína (McDermott et al., 2016).

7.3.8. Evaluación sensorial por atributos de la leche ultrapasteurizada

En la prueba sensorial de consumidor por atributos de leche de cabras ultrapasteurizada alimentadas con AO y AON por 12 días no fueron encontradas diferencias significativas ($P > 0.05$; Tabla 32). Sin embargo, considerando un $\alpha = 0.10$ para rechazar H_0 , la cremosidad de la leche sería diferente entre los grupos experimentales.

Lejonklev et al. (2016) evaluaron el efecto (0.2 y 1.0 g de aceite/kg MS) de AE de semillas de comino (*Carum carvi*) y orégano (*Origanum vulgare*) en la suplementación de vacas Holstein Danesas para evaluar sensorialmente el aroma fresco, aroma a maíz, aroma de almacenado, aroma a leche UHT, sabor fresco y sabor de almacenado de la leche. Estos autores encontraron diferencia en los atributos y describen que los tratamientos con AE afectan el aroma y sabor de la leche. En el presente estudio no hubo diferencias; sin embargo, Lejonklev et al. (2016) mencionaron que la adición de AO mejoró el sabor. No existen otros estudios donde reporten evaluación de atributos sensoriales de la leche proveniente de animales suplementados con AO y AON.

Tabla 32. Evaluación sensorial de leche de cabras ultrapasteurizada alimentadas con aceite de orégano puro y nanoparticulado por 12 días.

Variable	Tratamiento ¹			P-value
	CON	AON	AO	
Color blanco	4.0	4.0	4.0	0.549
Olor	4.0	4.0	4.0	0.692
Sabor dulce	4.0	4.0	4.0	0.882
Cremosidad	4.0	4.0	4.0	0.074
Aceptabilidad global	4.0	4.0	4.0	0.444

¹CON: Dieta control (sin aceite de orégano); AON: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano nanoparticulado; AO: Dieta con 300 ppm de aceite de orégano puro; EEM: Error estándar de la media. Medianas en filas obtenidas por el método no paramétrico Friedman (1: me disgusta mucho; 2: me disgusta; 3: ni me gusta ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho).

8. CONCLUSIONES

Las NAO fueron encapsuladas y más estables. Las características de fermentación *in vitro* mejoraron con 300 ppm de AON y aumentó la digestibilidad de la materia seca a las 12, 36 y 48 h. 300 AO incrementó la digestibilidad de la fibra detergente neutro a las 36 h. 300 NQ obtuvo mayor pH ruminal a las 36 h. 300 AO produjo mayor NH₃ a las 12 h.

En la fase *in vivo*, AO fue más eficiente, aumentó la producción de leche e influyó en la bioquímica sanguínea (< Ca y triglicéridos). AO y AON tuvieron efecto sobre la composición química de la leche (< grasa, > proteína y lactosa). En las variables fisicoquímicas de color, la luminosidad aumentó con AON. La evaluación sensorial mostró que AON y AO no influyeron sobre los atributos sensoriales de la leche. La capacidad antioxidante de la leche disminuyó para AON y AO.

9. PERSPECTIVA

La encapsulación del AO en nanopartículas poliméricas ha sido nulamente estudiada en rumiantes y en especial en cabras lecheras. La presente investigación presenta resultados que pueden ser de utilidad para generar nuevas hipótesis para la inclusión de la nanotecnología al usar AO en la producción caprina lechera y su extrapolación en bovinos lecheros.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelnour, S. A., Alagawany, M., Hashem, N.M., Farag, M.R., Alghamdi, E.S., Hassan, F.U., Bilal, R.M., Elnesr, S.S., Dawood, M.A.O., Nagadi, S.A., Elwan H.A.M., Almasoudi, A.G. & Attia, Y.A. (2021). Nanominerals: Fabrication Methods, Benefits and Hazards, and Their Applications in Ruminants with Special Reference to Selenium and Zinc. *Animals*. 11 (7), 1-22
<https://doi.org/10.3390/ani11071916>
- Amagase, H., Petesch, B. L. & Matsuura, H. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*. 131 (3), 955S-962S
<https://doi.org/10.1093/jn/131.3.955S>
- Amigo, L. & Fontecha, J. (2011). Goat Milk. En Fucuay, J.W., Fox, P.F. & McSweeney, P. L.H. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. (2° Ed., pp 484–493). doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00313-7
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Ares, I. & Martínez, M.A. (2018). Regulatory aspects for the drugs and chemicals used in food-producing animals in the European Union. En Gupta, R.C., *Veterinary Toxicology* (3° Ed. pp.103-131)
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00007-6>
- ANKOM Technology. (2017^a) Neutral Detergent Fiber in Feeds - Filter Bag Technique (for A200 and A200I). Macedon, NY, EUA.
- ANKOM Technology. (2017^b). ANKOM Technology Method 3: *in vitro* True Digestibility using the DAISY II Incubator. Macedon, NY, EUA.
- ANKOM Technology. (2018) ANKOM RF Gas Production System Operator's Manual. Macedon, NY, EUA.
- AOAC (2012) International. Official methods of analysis of AOAC International. 19th ed. AOAC International.
- Arco-Pérez, A.; Ramos-Morales, E.; Yáñez-Ruiz, D. R.; Abecia, L. & Martín-García, A. I. (2017). Nutritive evaluation and milk quality of including of tomato or olive by-products silages with sunflower oil in the diet of dairy goats. *Animal Feed Science and Technology*, 232, 57–70. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.008>
- Azab, M.E. & Abdel-Maksoud, H.A. (1999). Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Research*, 34(1), 77–85. doi:10.1016/s0921-4488(99)00049-8

- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A. & Liang, L. (2015). Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, 15, 143-182. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>
- Ballard, C.S., Thomas, E.D., Tsang, D.S., Mandebvu, P., Sniffen, C.J., Endres, M.I. & Carter, M.P. (2001). Effect OF corn silage hybrid on dry matter yield, nutrient composition, *in vitro* digestion, intake by dairy heifers, and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 0–452. doi:10.3168/jds.s0022-0302(01)74494-3
- Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Beauchemin, K. A. & McAllister, T. A. (2007). Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87(3), 413–419. doi:10.4141/cjas07012
- Berthelot, M.P.E. (1859). Violet D’aniline. *Repert Chim Appl.* (1) 284
- Bhatia S. (2016) Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications. En Bathia S., *Natural Polymer Drug Delivery Systems*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41129-3_2
- Bhattarai, R. R. (2014). Importance of goat milk. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 7, 107-111. <https://doi.org/10.3126/jfstn.v7i0.11209>
- Bidot-Fernández, A. (2017). Composición, cualidades y beneficios de la leche de cabra: revisión bibliográfica. *Revista de Producción Animal*, 29(2), 32-41
- 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 (2012), 78-93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>
- Borges, L.D.A., Rocha-Júnior, V.R., Pinto-Monção, P., Soares, C. Mendes-Ruas, J. R., Silva1, F. V., Sampaio-Rigueiral, J. P., Mendes-Costa, N., Santos-Oliveira, L. L. & Oliveira-Rabelo, W. (2019) Nutritional and productive parameters of Holstein/Zebu cows fed diets containing cactus pear. *Asian Australian Journal of Animal Science*. (9) 1373-1380.
- Bosco-Stivanin S.C., Vizzotto, E.F., de Paris, M., Zanela, M.B., Passos, L.T., Veber-Angelo, I.D. & Fischer, V. (2019). Addition of oregano or green tea extracts into the diet for Jersey cows in the transition period: feeding and social behavior, intake and health status Plant extracts for cows in the transition period. *Animal Feed Science and Technology*. 257 (114265) <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114265>

- Boutoial, K., Ferrandini, E., Rovira, S., García, V. & López, M. B. (2013). Effect of feeding goats with rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp.) by-product on milk and cheese properties. *Small Ruminant Research*, 112 (1-3), 147–153. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.12.002
- Boutoial, K., Ferrandini, E., Rovira, S., García, V. & López, M. B. (2013). Effect of feeding goats with rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp.) by-product on milk and cheese properties. *Small Ruminant Research*, 112, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.002>
- Boutoial, K., Rovira, S., Garcia, V., Ferrandini, E. & López, M.B. (2012). Influence of feeding goats with thyme and rosemary extracts on the physicochemical and sensory quality of cheese and pasteurized milk. En Garrote, D. E. & Arede, G. J., *Goats: Habitat, Breeding and Management*. (1° Ed.) Nova Science Publisher.
- Broderick, G.A. & Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*. 63(1), 64-75 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82888-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8)
- Calabrò, S. (2015). Plant Secondary Metabolites. En Puniya, A.K., Singh, R. & Kamra, D.N. *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution* (1° Ed. pp. 153-159). Springer. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2401-3_11
- Cantú-Valdéz, J.A., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Martínez, C.A., Sinagawa-García, S.R., Quintero-Ramos, A., Hume, M.E., Herrera-Balandrano, D.D. & Méndez-Zamora, G. (2020). Mexican oregano essential oils as alternatives to butylated hydroxytoluene to improve the shelf life of ground beef. *Food Science & Nutrition*. 8, 4555–4564. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1767>
- Castanon, J. I. R. (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86 (11), 2466-2471. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00249>
- Castillejos, L., Calsamiglia, S. & Ferret, A. (2006). Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *Journal of Dairy Science*. 89 (7) 2649–2658. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72341-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72341-4)
- Chapman, K.W. (2010). Sensory evaluation of milk. En Griffiths M.W. *Improving the Safety and Quality of Milk*. (1°Ed. 159-180). doi:10.1533/9781845699437.2.159
- Chaves, A. V., Stanford, K., Gibson, L. L., McAllister, T. A. & Benchaar, C. (2008). Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 145 (1-4), 396–408. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.04.016

- Chen, H. & Yada, R. (2001). Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. *Trends in Food Science & Technology*. 22 (11), 585–594. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.004>
- Chiofalo, V., Liotta, L., Fiumanò, R., Benedetta, E.R. & Chiofalo, B. (2012). Influence of dietary supplementation of *Rosmarinus officinalis* L. on performances of dairy ewes organically managed. *Small Rumin. Res.* (104) 122–128.
- Cuvelier, M. E., Richard, H. & Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (5), 645-652. <https://doi.org/10.1007/BF02518121>
- Damodaran, S., Parkin, K. L. & Fennema, O. R. (2008). *Fennema's food chemistry*. CRC Press/Taylor & Francis.
- De Feo, V., Quaranta, E., Fedele, V., Claps, S., Rubino, R. & Pizza, C. (2006). Vegetal secondary metabolites in goat milk in relation to plant intake. *Italian Journal of Food Science*. 18, 1–8
- Dijkstra, J. (1994). Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Production Science*. 39 (1), 61–69 doi:10.1016/0301-6226(94)90154-6
- Duffield, T. F. & Bagg, R. N. (2000). Use of ionophores in lactating dairy cattle: a review. *The Canadian veterinary journal*. 41 (5), 388-394
- El-Tarabany, M. S., El-Tarabany, A. A. & Roushdy, E. M. (2016). Impact of lactation stage on milk composition and blood biochemical and hematological parameters of dairy Baladi goats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25 (8), 1632-1638. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.08.003>
- Erel, Ö. (2004) A novel automated method to measure total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 37 (4), 277–285 doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015
- Escareño, L., Salinas-Gonzalez, H., Wurzinger, M., Iñiguez, L., Sölkner, J. & Meza-Herrera, C. (2013). Dairy goat production systems. *Tropical Animal Health and Production*. 45, 17-34. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0246-6>
- Fang, Z. & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology* (21), 510–23.
- FAO (2000). *Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares. Manual de capacitación para trabajadores de campo en América Latina y el Caribe. (1° Ed.)* <http://www.fao.org/3/v5290s/v5290s00.htm#TopOfPage>

- Fondevila, M., Herrer, R., Casallas, M.C., Abecia, L. & Duchá, J.J. (2009) Silver nanoparticles as a potential antimicrobial additive for weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 150(3–4) 259–269
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.09.003>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). Datos sobre cultivos y productos de ganadería. [Software en línea].
<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2021). Datos sobre cultivos y productos de ganadería [Software en línea].
<http://www.fao.org/faostat/es/#data/TCL>
- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H. & O’Mahony, J.A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2° Ed). Springer International Publishing
- Fraj, A., Jaâfar, F., Marti, M., Coderch, L. & Ladhari, N. (2019). A comparative study of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/ microspheres: Preparation, physicochemical characterization, and storage stability. *Industrial Crops and Products*, 140, 111669. doi:10.1016/j.indcrop.2019.111669
- Fraser G. R., Chaves, A. V., Wang, Y., McAllister, T. A., Beauchemin, K. A. & Benchaar, C. (2007). Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. *Journal of Dairy Science*. 90 (5), 2315–2328. 10.3168/jds.2006-688
- García, V., Rovira, S., Boutoial, K. & López, M. B. (2014). Improvements in goat milk quality: A review. *Small Ruminant Research*, 121(1), 51–57. doi:10.1016/j.smallrumres.2013.12.034.
- Giannenas, I., Skoufos, J., Giannakopoulos, C., Wiemann, M., Gortzi, O., Lalas S. & Kyriazakis, I. (2011). Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. 94 (11), 5569–5577. doi:10.3168/jds.2010-4096
- Giller, K., Rilko, T., Manzocchi, E., Hug, S., Bolt, R. & Kreuzer, M. (2020) Effects of mixed essential oils from eucalyptus, thyme and anise on composition, coagulation properties and antioxidant capacity of the milk of dairy cows. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 29 (1), 3–10. <https://doi.org/10.22358/jafs/118208/2020>
- Gillian, B., Nielsen, J. H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M. D., Sanderson, R. & Leifert, C. (2008). Fatty acid and fat soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *Journal of the Science Food Agriculture*, 88, 1431-1441. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3235>

- Goiri, I., Garcia-Rodriguez, A. & Oregui, L. M. (2009). Effect of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of maize silage. *Animal Feed Science and Technology*, 148 (2-4), 276–287. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization, and *in vitro* release study. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 50–56. doi:10.1016/j.carbpol.2013.02.031
- Instituto nacional de estadística y geografía (INEGI). (2022). Compendio de Información Geográfica Municipal. [Software en línea]. <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=19>
- Jandal, J.M., (1996). Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 22 (2), 177–185 [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(96\)00880-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(96)00880-2)
- Jeness, R. (1980) Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*. 63 (10), 1605–1630. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83125-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83125-0)
- Kahn, C.M. & Line, S. (2011). *The Merck Veterinary Manual*. (11° Ed). Merck & Co: Whitehouse Station.
- Khan, I.T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M. & Hayat, M. J. (2019). Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids and Health Disease*. (18) 41, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0969-8>
- Kholif, A. E., Matloup, O. H., Morsy, T. A., Abdo, M. M., Abu Elella, A. A., Anele, U. Y. & Swanson, K. C. (2017). Rosemary and lemongrass herbs as phytogetic feed additives to improve efficient feed utilization, manipulate rumen fermentation and elevate milk production of Damascus goats. *Livestock Science*, 204, 39–46. doi:10.1016/j.livsci.2017.08.001
- Kholif, A., Gouda, G., Olafadehan, O. & Abdo, M. (2018). Effects of replacement of *Moringa oleifera* for berseem clover in the diets of Nubian goats on feed utilisation, and milk yield, composition and fatty acid profile. *Animal*, 12 (5), 964-972. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002336>
- Kholif, S. M., Morsy, T. A., Abdo, M. M., Matloup, O. H. & El-Ella, A. A. A. (2012). Effect of Supplementing Lactating Goats Rations with Garlic, Cinnamon or Ginger Oils on Milk Yield, Milk Composition and Milk Fatty Acids Profile. *Journal of Life Sciences*, 4(1), 27–34. doi:10.1080/09751270.2012.1188519

- Kim, D.O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.Y. & Lee, C.Y. (2003). Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6509–6515. doi:10.1021/jf0343074
- Kim, H., Jung, E., Lee, H. G., Kim, B., Cho, S., Lee, S., Kwon, I. & Seo, J. (2019). Essential oil mixture on rumen fermentation and microbial community – an *in vitro* study. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 32 (6), 808–814. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0652>
- Kim, H.J., Kim, S.H., Lee, J.K., Choi, C.H., Lee, H.S., Kang, H.G. & Cha, S.H. (2012). A novel mycotoxin purification system using magnetic nanoparticles for the recovery of aflatoxin B1 and zearalenone from feed. *Journal of Veterinary Science*. 13 (4), 363–369. 10.4142/jvs.2012.13.4.363
- Klein, B. G. (2013). *Digestion: The Fermentative Processes*. Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology (5^oEd). Elsevier Inc.
- Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E. & Etherton, T.D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*. 113 (9) 71–88. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00995-0)
- Latimer, K.S., Mahaffey, E.D. & Prasse, K.W. (2011). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology* (5^o Ed) Wiley-Blackwell
- Lejonklev, J., Kidmose, U., Jensen, S., Petersen, M.A., Helwing, A.L.F., Mortensen, G., Weisbjerg, M.R. & Larsen, M.K. (2016). Short communication: Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. *Journal of Dairy Science*. 99 (10) 7898-7903 doi:10.3168/jds.2016-10910
- Liesegang, A., Riner, K. & Boos, A. (2007). Effects of gestation and lactation on Vitamin D receptor amounts in goats and sheep. *Domestic Animal Endocrinology*. 33(2), 190–202. doi:10.1016/j.domaniend.2006.05.008
- López-Puga, J. C., Rico-Costilla, D. S., Sobrevilla-Hernández, G., Moreno-Degollado, G., Kawas, J. R. & Méndez-Zamora, G. (2021^a). Effects of copper levels on goat carcass traits and meat quality. *Small Ruminant Research*, 203, 106491. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106491>
- López-Puga, J. C., Valadez-Pineda, A., Kawas, J. R., Sinagawa-García, S. R., Sobrevilla-Hernández, G., Hernández-Martínez, S. P., Rico-Costilla, D. S. & Méndez-Zamora, G. (2021^b). Producción de leche de cabra en México y uso de aceites esenciales de plantas aromáticas en su producción. *TECNOCIENCIA Chihuahua*, 15(3), 234-245. <https://doi.org/10.54167/tecnociencia.v15i3.839>

- Macheboeuf, D., Morgavi, D. P., Papon, Y., Mousset, J.L. & Arturo-Schaan, M. (2008). Dose–response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 335–350. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.05.044
- Martínez-Martínez, R., Ortega-Cerrilla, M. E., Herrera-Haro, J.G., Kawas-Garza, J. R., Zarate-Ramos, J.J. & Robles-Soriano, R. (2015). Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia*, 40, 744-750.
- McDermott, A., Visentin, G., McParland, S., Berry, D. P., Fenelon, M. A. & De Marchi, M. (2016). Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict the color of bovine milk and the relationship between milk color and traditional milk quality traits. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3267–3273. doi:10.3168/jds.2015-10424
- Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, T.B. (2006). Affective tests consumer tests and in-house panel acceptance tests. En Meligaard, M.C., Carr, T. B. & Carr T.B., *Sensory Evaluation Techniques*. (4° Ed pp. 255-309) CRC Press.
- Mellenberger, R. W., Bauman, D. E. & Nelson, D. R. (1973). Metabolic adaptations during lactogenesis. Fatty acid and lactose synthesis in cow mammary tissue. *The Biochemical journal*. 136 (3), 741–748. <https://doi.org/10.1042/bj1360741>
- Mertens, D.R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC international*. 85(6), 1217–1240. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>
- Mpofu, T.J., Nephawe, K.A. & Mtileni, B. (2020) Gastrointestinal parasite infection intensity and hematological parameters in South African communal indigenous goats in relation to anemia. *Veterinary World*. 13(10), 2226-2233. doi:10.14202/vetworld.2020.2226-2233
- Mustonen, E.A., Tuori, M., Saastamoinen, I., Taponen, J., Wahala, K., Saloniemi, H. & Vanhatalo, A. (2009). Equol in milk of dairy cows is derived from forage legumes such as red clover. *British Journal of Nutrition*. 102 (11) 1552–1556. doi:10.1017/S0007114509990857
- Nahar, M., Dutta, T., Murugesan, S., Asthana, A., Mishra, D., Rajkumar, V., Tare, M., Saraf, S. & Jain, N.K. (2006). Functional polymeric nanoparticles: an efficient and promising tool for active delivery of bioactives. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 23(4):259–318. doi:10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v23.i4.10
- National Research Council (NRC) (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. National Academic Press. Washington D.C.

- National Research Council (NRC) (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids*. National Academic Press, Washington D.C.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S. & Garrido, M.D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): influence on lamb meat quality. *Meat Science*. 84, 23–29.
- NOM-062-ZOO-1999, 1999. Norma oficial Mexicana, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Acceso en Enero de 2019.
- Oba, M., & Allen, M. S. (1999). Evaluation of the Importance of the Digestibility of Neutral Detergent Fiber from Forage: Effects on Dry Matter Intake and Milk Yield of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 82(3), 589–596. doi:10.3168/jds.s0022-0302(99)75271-9
- Oni, A.O., Arigbede, O.M., Sowande, O.S., Anele, U.Y., Oni, O.O., Onwuka, I.C.F., Onifade, O.S., Yusuf, K.O., Dele, P.A. & Aderinboye, R.Y. (2012). Haematological and serum biochemical parameters of West African Dwarf goats fed dried cassava leaves-based concentrate diets. *Tropical Animal Health and Production*. 44, 483–490 <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9923-0>
- Pal, U. K., Mandal, P. K., Rao, V. K., & Das, C. D. (2011). Quality and utility of goat milk with special reference to India: An overview. *Asian Journal of Animal Sciences*, 5 (1), 56-63 doi:10.3923/ajas.2011.56.63
- Paraskevakis, N. (2015) Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) supplementation on blood and milk enzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. *Animal Feed Science and Technology*. 209, 90-97 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.001>
- Paraskevakis, N. (2017). Effects of dietary Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) supplementation on rumen fermentation, enzyme profile and microbial communities in goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 701–705. <https://doi.org/10.1111/jpn.12812>
- Park, Y.W. (2007b). Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68 (1-2) 73–87. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.09.015
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M. & Haenlein, G.F.W. (2007a). Physico- chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 88–113. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.09.013
- Piccione, G., Monteverde, V., Rizzo, M., Vazzana, I., Assenza, A., Zumbo, A. & Niutta P.P. (2014) Reference intervals of some electrophoretic and haematological parameters in Italian goats: comparison between Girgentana and Aspromontana

- breeds, *Journal of Applied Animal Research*, 42 (4), 434-439
doi:10.1080/09712119.2013.875914
- Pizzoferrato, L., Manzi, P., Marconi, S., Fedele, V., Claps, S. & Rubino, R. (2007). Degree of antioxidant protection: a parameter to trace the origin and quality of goats's milk and cheese. *Journal of Dairy Science*. 90, 4569–4574 doi:10.3168/jds.2007-0093
- Portela-Díaz, D. F. (2018). Importancia de la interacción de bacteriófagos y bacterias ruminales en el desarrollo productivo del rumiante. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 4 (2), 41-45.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9-10), 1231–1237. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Righi, F., Simoni, M., Foskolos, A., Beretti, V., Sabbioni, A. & Quarantelli, A. (2017). *In vitro* ruminal dry matter and neutral detergent fibre digestibility of common feedstuffs as affected by the addition of essential oils and their active compounds. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26(3), 204-212. <https://doi.org/10.22358/jafs/76754/2017>
- Rodwell, V. W., Kennelly, P. J., Bender, D., Botham, K. M., & Weil, P. A. (2018). *Harper's Illustrated Biochemistry* (3^o Ed.). McGraw-Hill.
- Rogošić, M., Mencer, H.J. & Gomzi, Z. (1996). Polydispersity index and molecular weight distributions of polymers. 32 (11), 1337–1344. doi:10.1016/s0014-3057(96)00091-2
- Russell, J. B., & Strobel, H. J. (1989). Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and environmental microbiology*, 55 (1) , 1-6. <https://doi.org/10.1128/aem.55.1.1-6.1989>
- Salem, A. Z. M., Kholif, A.E., Elghandour, M. M. Y., Buendía, G., Mariezcurrena, M.D., Hernandez, S.R. & Camacho, L.M. (2014). Influence of oral administration of *Salix babylonica* extract on milk production and composition in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*. 13 (1), 10-14 <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.2978>
- Santos, M.B., Robinson, P.H, Williams, P. & Losa, R. (2010) Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. *Animal Feed Science & Technology*. 157 (1-2) 64-71 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.02.001>
- Santos-Moreno A. (2007). *Leche y sus derivados* (2^o Ed). Trillas.

- Scarso, S., McParland, S., Visentin, G., Berry, D. P., McDermott, A., & De Marchi, M. (2017). Genetic and nongenetic factors associated with milk color in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7345–7361. doi:10.3168/jds.2016-11683
- Sekhon, B. S. (2014). Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, science and applications*, 7, 31–53. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39406>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2020). Anuario Estadístico de la Producción Ganadera. [Software en línea]. https://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/
- Smeti, S., Hajji, H., Bouzid, K., Abdelmoula, J., Muñoz, F., Mahouachi, M. & Atti, N. (2014). Effects of *Rosmarinus officinalis* L. as essential oils or in form of leaves supplementation on goat's production and metabolic statute. *Tropical Animal Health and Production*, 47, 451–457. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0721-3>
- Solaiman, S.G. (2010). *Milk Production. Goat Science and Production*. (1° Ed). Wiley-Blackwell
- Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N. & Camellini, C. (2008). Effect of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 145 (1-4) 364-374 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.048>
- Stone, H. & Sidel, J.L. (2004). *Sensory Evaluation Practices*. (2° Ed., pp. 1-17) Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-03318-2>
- Tekippe, J.A., Hristov, A. N., Heyler K. S., Cassidy T.W., Zheljazkov V.D., Ferreira J. F. S., Karnati, S.K. & Varga G.A. (2011). Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94 (10), 5065–5079. doi:10.3168/jds.2010-4095
- Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J. & Decker, E.A. (2000). Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 (5) 1473–1478. <https://doi.org/10.1021/jf991342v>
- Tyrrell, H.F. & Reid, J.T. (1965). Prediction of the Energy Value of Cow's Milk. *Journal of Dairy Science*. 48(9), 1215–1223. doi:10.3168/jds.S0022-0302(65)88430-2
- Udén, P., Robinson, P.H. & Wiseman, J. (2005). Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. *Animal Feed Science and Technology*. 118(3-4), 0–186. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.11.011

- Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., & Priolo A. (2008). Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 147 (1-3), 223-246. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.020>
- Villegas De Gante, A. & Santos Moreno, A. (2016). *Manual básico para elaborar productos lácteos*. (2° Ed). Trillas.
- Vizzotto E.F., Stivanin, S.C.B., de Paris, M., Passos L.T., Werncke D., Klein, C.P., Stone, V., Matté, C., Zanela, M.B. & Fischer, V. (2021). Supplementation with green tea and oregano extracts on productive characteristics, blood metabolites, and antioxidant status of Jersey cows during the transition period. *Animal* 15 (2), 100032. doi:10.1016/j.animal.2020.100032
- Vyas, S.P. & Khar, R.K. (2002) *Targeted and controlled drug delivery: Novel Carrier Systems*. (1° Ed.) CBS.
- Wallace, R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*. (63), 621–629.
- Wanapat, M., Cherdthong, A., Pakdee, P. & Wanapat, S. (2008). Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. *Journal of Animal Science*, 86 (12), 3497-3503. doi:10.2527/jas.2008-0885
- Wen-Shyan, S. (2001). Molecular Weight Averages and Polydispersity of Polymers. *Journal of Chemical Education*. 78(4), 554–0. doi:10.1021/ed078p554
- Westendarp, H. (2005). Essential oils for the nutrition of poultry, swine and ruminants. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*.(112) 375–380
- Yesilbag, D., Biricik, H., Cetin, I., Kara, C., Meral, Y., Cengiz, S. S., Orman, A. & Udum, D. (2016). Effects of juniper essential oil on growth performance, some rumen protozoa, rumen fermentation and antioxidant blood enzyme parameters of growing Saanen kids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101 (5), e67-e76. <https://doi.org/10.1111/jpn.12560>
- Zervas, G. & Tsiplakou, E. (2013). *Goat Milk*. En Park, Y.W. & Haenlein, G.F.W., *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*. (1° Ed pp. 498-518) John Wiley & Sons Ltd.
- Zhou, R., Wu, J., Lang, X., Liu, L., Casper, D. P., Wang, C. & Wei, S. (2020). Effects of oregano essential oil on *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *Journal of Dairy Science*. 103 (3) doi:10.3168/jds.2019-16611.

11. ANEXOS



Figura 20. Alimentación de cabras durante experimentación *in vitro*.



Figura 21. Cuidado de las cabras para experimentación *in vitro*.



Figura 22. Ordeño matutino de cabras durante experimentación *in vivo*.



Figura 23. Leche ultrapasteurizada de cabras alimentadas con los tratamientos experimentales.



Figura 24. Instalaciones y cuidados de las cabras durante experimentación *in vivo*.