



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO *Lippia graveolens* COMO NUTRACÉUTICO EN LA DIETA DE OVINOS EN CRECIMIENTO

ADRIÁN MUÑOZ CUAUTLE

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: **ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO *Lippia graveolens* COMO NUTRACÉUTICO EN LA DIETA DE OVINOS EN CRECIMIENTO**, realizada por el alumno: **Adrián Muñoz Cuautle** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



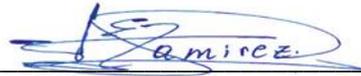
DR. MARÍA ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESOR



DR. JOSÉ GUADALUPE HERRERA HARO

ASESOR



DR. JACINTO EFRÉN RAMÍREZ BRIBIESCA

ASESOR



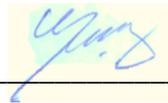
DR. JOSÉ LUIS FIGUEROA VELASCO

ASESOR



DR. CARLOS GUTIÉRREZ OLVERA

ASESOR



DR. MARCO ANTONIO MUÑOZ GUZMÁN

Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio 2020

ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO *Lippia graveolens* COMO NUTRACÉUTICO EN LA DIETA DE OVINOS EN CRECIMIENTO

Adrián Muñoz Cuautle, D.C.

Colegio de Postgraduados 2020

RESUMEN

El objetivo de estudio fue evaluar el efecto nutracéutico del aceite esencial de orégano (AEO), el cual se obtuvo de (ORE[®]) orégano mexicano (*Lippia graveolens*). Los compuestos fitoquímicos con mayor concentración fueron carvacrol, p-cimeno, cariofileno, y timol con porcentajes de 50.21, 29.13, 4.16 y 3.72%, respectivamente. Se realizaron tres experimentos para evaluar el AEO. En el primer trabajo se evaluaron tres dietas con la inclusión de 0 (testigo), 0.02 y 0.04% de AEO en el alimento de 39 ovinos machos con una edad promedio de tres meses. Se evaluaron el comportamiento productivo, la actividad antioxidante, algunas variables ruminales, rendimiento de la canal y vida de anaquel de la carne. Los datos se analizaron usando un diseño completamente al azar y la comparación de medias con la prueba de Tukey. Los resultados mostraron diferencias ($P < 0.05$) en el porcentaje de proteína cruda de la carne, vida de anaquel, y actividad antioxidante de la carne ($P < 0.05$) con la adición de 0.02 y 0.04% de AEO. En el segundo experimento se evaluó la actividad larvicida *in vitro* de AEO en nemátodos gastrointestinales de ovinos con la inclusión de 0.02 y 0.04% de AEO. Para determinar el porcentaje de efectividad se realizó el conteo de larvas muertas a las 24 h, la evaluación de los datos se realizó mediante una prueba de Kruskal Wallis, los resultados mostraron una efectividad del AEO de 100% en comparación con el tratamiento testigo ($P < 0.0001$). En el tercer experimento se determinó la producción *in vitro* de metano a diferentes tiempos, utilizando la inclusión de taninos condensados o AEO con diferentes dosis, los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo, los datos mostraron que el metano no se vio afectado por la inclusión de taninos condensados o las distintas dosis de AEO ($P > 0.05$). Se concluye que el AEO puede ser una alternativa como nutracéutico en la producción animal; sin embargo, se requiere una mayor investigación, para conocer las dosis adecuadas que maximicen sus efectos nutracéuticos.

Palabras clave: comportamiento productivo, antihelmíntico, rumen, metano, antioxidante. (Fuentes: AGROVOC, MeSH, NAL).

OREGANO ESSENTIAL OIL *Lippia graveolens* AS A NUTRACEUTIC IN THE RATION OF GROWING SHEEP

Adrián Muñoz Cuautle, D.C.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the nutraceutical effect of essential oregano oil (AEO), which was obtained from (ORE®) Mexican oregano (*Lippia graveolens*). The phytochemical compounds found in the highest concentration were carvacrol, p-cymene, caryophyllene, and thymol with percentages of 50.21, 29.13, 4.16, and 3.72%, respectively. Three experiments were performed in order to evaluate AEO. In the first experiment, three diets with the inclusion of 0 (control), 0.02 and 0.04% of AEO were fed to 39 male sheep with an average age of three months. It was evaluated the productive behavior, antioxidant activity, rumen variables, carcass quality, and shelf-life of the meat. Data were analyzed using a completely randomized design and mean comparison with the Tukey test. Results showed only differences ($P < 0.05$) on meat crude protein during shelf-life and on antioxidant activity ($P < 0.05$) with the addition of 0.02 and 0.04% of AEO. The second experiment was carried out to evaluate *in vitro* larvicidal activity of AEO in gastrointestinal nematodes of sheep, with the inclusion of 0.02 and 0.04% of AEO. Dead larvae count was performed at 24 h. Data were analyzed using a Kruskal Wallis test. Effectiveness of AEO was 100% compared to the control treatment ($P < 0.0001$). In the third experiment, *in vitro* evaluation of methane production was performed at different times, testing condensed tannins or AEO at different doses. Data were analyzed with a completely randomized design with repeated measures over time. The results showed that methane production was not affected by the inclusion of condensed tannins or the different doses of AEO ($P > 0.05$). It was concluded that AEO might be an alternative in animal production. However, it is necessary to carry out more investigations in order to find adequate doses to enhance its nutraceutical effects.

Key words: productive behavior, anthelmintic, rumen, methane, antioxidant. (Sources: AGROVOC, MeSH, NAL).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por otorgarme la beca para el desarrollo de mi estudio doctoral.

Al Colegio de Postgraduados, por ser la institución donde realice mis estudios de Doctorado.

A mi familia, por el apoyo en cada una de las decisiones que he tomado.

A los miembros de mi consejo particular, por el tiempo, apoyo y asesoramiento para la realización de este estudio.

A cada una de las personas que han formado parte de la convivencia del día a día; amigos, maestros, trabajadores, conocidos y desconocidos.

A la Dra. Yazmín Alcalá Canto y al Dr. Cuauhtémoc Nava Cuéllar de la Universidad Autónoma de México, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de esta investigación.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Justificación.....	2
Planteamiento del problema.....	2
Objetivos	3
<i>Objetivo general</i>	3
<i>Objetivos específicos</i>	3
Hipótesis.....	3
Literatura citada	4
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Uso de aceite esencial de orégano en aves.....	6
Uso de aceite esencial de orégano en cerdos	9
Uso de aceite esencial de orégano en rumiantes	10
<i>Ovinos</i>	10
<i>Bovinos</i>	12
<i>Caprinos</i>	13
Uso de aceite esencial de orégano en peces	14
Uso de aceite esencial de orégano en otras especies.....	15
Literatura citada	16
CAPÍTULO 1. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO EN LA DIETA DE OVINOS EN CRECIMIENTO	20
1.1 RESUMEN.....	20
1.2 ABSTRACT.....	20

2.3 INTRODUCCIÓN	21
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS	22
1.4.1 Localización	22
1.4.2 Aceite esencial de orégano	22
1.4.3 Unidades experimentales.....	22
1.4.4 Dietas, manejo alimenticio y variables de estudio.....	22
1.4.5 Variables ruminales.....	24
1.4.6 Balance de nitrógeno.....	24
1.4.7 Determinación de las características físico-químicas de la canal.....	24
1.4.8 Vida de anaquel.....	25
1.4.9 Actividad antioxidante.....	25
1.4.10 Análisis estadístico	25
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
1.5.1 Aceite esencial de orégano.....	25
1.5.3 Variables ruminales.....	28
1.5.4 Balance de nitrógeno.....	29
1.5.5 Determinación de las características físico-químicas de la canal.....	29
1.5.6 Vida de anaquel.....	31
1.5.7 Actividad antioxidante.....	33
1.6 CONCLUSIÓN	34
1.7 LITERATURA CITADA.....	35
CAPÍTULO 2. ACTIVIDAD LARVICIDA <i>in vitro</i> DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (<i>Lippia graveolens</i>) EN NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS	39
2.1 RESUMEN.....	39
2.2 ABSTRACT.....	39
2.3 INTRODUCCIÓN	39
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	40
2.4.1 Obtención de huevos.....	40
2.4.2 Obtención de larvas.....	40

2.4.3 Aceite esencial de orégano (AEO)	40
2.4.4 Mortalidad de larvas	41
2.4.5 Análisis estadístico	41
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
2.6 CONCLUSIONES	44
2.7 LITERATURA CITADA.....	45
CAPÍTULO 3. EFECTO <i>in vitro</i> DE LA ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO <i>Lippia graveolens</i> EN LA PRODUCCIÓN DE METANO.....	47
3.1 RESUMEN.....	47
3.2 ABSTRACT.....	48
3.3 INTRODUCCIÓN	49
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.4.1 Localización del área experimental	50
3.4.2 Tratamientos para la evaluación de producción de gas <i>in vitro</i>	50
3.4.2 Análisis químico de las dietas	50
3.4.3 Biodigestores	51
3.4.4 Medición de producción de metano (CH ₄) y dióxido de carbono (CO ₂).....	52
3.4.5 Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV's) y nitrógeno amoniacal (NH ₃)	52
3.4.6 Análisis estadístico	52
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
3.5.1 Producción de gas	52
3.5.3 Producción de ácidos grasos volátiles al incluir diferentes dosis de AEO.....	55
3.6 CONCLUSIONES	59
3.7 LITERATURA CITADA.....	60
CONCLUSIÓN GENERAL	64

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO 1

Cuadro 1.1 Ingredientes y composición química (g 100 ⁻¹ MS) de las dietas experimentales.....	23
Cuadro 1.2 Compuestos contenidos en el aceite esencial de orégano <i>L. graveolens</i>	26
Cuadro 1.3 Variables productivas de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO en la dieta.....	27
Cuadro 1.4 Variables ruminales de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO en la dieta.....	28
Cuadro 1.5 Balance de nitrógeno de ovinos alimentados con diferente porcentaje de inclusión de aceite esencial de orégano en la dieta.....	29
Cuadro 1.6 Rendimiento de la canal de ovinos alimentados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano en la dieta.....	30
Cuadro 1.7 Vida de anaquel de la carne de ovinos alimentados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano en la dieta.....	31
Cuadro 1.8 Valores de FRAP y TBARS en músculo <i>Longissimus dorsi</i> de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO.....	33

CAPÍTULO 2

Cuadro 2.1 Compuestos contenidos en el aceite esencial de orégano <i>L. graveolens</i> utilizado en la prueba in vitro.....	42
Cuadro 3.1 Composición y análisis químico de las dietas experimentales.....	51

CAPÍTULO 3

Cuadro 3.2 Producción de metano y bióxido de carbono in vitro al incluir taninos y diferentes dosis de AEO.....	54
Cuadro 3.3 Concentración de ácidos grasos volátiles (%) a las 6, 12, 24 y 48 h en dietas integrales de ovinos con inclusión de taninos y diferentes dosis de AEO.....	56

Cuadro 3.4 Nitrógeno amoniacal (mg/dl) a las 6 12 24 y 48 h en dietas integrales de ovinos con inclusión de taninos y diferentes dosis de AEO.....	58
---	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 Distribución de puntuaciones Wilcoxon para el porcentaje de efectividad antihelmíntica del AEO.	43
--	-----------

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 Producción de gas a las 6, 12, 24, y 48 h de incubación en la dieta testigo, dieta testigo + 4% de taninos condensados y dieta testigo + diferentes dosis de AEO.	53
--	-----------

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las tendencias actuales en los hábitos de consumo, así como las formas de producción de los alimentos, obligan a los productores a implementar continuamente estrategias nutricionales; alternativas que no afecten la salud de los consumidores, cumplan las características requeridas del mercado y sean amigables con el medio ambiente (McGrath *et al.*, 2018). Dentro de estas alternativas, que mejoran la tasa de crecimiento y la eficiencia en la utilización de nutrientes de los animales, además de reducir la morbilidad y mortalidad, se encuentran algunos ácidos orgánicos, enzimas alimentarias, probióticos, prebióticos, extractos y aceites esenciales (Jayasena y Jo, 2013; Rivaroli *et al.*, 2016) estos compuestos pueden considerarse como nutraceuticos, cuya función es el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos, en particular son nutrientes que han sido estandarizados y tienen un grado farmacéutico (Ashton *et al.*, 2019). Los aceites esenciales considerados como nutraceuticos, son sintetizados por la planta para protección de depredadores como los animales herbívoros, se les ha atribuido efectos antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también pueden repeler o atraer insectos (Bakkali *et al.*, 2008). Los aceites esenciales son uno de los productos importantes de la industria agrícola, debido a su uso en alimentos, bebidas, industria cosmética y productos farmacéuticos (Teixeira *et al.*, 2013). Sus características y rendimiento depende de diversos factores incluidos el tipo de planta, clima, ubicación geográfica, condiciones edáficas, cosecha, almacenamiento y método de extracción, además de la variabilidad genética (Hernández *et al.*, 2019; Hussain *et al.*, 2008). La composición química de los aceites esenciales es una mezcla compleja que puede tener de 20 a 60 componentes y varían en su concentración; la mayoría de los componentes se encuentran presentes en trazas y dos o tres se encuentran en concentraciones altas (20-70%). Se tienen dos grupos de compuestos: los terpenos y terpenoides y otro de compuestos aromáticos y constituyentes alifáticos, ambos grupos de bajo peso molecular (Bakkali *et al.*, 2008). Dentro de los aceites esenciales, el de orégano ha resultado efectivo como antioxidante, analgésico, bactericida, fungicida y antiparasitario; estos efectos se atribuyen principalmente a dos compuestos que se encuentran en mayor concentración: timol y carvacrol (Bhargava *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2018). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto nutraceutico del aceite esencial de orégano (AEO) *L. graveolens* en la dieta de ovinos en crecimiento y como antihelmíntico, además del efecto *in vitro* en la reducción de metano.

Justificación

La producción de ovinos en México no cubre la demanda interna de consumo. Se buscan alternativas que puedan mejorar la producción, por lo que en este estudio se considera al AEO (*Lippia graveolens*) para mejorar el comportamiento productivo, elevar la vida de anaquel de la carne de ovino, así como su efecto en la disminución de producción de metano y eliminación de larvas, lo que puede representar una mejora en la eficiencia del sistema de producción ovina.

Planteamiento del problema

El uso indiscriminado de productos químicos, utilizados en los sistemas de producción animal, originan problemas de contaminación ambiental y de los alimentos, por lo que se buscan alternativas, que no presenten efectos negativos (Gutiérrez *et al.*, 2013) además de ocasionar la transferencia de genes de resistencia a bacterias patógenas por lo que en países de la Unión Europea, está prohibido el uso de los antibióticos como promotores de crecimiento. Tras esta prohibición se ha promovido el desarrollo de alternativas que tengan un efecto similar a los antibióticos, pero que sean seguras y no tengan efectos nocivos para la salud humana y el ambiente. Dentro de estas alternativas se han utilizado como principales opciones los ácidos orgánicos, las enzimas, los extractos vegetales, los probióticos y los prebióticos. La adopción de estas tecnologías representa un reto, por lo que se debe seguir con la búsqueda de nuevos productos, que cumplan con la garantías higiénico-sanitarias adecuadas y demuestren su eficacia para mejorar los índices de conversión de los animales (Rodríguez *et al.*, 2013).

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto del aceite esencial de orégano *L. graveolens* como nutraceutico en la dieta de ovinos en crecimiento.

Objetivos específicos

Evaluar el comportamiento productivo de ovinos al incluir aceite esencial de orégano *L. graveolens* en la dieta.

Determinar la producción de gas y metano *in vitro* al incluir aceite esencial de orégano *L. graveolens*.

Determinar el efecto antihelmintico *in vitro* del aceite esencial de orégano *L. graveolens*.

Hipótesis

El uso del aceite esencial de orégano (*L. graveolens*) tendrá un efecto nutraceutico en la alimentación de ovinos en crecimiento.

El aceite esencial de orégano (*L. graveolens*) reducirá la producción de metano y tendrá un efecto antihelmintico en la evaluación *in vitro*.

Literatura citada

- Ashton, M. M., Berk, M., Ng, C. H., Hopwood, M., Kavanagh, B., Williams, L. J., ... Dean, O. M. (2019). Nutraceuticals and nutritional supplements for the treatment of bipolar disorder: Protocol for a systematic review. *BMJ Open*, 9(4), 1–5. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-025640>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bhargava, K., Conti, D. S., da Rocha, S. R. P., y Zhang, Y. (2015). Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiology*, 47, 69–73. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.007>
- Gutiérrez, R. L. A., Montoya, I. O., y Vélez, Z. J. M. (2013). Probióticos : una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal *. *Producción + Limpia*, 8(1), 135–146.
- Hernández, H. E., Castillo, Hernández, G., González, G. C. J., Silva, D. A. J., Gracida, R. J. N., García, A. B. E., ... Regalado, G. C. (2019). Microbiological and Physicochemical Properties of Meat Coated with Microencapsulated Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) and Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oils Mixture. *Coatings*, 9(7), 414. <https://doi.org/10.3390/coatings9070414>
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., and Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Jayasena, D. D., y Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 34(2), 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>
- McGrath, J., Duval, S. M., Tamassia, L. F. M., Kindermann, M., Stemmler, R. T., de Gouvea, V. N., ... Celi, P. (2018). Nutritional strategies in ruminants: A lifetime approach. *Research in Veterinary Science*, 116(April 2017), 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.09.011>
- Rivaroli, D. C., Guerrero, A., Velandia Valero, M., Zawadzki, F., Eiras, C. E., Campo, M. del M., ... Nunes do Prado, I. (2016). Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Science*, 121, 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.017>
- Rivera, R.-, Espinosa, A., García, E., y Herrera S. (2018). Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*. *Revista Salud Jalisco*, 1, 4. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2018/sj181g.pdf>
- Rodríguez, J. M., Sobrino, O. J., Marcos, A., Collado, M. C., Pérez-Martínez, G., Martínez-Cuesta,

M. C., ... Requena, T. (2013). ¿Existe Una Relación Entre La Microbiota Intestinal, El Consumo De Probióticos Y La Modulación Del Peso Corporal? *Nutricion Hospitalaria*, 28(SUPPL. 1), 3–12.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., y Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 587–595. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.069>

REVISIÓN DE LITERATURA

ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO EN LA DIETA DE ANIMALES DE PRODUCCIÓN

Actualmente la población exige alimentos de alta calidad e inocuos, por lo que se buscan alternativas que no afecten las características de los alimentos pero que aumenten la producción; entre éstas se encuentra el uso de compuestos secundarios de las plantas y sus aceites esenciales (Mahgoub *et al.*, 2019). El orégano es una planta que se cultiva en diversas partes del mundo, dadas sus características tiene valor comercial como condimento, especia, además de poseer propiedades nutraceuticas. A nivel mundial Turquía es el principal productor, seguido de México (García *et al.*, 2012). Alrededor de 40 especies se conocen con el nombre genérico de orégano, estas pertenecen a cuatro familias botánicas de plantas aromáticas (Ortiz, 2018); algunas son endémicas de México. Los principales productores de orégano a nivel nacional son: Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Estado de México y Oaxaca, con una superficie cultivada de 57.16 ha y una producción de 117.37 t (SIAP, 2018). *Oreganum* y *Lippia* son los dos géneros más utilizados, el primero se obtiene por medio de cultivos y el segundo generalmente se encuentra en forma silvestre (García *et al.*, 2012). Los aceites esenciales se caracterizan por poseer un fuerte olor, se componen de metabolitos secundarios complejos y volátiles, a los que se les atribuye actividad bactericida, viricida y fungicida además de propiedades medicinales, se usan como analgésicos, anestésicos, antimicrobianos, sedantes, antiinflamatorios y espasmolíticos. Los aceites esenciales tienen mayor importancia en la industria alimentaria y farmacéutica (Bakkali *et al.*, 2008). El AEO posee diversos compuestos, los que se encuentran en mayor concentración son los terpenos de carvacrol y timol (Amadio *et al.*, 2011). El AEO es considerado una alternativa en la producción animal ya que no representa un riesgo para el consumidor y tiene efectos nutraceuticos, mejorando la productividad de las especies de producción (Zeng *et al.*, 2015).

Uso de aceite esencial de orégano en aves

Se han realizado diversos estudios con AEO donde se han observado efectos positivos en el crecimiento de pollos de engorda. Rewatkar *et al.* (2019) evaluaron el efecto en los valores sanguíneos y respuesta inmune de pollos *broiler* al utilizar cuatro dietas: T0 dieta estándar para pollos de engorda según BIS (2007), T1 dieta estándar para pollos de engorda (BIS, 2007) + AEO (*Origanum vulgare* 0.015 mg kg⁻¹ de alimento), T2 dieta estándar para pollos de engorda +

probiótico encapsulado (*Saccharomyces cerevisiae* 200 g t⁻¹ de alimento), T3 dieta estándar para pollos de engorda según (BIS 2007) + AEO (*O. vulgare* a 0.015 mg kg⁻¹ de alimento) + probiótico encapsulado (*S. cerevisiae* a 200 g t⁻¹ de alimento). Los resultados en el contenido de colesterol fueron diferentes (P<0.05). El tratamiento testigo presentó el valor más alto (180.75 ± 1.33) y el valor más bajo (160.59 ± 1.83) se observó en la dieta suplementada con AEO y probiótico encapsulado (*S. cerevisiae*), la proteína total en suero tuvo valores más altos con la mezcla de AEO y *S. cerevisiae* en comparación con el testigo (P<0.05). La respuesta inmune no se vio afectada por ninguno de los tratamientos (P>0.05). Ri *et al.* (2017) evaluaron el comportamiento productivo, estado antioxidante y calidad de la carne de pollo de engorda (*Arbor Acres*) de diferentes dietas, una basal T0. Dieta basal + 20 mg kg⁻¹ de dieta de antibiótico químico (virginiamicina) T1. Dieta basal + 150 mg kg⁻¹ de dieta de *O. vulgare* T2. El consumo diario de alimento fue diferente (P<0.05) con medias superiores en los tratamientos suplementados con el antibiótico y *O. vulgare* en comparación con el tratamiento testigo. La capacidad antioxidante total también fue diferente (P<0.05) el tratamiento con inclusión de *O. vulgare* fue el que presentó el mayor valor (11.46 U ml⁻¹ de suero), en tanto que el testigo presentó el más bajo (2.47 U ml⁻¹ de suero). La respuesta inmune y características físico-químicas de la canal no presentaron diferencias (P>0.05). En una prueba de comportamiento productivo realizada por Tzora *et al.* (2017) se evaluaron cinco tratamientos en pollos de engorde (Ross-308), el tratamiento testigo (T0), el segundo tratamiento (T1) se complementó con la adición de atapulgita, (polvo Ultrafed, con 80% de atapulgita; Geohellas S.A.) en dosis de 3 g kg⁻¹ de alimento, la dieta del tercer tratamiento (T2) fue adicionada con polvo Ecodiar, que contenía 5% de AEO (Ecofarm Hellas S.A.) en concentración de 0.5 g kg⁻¹ de alimento, el cuarto tratamiento (T3) se adicionó con ácido benzoico (polvo Vevovital con ácido benzoico al 100%; DSM S.A.) agregando 1g kg⁻¹ de alimento, al quinto tratamiento se agregó una mezcla de atapulgita, AEO y ácido benzoico con las siguientes dosis 3 g kg⁻¹, 0.5 g kg⁻¹ y 1 g kg⁻¹ de alimento. Las características productivas, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, peso del músculo a los 42 días (pechuga y muslo), presentaron diferencias significativas (P<0.05), donde los valores de los tratamientos adicionados con atapulgita, AEO, ácido benzoico y su mezcla fueron más altos en comparación al tratamiento testigo, en tanto que la composición química de la carne (pechuga y muslo) no presentaron diferencias (P>0.05). La proliferación celular (número de núcleos de enterocitos) en el intestino delgado en los tratamientos T2 y T4 en duodeno y yeyuno tuvieron valores más altos (P<0.05) en comparación con el

tratamiento testigo, no así en la porción del íleon ($P>0.05$), lo que sugiere un efecto benéfico dada la estrecha relación entre la asimilación de nutrientes y la cantidad de enterocitos. En el estudio de Skoufos *et al.* (2016) se utilizaron pollos (Ross-308), los que fueron asignados a dos tratamientos; T0 tratamiento testigo y T1 tratamiento con adición de una mezcla de (polvo Ecodiar, que contenía 5% de AEO) en dosis de 300 g t^{-1} de alimento y polvo Ultrafed, con 80% de atapulgita, 3 kg t^{-1} de alimento. Los resultados mostraron diferencias ($P<0.05$) en el peso corporal, donde el tratamiento con la mezcla de AEO y atapulgita presentó un valor mayor en comparación con la dieta testigo. La morfología intestinal en la altura de las vellosidades del íleon tuvo un valor más alto en el tratamiento en el que se utilizó la mezcla de AEO y atapulgita mostrando diferencias ($P<0.05$) en comparación con el testigo. El conteo de microorganismos coliformes presentó diferencias ($P<0.05$), el valor más alto lo fue para el tratamiento testigo. Estos resultados mostraron un efecto positivo en la microbiota intestinal del íleon. En el trabajo realizado por Giannenas *et al.* (2016) se evaluaron cuatro tratamientos en pollos de engorda: el testigo (T0), el segundo tratamiento (T1) se suplementó con polvo Ecodiar, que contenía 5% de AEO (500 g t^{-1} de alimento), al tercer tratamiento (T2) se agregó polvo Panorama, que contenía 0.5% de aceite esencial de laurel (200 g t^{-1} de alimento), el cuarto tratamiento (T3) fue la mezcla de polvo Ecodiar (500 g t^{-1} de alimento) y polvo Panorama (200 g t^{-1} de alimento). Al finalizar la prueba, los pollos fueron sacrificados y se tomaron muestras de carne (pechuga y muslo) así como de intestino. Se observaron diferencias ($P<0.05$) al suplementar AEO en el peso corporal, conversión alimenticia y mortalidad en comparación al testigo. Los tratamientos no presentaron diferencias ($P>0.05$) en la composición química de la carne. La microflora intestinal del íleon y ciego presentó valores significativamente ($P<0.05$) más altos de *Lactobacilli spp.* y *Bifidobacteria spp.* en los tratamientos con AEO y un conteo menor de coliformes totales ($P<0.05$) en comparación con el tratamiento testigo. Los tratamientos suplementados con AEO también presentaron valores más altos ($P<0.05$) en la altura de las vellosidades intestinales en duodeno, yeyuno e íleon. Por su parte Silva *et al.* (2015) evaluaron el uso de AEO (*L. berlandieri Schauer*) con variaciones en la concentración de timol y carvacrol. El primer tratamiento (AEO MOO1) contenía 4% de timol y 60% de carvacrol, el segundo (AEO MOO2) 40% de timol y 20% de carvacrol. Se utilizaron nueve tratamientos, que se obtuvieron de las combinaciones de MOO1 + MOO2 en dosis de 0, 400, y 800 mg kg^{-1} de alimento: 0 + 0, 0 + 400, 0 + 800, 400 + 0, 400 + 400, 400 + 800, 800 + 0, 800 + 400 y 800 + 800. Los resultados mostraron que el comportamiento productivo de pollos de engorda línea (Ross),

fue diferente ($P < 0.05$) por efecto del tratamiento en peso corporal, consumo de alimento, consumo de agua, eficiencia alimenticia y ganancia de peso, presentando valores más altos los tratamientos con algún nivel de inclusión de AEO, mejorando la producción.

Uso de aceite esencial de orégano en cerdos

El uso de alternativas no convencionales, como los aceites esenciales, ha permitido observar efectos positivos sin el efecto dañino de los aditivos y conservadores sintéticos (Flores *et al.*, 2016). Algunos estudios demuestran el efecto benéfico en pruebas de comportamiento productivo, actividad antioxidante, microbiota intestinal, aprovechamiento de nutrientes y calidad de la carne. Ranucci *et al.* (2015) evaluaron el uso de AEO (*O. vulgare*) mezclado con extracto de madera de castaño (*Castanea sativa*) con un porcentaje de inclusión de 0.2% en la dieta, la mezcla estaba compuesta de partes iguales de AEO y extracto de madera de castaño, esta se proporcionó a los cerdos en los días 1, 95 y 155 de edad. Las variables productivas de peso vivo, ganancia diaria de peso y peso de la canal caliente no presentaron diferencias significativas por efecto del tratamiento. En relación al estado oxidativo de la carne de cerdo, presentó diferencias ($P < 0.05$) con valores más bajos en el tratamiento con AEO, así como la oxidación de lípidos que fue menor en el tratamiento con suplementación de AEO. El color en carne cruda no fue diferente ($P > 0.05$), sin embargo, en carne cocida el tratamiento con suplemento de AEO presentó los valores más bajos ($P < 0.05$) en los parámetros (luminosidad) L^* y (matiz) H^* y el valor más alto ($P < 0.05$) para el parámetro (coordenadas rojo/verde) a^* . La pérdida por cocción, pérdida por goteo y los valores de fuerza de corte no presentaron diferencias ($P > 0.05$) por efecto de la inclusión de AEO. El análisis sensorial de la carne de animales suplementados con el AEO, recibió puntuaciones más altas ($P > 0.05$) para color y sabor, así como en el gusto general. En un estudio realizado por Zhang *et al.* (2015) se evaluó el efecto de la capacidad oxidativa en el transporte de cerdos al suplementar AEO en polvo, con un contenido de 5% de AEO de *O. vulgare*, en el estudio se probaron tres dietas: una dieta testigo, otra con la adición de 200 mg kg^{-1} de alimento de vitamina E (VE) y la tercera con 25 mg de AEO por kg^{-1} de alimento, las que se ofrecieron por 28 días. Además de que los grupos se dividieron en dos subgrupos uno (NS) con baja densidad en el transporte y descanso por 20 h, y otro (TS) con alta densidad en el transporte y ruta ordinaria por 5 h. Los resultados mostraron que hubo diferencias en la concentración de cortisol en la interacción transporte \times dieta ($P < 0.01$), siendo menor en el tratamiento con AEO y el transporte TS, lo mismo se observó en la

concentración de norepinefrina ($P < 0.01$). Janacua-Vidales *et al.* (2019) determinaron el rendimiento en canal, análisis sensorial y aceptación de carne de cerdos machos y hembras suplementados con una dieta con AEO el cual se extrajo de flores y hojas de orégano mexicano (*L. graveolens*) con un contenido de carvacrol de (62.2% v/v), p-cimeno (6.8% v/v) y timol (5.9% v/v). En el estudio se evaluó una dieta comercial más 0 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm de AEO kg^{-1} de alimento; cada tratamiento fue asignado a 12 cerdos, seis hembras y seis machos. La calidad y rendimiento de las canales se evaluaron 24 h después del sacrificio, usando el músculo *Longissimus dorsi* para la evaluación sensorial. La ganancia diaria promedio no presentó diferencias significativas por tratamiento ni por género, ni la interacción entre los dos factores. El porcentaje de rendimiento de la canal fría presentó diferencias ($P < 0.05$) debido al nivel de inclusión y género, así como la interacción de ambos factores, presentando una tendencia de un mejor rendimiento al aumentar el nivel de AEO. Los cerdos que fueron suplementados con 1000 y 2000 ppm de AEO presentaron una longitud de canal mayor en comparación con el tratamiento testigo, mientras que la suplementación con 3000 ppm de AEO, presentó diferencias ($P < 0.05$) en el rendimiento del lomo, hombros y tocino, con valores más altos para los tratamientos con inclusión de AEO. El análisis sensorial indicó diferencias para el color rosa ($P < 0.05$), el cual fue mayor en la carne de cerdos alimentados con 2000 ppm de AEO. Las variables sabor y textura no presentaron diferencias ($P > 0.05$). La aceptación de la carne por parte de los consumidores fue evaluada como totalmente desagradable (TD), totalmente agradable (TA) y un valor intermedio ni agradable, ni desagradable (AD). La carne de los animales a los que se les suplementaron 2000 ppm de AEO fue la más aceptada obteniendo la mayoría de respuestas TA ($P < 0.05$). Esto en comparación con la carne del tratamiento testigo y con 3000 ppm de AEO que tuvieron menor aceptación por parte de los consumidores, con mayoría de respuestas TD.

Uso de aceite esencial de orégano en rumiantes

Los aceites esenciales en los rumiantes han sido utilizados para modificar la fermentación ruminal. Existen diversos estudios donde los resultados muestran un efecto benéfico en relación a su actividad antiséptica y antimicrobiana (Cobellis *et al.*, 2016)

Ovinos

Zhou *et al.* (2019) realizaron un estudio donde probaron tres tratamientos, el primero sin adición de AEO, el segundo con adición de 4 g de AEO d^{-1} por animal y el tercero con 7 g de AEO d^{-1} por

animal, se evaluó el pH ruminal, el cual no presentó diferencias ($P>0.05$). El conteo de protozoarios se vio disminuido ($P<0.05$) en los tratamientos con inclusión de 4 g d^{-1} , se encontró que aumentó ($P<0.05$) la población bacteriana, mientras que la inclusión de AEO en una dosis de 7 g d^{-1} , disminuyó ($P<0.05$) la población microbiana en comparación con el tratamiento testigo.

Gümüş *et al.* (2017) realizaron una investigación con corderos en la que evaluaron tres tratamientos, el primero una dieta base (testigo), el segundo con la inclusión de 200 mg kg^{-1} de una preparación comercial (Orego-Stim de Ecopharm Hellas S.A[®]) conteniendo 5% de AEO *O. vulgare subsp. Hirticum*, y 95% de vehículo inerte; el tercer tratamiento con inclusión de 400 mg kg^{-1} de Orego-Stim[®]. Los parámetros de comportamiento productivo fueron similares ($P>0.05$) con respecto al tratamiento testigo, así como los niveles séricos de glucosa, urea, ácido úrico y triglicéridos. Los de fósforo, sodio y cloro en suero fueron similares en los tres grupos, no así para el nivel de calcio y potasio, que disminuyeron ($P<0.05$) en el tratamiento con inclusión de 200 mg kg^{-1} de alimento en comparación al tratamiento testigo y al tercer tratamiento. Los niveles séricos de magnesio aumentaron ($P<0.05$) en el tratamiento con 200 mg de AEO. El perfil lipídico en suero no presentó diferencias entre tratamientos ($P>0.05$). La oxidación lipídica en el tratamiento con la dosis baja de AEO fue significativamente menor, en comparación a la dosis alta de AEO y al tratamiento testigo. El AEO no tuvo un efecto significativo sobre la actividad de la superóxido dismutasa ($P<0.05$). Sin embargo, en la carne la actividad de la superóxido dismutasa fue menor en el tratamiento con inclusión de 200 mg de AEO, comparada con el tratamiento testigo y la inclusión de 400 mg de AEO ($P<0.05$). La actividad enzimática de la catalasa y glutatión en el hígado y carne tuvo efecto ($P<0.05$) al incluir las dosis de AEO, aumentando la actividad de la catalasa y glutatión.

En otro estudio realizado por Imik *et al.* (2018) evaluaron la calidad de carne de corderos alimentados con tres tratamientos, dieta basal como testigo, el segundo tratamiento fue la dieta basal más 200 mg de AEO kg^{-1} de alimento, y el tres recibió una ración basal más 400 mg de AEO kg^{-1} de alimento, utilizando Orego-Stim de Ecopharm Hellas S.A[®], con un contenido de 5% de AEO (*O. vulgare subsp. Hirticum*) y 95% de vehículo inerte. Los resultados al evaluar la calidad de la carne mostraron que la actividad del agua (A_w) no presentó diferencias por efecto de tratamiento, tampoco en el tiempo de almacenamiento, ni en la interacción tratamiento y tiempo de almacenamiento ($P>0.05$). El valor de pH fue diferente en el tiempo de almacenamiento. El nivel de TBARS en el músculo *Longissimus dorsi* fue menor en el tratamiento con 200 mg de

AEO, con efecto por tratamiento, tiempo de almacenamiento e interacción tratamiento y tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$). La inclusión de 200 mg kg^{-1} de AEO en la dieta de corderos afectó el color de la carne del músculo *Longissimus dorsi* el valor L^* aumentó y disminuyó el valor de a^* ($P < 0.05$); al adicionar 400 mg kg^{-1} de AEO disminuyó el valor de L^* ($P < 0.05$). Los valores de (coordenadas amarillo/azul) b^* fueron variables por efecto del tratamiento, tiempo de almacenamiento y la interacción tratamiento y tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$). La inclusión de las distintas dosis de AEO previno el crecimiento de bacterias de los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus* en la carne, este efecto se mantuvo durante el tiempo de almacenamiento evaluado, siendo diferente ($P < 0.05$) al tratamiento testigo. El efecto contra *Pseudomonas spp.* fue diferente ($P < 0.05$) en el tratamiento con 200 mg de AEO con valores menores para los días 1, 5, 7, 11 y 13. La dosis de 400 mg solo tuvo efecto en el día 11 del periodo de almacenamiento.

Bovinos

En becerros se ha utilizado AEO agregado al sustituto de leche, para ver su efecto en el síndrome de diarrea neonatal. En el estudio realizado por Ozkaya *et al.* (2018), se formaron cuatro grupos de becerros: T0 tratamiento testigo; T1 inclusión de 1% de AEO kg^{-1} de dieta; T2 inclusión de 1.5% de AEO kg^{-1} de dieta y T3 inclusión de 2% de AEO kg^{-1} de dieta. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en el peso vivo y medidas del cuerpo, pero la ingesta de alimento fue mayor en los animales suplementados con AEO al 2%. La actividad antioxidante fue mayor en el tratamiento con inclusión de 2% de AEO, mostrando diferencias ($P < 0.05$) en comparación con los otros tratamientos. La suplementación con 2% de AEO tuvo efecto ($P < 0.05$) contra *Enterobacteriaceae*. La firmeza fecal en las heces de los terneros suplementados con AEO ($P < 0.05$) fue diferente, con puntuaciones de firmeza mayores que para el tratamiento testigo. La frecuencia de pulso fue mayor en los grupos con adición de AEO en comparación con el tratamiento testigo ($P < 0.05$). El efecto de la adición de AEO en la frecuencia de días que los animales presentaron secreción nasal, secreción ocular y diarrea fueron diferentes ($P < 0.05$). Se observaron valores más bajos en los tratamientos con AEO en comparación con el tratamiento testigo. Se observaron efectos positivos al incluir el AEO. Lejonklev *et al.* (2016) trabajaron con vacas lecheras, evaluando la adición de AEO (*O. vulgare*) y comino silvestre (*Carum carvi*); los aceites esenciales se agregaron a 0.2 g de aceite kg^{-1} MS para el nivel bajo y 1.0 g de aceite kg^{-1} MS para el nivel alto. Los resultados no mostraron diferencias ($P < 0.05$) en las emisiones de metano. Los atributos sensoriales de la leche si presentaron diferencias ($P < 0.05$) presentando

valores más altos para los tratamientos de comino silvestre (alto y bajo) y AEO (bajo). El AEO (alto) no presentó diferencia ($P>0.05$) con respecto al testigo. En otro estudio se evaluó la producción de metano al adicionar AEO, se utilizaron dos fuentes de orégano (*O. vulgare. spp vulgare* y *O. vulgare spp hirtum*), se evaluaron siete tratamientos: una dieta testigo, dieta testigo más inclusión de 18, 36 y 53 g kg⁻¹ de alimento de *O. vulgare. spp vulgare* y las mismas dosis de orégano *O. vulgare spp hirtum*. La fermentación ruminal no se vio afectada por ninguna de las dos fuentes de orégano ($P>0.05$). La producción de metano tampoco mostró diferencias ($P>0.05$) en ninguno de los tratamientos evaluados (Olijhoek *et al.*, 2019). En el estudio realizado por Grandi *et al.* (2016) con vaquillas lecheras de remplazo, se estudió el efecto de la adición de AEO en la prevalencia y dinámica de desprendimiento de oocistos de *Eimeria spp.* adquiridos naturalmente, probando dos tratamientos, uno testigo y otro con la inclusión de AEO (2.0 mg kg⁻¹ de peso corporal), se tomaron muestras fecales directamente del recto de las vaquillas a los 30, 45, 60, 90, 120 y 150 días de edad y se cuantificaron los ooquistes de *Eimeria spp.* Los resultados no mostraron diferencias ($P>0.05$) en la prevalencia de infección entre ambos grupos, por lo que no se demostró actividad coccidicida.

Caprinos

Lei *et al.* (2018) estudiaron la inclusión de AEO y cobalto (Co) en cabríos de Cachemira, utilizando el producto Rum-A-Fresh[®] con un contenido de Co de 0.75% y 1.3% de AEO. Los tratamientos evaluados fueron tres, un testigo, en el segundo se agregaron 52 y en el tercero 92 mg día⁻¹ animal⁻¹ de Rum-A-Fresh[®]. Los resultados mostraron que la suplementación con la mezcla de AEO y Co en dosis de 52 y 92 mg, tuvieron valores más altos ($P<0.05$) en las medias de peso final, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia en comparación con el tratamiento testigo. El marmoleo de la carne, peso de la canal, porcentaje de rendimiento, porcentaje neto de carne, relación carne-hueso y grasa perianal fueron diferentes ($P<0.05$) con medias superiores en los tratamientos con 52 y 92 mg de la mezcla de AEO y Co, en comparación con el tratamiento testigo. La calidad de la carne presentó diferencias en el porcentaje de carne cocida, con valores más altos para los tratamientos con inclusión de la mezcla de AEO y Co. El ácido mirístico tuvo un valor menor en el tratamiento con 92 mg de la mezcla, siendo diferente ($P<0.05$) a los tratamientos con 0 y 52 mg. La concentración de ácidos grasos poliinsaturados, monoinsaturados, y saturados fue similar ($P>0.05$) entre tratamientos. Lei *et al.* (2019) evaluaron diferentes variables ruminales en cabras con tres niveles de Rum-A-Fresh[®] (Co 0.75%, 1.3% de AEO), testigo, 52 y 91 mg día⁻¹ animal. La

inclusión de 52 mg mostró un pH ruminal más bajo que los otros tratamientos ($P < 0.05$); la cantidad de $\text{NH}_3\text{-N}$ en rumen disminuyó significativamente con los tratamientos con inclusión de la mezcla de AEO y Co. La cantidad de acetato tuvo un valor más alto con la dieta con 52 mg en comparación con los tratamientos con inclusión de 0 y 91 mg ($P < 0.05$). Los niveles de propionato y butirato no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos. La altura de las vellosidades en la parte del rumen dorsal fue mayor en el tratamiento testigo ($P < 0.05$). El tratamiento con 91 mg aumentó significativamente el ancho de las vellosidades en el saco ruminal dorsal ($P < 0.05$). El metagenoma mostró que las comunidades bacterianas de *Bacteroides spp.* y *Succinivibrio spp.* se asociaron a la producción de AGV's con adición de AEO a la dieta, reflejando un mejor metabolismo fermentativo del rumen.

Uso de aceite esencial de orégano en peces

En peces se ha evaluado el comportamiento productivo al incluir AEO, dado los componentes activos que contiene, además de ser una opción que no representa un riesgo y tiene función terapéutica (Aanyu *et al.*, 2018). El AEO en dietas de peces aumenta su crecimiento, además de elevar la resistencia a enfermedades y mejorar su supervivencia (El-Hawarry *et al.*, 2018; Radhakrishnan *et al.*, 2015). Mabrok y Wahdan (2018) realizaron un estudio con *Tilapia zillii* alimentada con una dieta basal más la inclusión de AEO (1 g kg^{-1} de alimento), en donde las tilapias fueron desafiadas con *Vibrio anguillarum*; los resultados mostraron el efecto ($P < 0.05$) bactericida del AEO a las 12 y 24 h posteriores en comparación con las que sólo se alimentaron con la dieta basal. Otra investigación mostró que la suplementación con AEO en la dieta de *Cyprinus carpio* con 0, 500, 1500 y 4500 mg kg^{-1} de alimento, extraído de *Origanum vulgare*, que los niveles de proteasa y lipasa fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) con la inclusión de 1500 y 4500 mg kg^{-1} de AEO de alimento y la amilasa fue mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento con mayor inclusión de AEO en comparación con los demás tratamientos. La suplementación en el alimento con AEO aumentó los niveles de lisozima ($P < 0.05$), y las proteínas del complemento C3 ($P < 0.05$) y complemento del anticuerpo C4 ($P < 0.05$), la actividad de la superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en los grupos suplementados con AEO fueron mayores ($P < 0.05$) al tratamiento testigo, por lo que la actividad antioxidante aumentó con el AEO. El nivel de malondialdehído disminuyó significativamente en todos los tratamientos con inclusión de AEO en comparación con el tratamiento testigo ($P < 0.05$). La expresión génica intestinal fue diferente ($P < 0.05$), presentando el

valor más bajo para la expresión de TNF- α con la dosis de 500 mg de AEO kg⁻¹ de alimento, la expresión de TGF- β disminuyó significativamente en todos los tratamientos con AEO (P<0.05), la interleucina 1 β (IL-1 β) no fue diferente (P>0.05). La supervivencia acumulativa de *C. carpio* fue mayor con la suplementación con AEO, siendo diferentes (P<0.05) en comparación al tratamiento testigo. El tratamiento con inclusión de 4500 mg de AEO kg⁻¹ de alimento tuvo resultados favorables (P<0.05) en la composición de la biota microbiana del intestino (Zhang *et al.*, 2020). Mizuno *et al.* (2018) evaluaron AEO contra ectoparásitos, observando que la suplementación del aceite en dosis de 0.02% mostró ser preventivo contra la infección generada por *Ichthyobodo salmonelis* y *Trichodina truttae* en juveniles de *Oncorhynchus keta*, en comparación con el tratamiento testigo (P<0.05), mostrando su acción como antiparasitario.

Uso de aceite esencial de orégano en otras especies

En jabalí se evaluó la actividad antioxidante en semen, al proporcionar a los animales tratamientos con diferentes niveles de inclusión de AEO, un tratamiento testigo, con la adición de 100 mg kg⁻¹ de alimento de acetato de α -tocoferilo, y tratamientos suplementados con 250, 500 y 750 mg kg⁻¹ de AEO. Los resultados mostraron que ninguno de los tratamientos con inclusión de AEO tuvo efecto sobre la producción o la motilidad del espermatozoide. El contenido de α -tocoferol espermático, mostró valores más altos en los animales tratados con inclusión de 500 y 750 mg kg⁻¹ de AEO, en comparación a los del tratamiento testigo, por lo que existe una mayor retención de α -tocoferol. La dosis de 500 y 750 mg kg⁻¹ de alimento de AEO produjeron valores más bajos (P<0.05) de especies reactivas al oxígeno lo que sugirió una actividad antioxidante en los espermatozoides de jabalí (Liu *et al.*, 2017).

El uso del AEO ha mostrado su actividad antioxidante, antiparasitaria, bactericida y antifúngica en diferentes especies, lo que indica que puede utilizarse como aditivo en producción animal. Sin embargo, dada la variación de las dosis investigadas y los diferentes compuestos activos usados los resultados no han sido consistentes, por lo que es necesario realizar más estudios con AEO, para tener un mayor conocimiento de los efectos que tiene en los animales, así como establecer las dosis y compuestos activos más adecuados para usarse en las diferentes especies animales de importancia económica.

LITERATURA CITADA

- Aanyu, M., Betancor, M. B., y Monroig, O. (2018). Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 488(1), 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.036>
- Amadio, C., Medina, R., Dediol, C., Zimmermann, M., y Miralles, S. (2011). Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- BIS, S. B. of I. (2007). *Indian Standard: Poultry Feeds Specification (5th)*. New Delhi, India.
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., y Yu, Z. (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545–546, 556–568. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.103>
- El-Hawarry, W. N., Mohamed, R. A., y Ibrahim, S. A. (2018). Collaborating effects of rearing density and oregano oil supplementation on growth, behavioral and stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(2), 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.008>
- Flores, M. H., Leon, C. C., Estarron, E. M., y Orozco, A. I. (2016). Optimización del proceso de extracción de sustancias antioxidantes a partir del orégano Mexicano (*Lippia graveolens* HBK) utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR). *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, 15(3), 773–785.
- García, P. E., Castro, Á. F. F., Gutiérrez, U. J. A., y García, L. S. (2012). Revisión de la producción , composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano * Revision of the production , phytochemical composition , and nutraceutical properties of Mexican oregano Resumen Introducción. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3, 339–353.
- Giannenas, I., Tzora, A., Sarakatsianos, I., Karamoutsios, A., Skoufos, S., Papaioannou, N., ... Skoufos, I. (2016). The effectiveness of the use of oregano and laurel essential oils in chicken feeding. *Annals of Animal Science*, 16(3), 779–796. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0099>
- Grandi, G., Kramer, L. H., Quarantelli, A., y Righi, F. (2016). Influence of oregano essential oil (OEO) on prevalence and oocyst shedding dynamics of naturally acquired *Eimeria* spp. infection in replacement dairy heifers. *Annals of Animal Science*, 16(1), 171–179. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0050>
- Gümüş, R., Erol, H. S., İmik, H., y Halici, M. (2017). Kuzu rasyonuna ilave edilen kekik yağının performans, bazı kan parametreleri ile et ve karaciğer dokularında antioksidan metabolizma üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(3), 395–401. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.16791>
- İmik, H., Urçar Gelen, S., Aydemir Atasever, M., Gümüş, R., y Özlü, H. (2018). Effects of the

- supplementation of lamb rations with oregano essential oil on the antimicrobial and antioxidant metabolism in meat. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 42(6), 581–589. <https://doi.org/10.3906/vet-1604-58>
- Janacua-Vidales, H., Peña-González, E., Alarcon-Rojo, A. D., Ortega-Gutiérrez, J., y Aguilar-Palma, N. (2019). Determination of carcass yield, sensory and acceptance of meat from male and female pigs with dietary supplementation of oregano essential oils. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 668–678. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1553507>
- Lei, Z., Zhang, K., Li, C., Jiao, T., Wu, J., Wei, Y., ... Wang, X. (2019). Ruminal metagenomic analyses of goat data reveals potential functional microbiota by supplementation with essential oil-cobalt complexes. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1400-3>
- Lei, Z., Zhang, K., Li, C., Wu, J., Davis, D., Casper, D., ... Wang, J. (2018). Dietary supplementation with Essential-oils-cobalt for improving growth performance, meat quality and skin cell capacity of goats. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29897-3>
- Lejonklev, J., Kidmose, U., Jensen, S., Petersen, M. A., Helwing, A. L. F., Mortensen, G., ... 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. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10910>
- Liu, Q., Duan, R. J., Zhou, Y. F., Wei, H. K., Peng, J., y Li, J. L. (2017). Supplementing oregano essential oil to boar diet with strengthened fish oil: Effects on semen antioxidant status and semen quality parameters. *Andrologia*, 49(10), 1–8. <https://doi.org/10.1111/and.12764>
- Mabrok, M. A. E., y Wahdan, A. (2018). The immune modulatory effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil on *Tilapia zillii* following intraperitoneal infection with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture International*, 26(4), 1147–1160. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0274-y>
- Mahgoub, S. A., El-Mekkawy, R. M., Abd El-Hack, M. E., El-Ghareeb, W. R., Suliman, G. M., Alowaimer, A. N., y Swelum, A. A. (2019). Inactivation of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat smoked turkey meat by combination with packaging atmosphere, oregano essential oil and cold temperature. *AMB Express*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0775-8>
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Sasaki, Y., Koide, N., ... Ueda, H. (2018). Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Journal of Fish Biology*, 93(3), 528–539. <https://doi.org/10.1111/jfb.13681>
- Olijhoek, D. W., Hellwing, A. L. F., Grevsen, K., Haveman, L. S., Chowdhury, M. R., Løvendahl, P., ... Lund, P. (2019). Effect of dried oregano (*Origanum vulgare* L.) plant material in feed on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk fatty acid composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(11), 9902–9918. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16329>

- Ortiz, H. (2018). Aislamiento y clonación parcial de un gen de terpeno sintasa de orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth), 3, 5–14. Recuperado de <http://revistas.uaz.edu.mx/index.php/biotecnologiaysust/article/view/500/472>
- Ozkaya, S., Erbas, S., Ozkan, O., Baydar, H., y Aksu, T. (2018). Effect of supplementing milk replacer with aromatic oregano (*Origanum onites* L.) water on performance, immunity and general health profiles of Holstein calves. *Animal Production Science*, 58(10), 1892–1900. <https://doi.org/10.1071/AN16574>
- Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Muralisankar, T., y Shanthi, R. (2015). Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. *Aquaculture Nutrition*, 21(4), 496–506. <https://doi.org/10.1111/anu.12180>
- Ranucci, D., Beghelli, D., Trabalza-Marinucci, M., Branciarri, R., Forte, C., Olivieri, O., ... Acuti, G. (2015). Dietary effects of a mix derived from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil and sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract on pig performance, oxidative status and pork quality traits. *Meat Science*, 100, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.09.149>
- Rewatkar, H., Wankhede, S., Agashe, J., Padole, R., Jadhao, A., y Jadhao, G. (2019). The Effect of Supplementation of Oregano Oil and Probiotic on Intestinal Microbes (*E. coli* spp, *Salmonella* spp, *Clostridia* spp.) of the Broiler Chicken. *International Journal of Livestock Research*, 8(0), 1. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20190504063600>
- Ri, C. S., Jiang, X. R., Kim, M. H., Wang, J., Zhang, H. J., Wu, S. G., ... Qi, G. H. (2017). Effects of dietary oregano powder supplementation on the growth performance, antioxidant status and meat quality of broiler chicks. *Italian Journal of Animal Science*, 16(2), 246–252. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1274243>
- SIAP, S. de I. A. y P. (2018). *Cierre de la producción agrícola por cultivo, cultivos perenes, orégano*. Recuperado de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Silva, V. R., Meléndez, L. A. D., Estrada, E. S., Muela, C. R., Villalobos, G. V., Zamora, G. M., y Hume, M. E. (2015). Performance of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil (*Lippia berlandieri* Schauer). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44(8), 283–289. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902015000800003>
- Skoufos, I., Giannenas, I., Tontis, D., Bartzanas, T., Kittas, C., Panagakis, P., y Tzora, A. (2016). Effects of oregano essential oil and attapulгите on growth performance, intestinal microbiota and morphometry in broilers. *South African Journal of Animal Science*, 46(1), 77. <https://doi.org/10.4314/sajas.v46i1.10>
- Tzora, A., Giannenas, I., Karamoutsios, A., Papaioannou, N., Papanastasiou, D., Bonos, E., ... Skoufos, I. (2017). Effects of oregano, attapulгите, benzoic acid and their blend on chicken performance, intestinal microbiology and intestinal morphology. *Journal of Poultry Science*, 54(3), 218–227. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0160071>
- Zeng, Z., Zhang, S., Wang, H., y Piao, X. (2015). Essential oil and aromatic plants as feed additives

in non-ruminant nutrition: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6(1).
<https://doi.org/10.1186/s40104-015-0004-5>

Zhang, R., Wang, X. W., Liu, L. L., Cao, Y. C., y Zhu, H. (2020). Dietary oregano essential oil improved the immune response, activity of digestive enzymes, and intestinal microbiota of the koi carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 518(November 2019), 734781.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734781>

Zhang, T., Zhou, Y. F., Zou, Y., Hu, X. M., Zheng, L. F., Wei, H. K., ... Jiang, S. W. (2015). Effects of dietary oregano essential oil supplementation on the stress response, antioxidative capacity, and HSPs mRNA expression of transported pigs. *Livestock Science*, 180, 143–149.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.05.037>

Zhou, R., Wu, J., Zhang, L., Liu, L., Casper, D. P., Jiao, T., ... Gong, X. (2019). Effects of oregano essential oil on the ruminal pH and microbial population of sheep. *PLoS ONE*, 14(5), 1–14.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217054>

CAPÍTULO 1. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO EN LA DIETA DE OVINOS EN CRECIMIENTO

1.1 RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento productivo, variables ruminales, rendimiento de la canal, balance de nitrógeno, actividad antioxidante en la carne y vida de anaquel, al incluir aceite esencial de orégano (AEO) Ore® en la dieta de ovinos en crecimiento. Se utilizaron 39 ovinos machos recién destetados con una edad promedio de tres meses, los que se distribuyeron en forma aleatoria a tres tratamientos con inclusión de 0, 0.02 y 0.04 % de AEO. El análisis de datos de comportamiento productivo, variables ruminales, balance de nitrógeno, rendimiento de canal y actividad antioxidante de la carne se realizó mediante un diseño completamente al azar y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los datos de vida de anaquel se analizaron mediante el procedimiento PROC MIXED, utilizando un diseño completamente al azar. Los resultados mostraron que no hubo diferencias ($P > 0.05$) en el consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA) entre los corderos de los tres tratamientos. Las variables ruminales, balance de nitrógeno y rendimiento de canal fueron similares ($P > 0.05$) entre los corderos de los tres tratamientos. En los resultados de vida de anaquel se observó que el porcentaje de proteína cruda aumentó en los corderos tratados con AEO, encontrando efecto por tratamiento y tiempo ($P < 0.05$), en tanto que la MS presentó diferencias ($P < 0.05$) debido al tiempo. En los valores de pH, extracto etéreo y cenizas, no se observaron diferencias ($P > 0.05$). La actividad antioxidante fue mayor ($P < 0.05$) en los tratamientos con inclusión de AEO. El comportamiento productivo, variables ruminales, balance de nitrógeno y rendimiento de canal, no fueron diferentes con la inclusión de AEO. El AEO mantiene estable la PC de la carne y mejora su actividad antioxidante, aumentando la vida de anaquel.

Palabras clave: timol, carvacrol, corderos, carne. (*Fuentes: MeSH, NAL*).

1.2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the productive behavior, ruminal variables, carcass performance, nitrogen balance, and antioxidant activity in meat and shelf life when Ore® essential oil of oregano (AEO) was included in the diet of growing sheep. Thirty-nine weaned male sheep with an average age of three months were used for this experiment. They were randomly

distributed to three treatments with the inclusion of 0, 0.02, and 0.04% of AEO. The analysis of data on productive behavior, ruminal variables, nitrogen balance, carcass yield and antioxidant activity of meat were carried out using a completely randomized design and multiple comparisons of means with the Tukey test ($P < 0.05$). Shelf life data were analyzed using the PROC MIXED procedure, using a completely randomized design. The results showed that there were no differences ($P > 0.05$) in dry matter intake (DMI), daily weight gain (DWG), nitrogen balance and feed conversion (FC), ruminal variables, nitrogen balance and carcass yield were similar ($P > 0.05$) among treatments. Crude protein percentage increased through time ($P < 0.05$) in all treatments with AEO. DM content was different ($P < 0.05$) due to the effect of time. pH, ether extract, and ash did not show differences ($P > 0.05$). The antioxidant activity was higher ($P < 0.05$) for the treatments with the inclusion of AEO than in control treatment. Productive behavior, ruminal variables, nitrogen balance and carcass yield, were not different with the inclusion of AEO. AEO keeps the meat's PC stable and improves its antioxidant activity, increases shelf life.

Key words: thymol, carvacrol, lambs, meat. (*Sources: MeSH, DeCS*).

2.3 INTRODUCCIÓN

La industria pecuaria ha utilizado antibióticos a niveles subterapéuticos para mejorar la tasa de crecimiento y la eficiencia de utilización de nutrientes, además de reducir la morbilidad y mortalidad (Zeng *et al.*, 2015). No obstante, ahora se tiene una restricción en muchos países en el uso de antibióticos como aditivos, esto debido a la creciente proliferación de bacterias resistentes, por lo que se han buscado alternativas que sean inocuas para el consumidor. Dentro de estas alternativas se encuentran algunos ácidos orgánicos, enzimas alimentarias, pro o prebióticos, extractos y aceites esenciales (Jayasena y Jo, 2013; Rivaroli *et al.*, 2016a). Los antioxidantes inhiben la oxidación de moléculas, evitando la generación o propagación de las especies reactivas al oxígeno (ERO) que están relacionadas con diversas patologías en humanos y en producción pecuaria (García *et al.*, 2012). El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la inclusión de AEO en la dieta sobre el comportamiento productivo de ovinos en crecimiento, calidad de la canal y tiempo de anaquel de la carne.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Localización

La prueba de comportamiento productivo se realizó en el módulo ovino del Colegio de Postgraduados en el Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27'33'' N, 98° 54'24'' O, y 2240 msnm). El clima presenta la siguiente clasificación: C(w)₂ (w)b1 templado sub-húmedo con lluvias en verano, precipitación de 636.5 mm y temperatura anual de 15.2 °C (García, 2004).

1.4.2 Aceite esencial de orégano

Se utilizó aceite esencial de orégano (AEO) proveniente de orégano silvestre *L. graveolens*, recolectado en los meses de agosto y septiembre (ORE, Saucillo, Chih). El aceite fue analizado por cromatografía de gases-masas en el Laboratorio de Ecología Química y Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad perteneciente a la UNAM. Este aceite tiene certificación como producto orgánico por BioAgriCert Certificate N° 00062_2017 control code MXBIO132k77W

1.4.3 Unidades experimentales

Para evaluar el comportamiento productivo de corderos Suffolk × Hampshire, se utilizaron 39 corderos machos, recién destetados, con una edad promedio de tres meses y peso vivo de 19 ± 3.7 kg. Los corderos fueron alojados en corraletas individuales y recibieron una dosis de bacterina (BIOBAC-11 vías, BIO ZOO 2.5 ml animal⁻¹, vía intramuscular). La distribución de los tratamientos a los corderos fue aleatoria; cada tratamiento tenía un total de 13 repeticiones. Los corderos tuvieron un periodo de adaptación de 20 días y un periodo de prueba de 60 días. Este estudio se realizó de acuerdo al reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados (CP, 2019).

1.4.4 Dietas, manejo alimenticio y variables de estudio

Se utilizaron tres dietas isonitrogenadas e isoenergéticas (Cuadro 2.1), con la inclusión de 0, 0.02 y 0.04% de AEO, formuladas de acuerdo con los requerimientos indicados para ovinos en crecimiento por NRC (2007).

Cuadro 1.1 Ingredientes y composición química (g 100⁻¹ MS) de las dietas experimentales.

Ingredientes % BS	T1	T2	T3
Maíz, molido	54	53.98	53.96
Melaza	3	3	3
Urea	1	1	1
Pasta de soya	20	20	20
Rastrojo	20	20	20
Aceite esencial de orégano	0	0.02	0.04
Sal mineral*	2	2	2
Composición química (g 100 ⁻¹ MS)			
MS	89.5	88.6	88.1
PC	17.59	17.42	17.39
EE	3.23	3.35	3.31
FDN	23.14	21.70	21.29
FDA	8.52	7.85	7.74
EM (Mcal kg ⁻¹)	2.67	2.54	2.54

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO.

*Contenido de la sal mineral: CoSO₄, 0.068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 1.24%; MnSO₄, 1.07%; IK, 0.052%; y NaCl, 92.96%.

La alimentación se realizó dos veces al día, a las 9:00 y a las 14:00 h, los animales tuvieron acceso al agua *ad libitum*. La ganancia diaria de peso (GDP) se calculó por la diferencia entre el peso final y el peso inicial entre los días transcurridos de cada pesaje. El consumo de materia seca (CMS) se obtuvo por la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado diariamente. Se calculó la conversión alimenticia (CA) como la relación de la cantidad de alimento consumido por día y la GDP. El área del ojo del lomo (AOL) del músculo *Longissimus dorsi* y el espesor de grasa (EG) se evaluaron a los 30 y 60 días del periodo de prueba, por medio de un ultrasonido con un transductor de señal (17 cm modelo 5040 conectado a un equipo Aloka SSD-500 V), el procesamiento de imágenes fue realizado con el software CUP (Centralized Ultrasound Processing) utilizando el plano transeccional entre las 12^a y 13^a costillas (Delfa *et al.*, 1995).

1.4.5 Variables ruminales

La toma de muestra de líquido ruminal se realizó a los 60 días del experimento, por medio de sonda esofágica tres horas después de dar el alimento por la mañana, para determinar pH, concentración de AGV's y N-amoniaco. Las muestras de líquido ruminal se acidificaron con ácido metafosfórico en una relación 4:1, el pH se midió con un potenciómetro Thermo Scientific A121. La concentración de AGV's, (Erwin *et al.*, 1961) se realizó con un cromatógrafo de gases (HP 6890, USA), la determinación de la concentración de N-amoniaco se realizó con un espectrofotómetro Cary 1E Varian, USA (McCullough, 1967).

1.4.6 Balance de nitrógeno

Al concluir la prueba de comportamiento, se seleccionaron ocho corderos al azar por cada tratamiento colocados en jaulas metabólicas para la recolección de muestras de heces y orina durante un periodo de 8 días. Al finalizar los ocho días de muestreo, se mezclaron las muestras diarias de cada cordero, para obtener una sola muestra por animal. La recolección de orina total, se realizó colocando recipientes bajo la jaula con 10 ml de ácido clorhídrico al 50% para evitar la pérdida de amoníaco. La colecta de orina se realizó simultáneamente a la colecta de heces, las muestras de orina de cada cordero fueron homogenizadas y se tomó una muestra de 100 ml para su posterior análisis. El balance de nitrógeno se calculó mediante la fórmula de Harris (1970):

Balance de nitrógeno = nitrógeno consumido – nitrógeno excretado.

1.4.7 Determinación de las características físico-químicas de la canal

Los corderos fueron sacrificados mediante decapitación, previo ayuno de 12 h. Se calculó el rendimiento de la canal caliente (RCC), y rendimiento biológico de la canal caliente (RBCC), utilizando las siguientes formulas:

$$RCC = \left[\left(\frac{PCC}{PVS} \right) * 100 \right]$$

$$RBCC = \left[\left(\frac{PCC}{PVV} \right) * 100 \right]$$

PVS = peso en vivo al sacrificio.

PVV = peso vivo vacío (PVS – el peso del contenido gastrointestinal).

PCC = peso de la canal caliente.

Para la medición de pH y temperatura se utilizó un potenciómetro (Hanna HL99163) con electrodo de penetración. La determinación se realizó en el músculo *Longissimus dorsi* directamente en la

canal, entre la vértebra torácica y la primera lumbar, registrando los valores a los 15 minutos después del sacrificio.

1.4.8 Vida de anaquel

Se tomaron muestras de músculo *Longissimus dorsi* de los corderos sacrificados; este se cortó en cinco porciones iguales para ser empaquetadas y almacenadas a -4 ° C para su posterior evaluación a las 24 h *post mortem*, y a los 3, 6, 12 y 24 días, para determinar la vida de anaquel. Las variables evaluadas en cada periodo fueron pH y temperatura mediante un potenciómetro (Hanna HL99163). En el análisis de composición química de la carne se determinó proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), materia seca (MS) y cenizas de acuerdo a la metodología propuesta por AOAC (2012)

1.4.9 Actividad antioxidante

Una muestra de músculo *Longissimus dorsi* se tomó de cada animal, se almacenó a una temperatura de -60 °C, durante 24 horas, posteriormente se liofilizó y molió. Se determinó la capacidad antioxidante del ion férrico (FRAP) mediante la técnica descrita por Benzie y Strain (1999) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrita por Ohkawa *et al.*, 1979).

1.4.10 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar para las variables de comportamiento productivo, variables ruminales, balance de nitrógeno, rendimiento de la canal caliente y actividad antioxidante. Con la información obtenida se realizaron análisis de varianza y se compararon las medias de los tratamientos usando la prueba de Tukey mediante el procedimiento PROC GLM (SAS, 2018). Las variables de vida de anaquel se analizaron con un procedimiento PROC MIXED (SAS, 2018) y un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Aceite esencial de orégano

Los resultados del análisis cromatográfico del AEO indicaron una proporción de Timol/Carvacrol de 6.9/93.1% En el análisis de cromatografía del AEO se observan trece compuestos, los cuales se muestran en el Cuadro 2.2. La composición de los polifenoles del AEO puede variar, dependiendo del género de orégano, la especie y subespecie utilizada, además de la parte de la planta que se destile (Amadio *et al.*, 2011). Normalmente se presentan dos o tres componentes principales en concentraciones altas: carvacrol, p-cimeno y timol (monoterpenos); y cariofileno (sesquiterpeno); el resto de los compuestos en concentraciones traza. El factor relacionado con la obtención de estas

concentraciones, es la técnica de extracción. En este caso las concentraciones de monoterpenos se tienen en un porcentaje mayor al usar la técnica de extracción con vapor de agua (Cerón Salazar y Cardona Alzate, 2011).

Cuadro 1.2 Compuestos contenidos en el aceite esencial de orégano *L. graveolens*.

TR	%	Compuesto	IK	IK Adams
4.89	0.63	a-Pineno	936	932
5.99	3.12	b-Mirceno	992	988
6.60	3.00	a-Terpinino	1020	1014
6.82	29.13	p-Cimeno	1031	1020
6.89	0.66	D-Limoneno	1033	1024
10.65	0.96	4-Terpineol	1169	1155
12.13	0.66	Timol metil éter	1237	1232
13.61	3.72	Timol	1294	1289
13.97	50.21	Carvacrol	1315	1298
17.02	4.16	Cariofileno	1428	1417
17.44	0.74	No identificado	1445	1493
17.85	2.12	a-Cariofileno	1462	1452
18.47	0.88	No identificado	1487	1496

TR: tiempo de retención en minutos, %: proporción de la muestra, IK: índices Kovat (Kovats, 1965) experimentales
IK Adams: índices Kovat reportados por Adams (Adams, 1996).

2.5.2 Comportamiento productivo

Los resultados de la prueba de comportamiento en ovinos en crecimiento se muestran en el Cuadro 2.3. El efecto del AEO en la producción puede verse afectado por su tipo, composición, condiciones de procesamiento y conservación, esto determina sus propiedades biológicas (Bakkali *et al.*, 2008).

Cuadro 1.3 Variables productivas de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO en la dieta.

Variables	Tratamientos			EEM	P<F
	T1	T2	T3		
PI (kg)	29.05	27.93	29.49	2.95	0.3942
PF (kg)	48.83	48.29	48.94	3.85	0.8985
CMS (kg)	1.54	1.51	1.53	0.12	0.8530
GDP (kg d ⁻¹)	0.329	0.339	0.324	0.04	0.7301
CA	4.61	4.40	4.66	0.58	0.4772
EG (mm)	3.46	3.58	3.69	0.50	0.5132
AOL (mm ²)	1233.69	1194.42	1176.62	88.36	0.2561

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO, PI=Peso inicial, PF=Peso final, CMS=Consumo de materia seca, GDP=Ganancia diaria de peso, CA=Conversión alimenticia, EG=Espesor de grasa dorsal, AOL=Área del músculo *Longissimus dorsi*. EEM=error estándar de la media. No se encontraron diferencias significativas (P>0.05).

La adición de 0.02 y 0.04% de AEO en la dieta no disminuyó el consumo de materia seca, el peso final, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia (P<0.05). Estos resultados son similares a los que obtuvieron Gümüş *et al.* (2017) en un estudio donde evaluaron la inclusión de 2000 g t⁻¹ y 4000 g t⁻¹ de (Orego-Stim de Ecopharm Hellas S.A, Kilkis, Grecia), con un contenido de 5% de AEO (*O. vulgare subsp. Hirticum*) y 95% de vehículo inerte a la dieta de corderos, sin que observaran diferencias. En el estudio realizado por Ünal Baruh y Kocabağlı (2017), tampoco encontraron diferencias (P>0.05) en las variables de peso al incluir AEO en la dieta de corderos. En becerros suplementados con AEO al 1% y 1.5% no se presentaron diferencias significativas en el peso final y consumo de alimento (Ozkaya *et al.*, 2018). Sin embargo, otros estudios muestran diferencias, observando valores más altos en los tratamientos con inclusión de AEO. El uso de AEO en corderos, mostró un peso corporal de 23.07 kg al incluir 2 g día⁻¹ de OILIS SD (NEOVIA/Francia que es una mezcla del AEO *O. vulgare* y aceite esencial de *Citrus spp.* el cual fue mayor (P<0.05) en comparación al tratamiento testigo que tuvo un valor para el peso corporal de corderos de 20.43 kg (Dudko *et al.*, 2018). Los resultados positivos encontrados en esta investigación pueden deberse a que debido a que se utilizaron dos aceites esenciales distintos, pudo

haberse presentado una interacción de los compuestos con un efecto sinérgico, lo que favoreció la efectividad de la mezcla en el comportamiento productivo de los corderos (Marie *et al.*, 2009). En cabras al proporcionar una mezcla de AEO y Co en dosis de 52 y 92 mg día⁻¹ por animal, se obtuvieron los valores más altos (P<0.05) en las variables de peso final, ganancia diaria de peso y peso de la canal, en comparación con el tratamiento testigo (Lei *et al.*, 2018).

1.5.3 Variables ruminales

Las variables ruminales (Cuadro 2.4) no se vieron afectadas al incluir AEO. El valor de pH se encontró dentro del rango normal en el rumen (Ojeda *et al.*, 2012). El pH es un factor que tiene un gran efecto en las poblaciones bacterianas del rumen (Challacombe y Kuske, 2012). Los valores de los ácidos grasos volátiles, componentes traza (ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido valérico) y nitrógeno amoniacal no presentaron diferencias (P<0.05), esto coincide con un estudio *in vitro* donde se evaluó una mezcla de aceites esenciales de orégano, tomillo, canela y limón, en dosis de 0, 50, 200 and 500 mg L⁻¹, no encontrando diferencias en los valores de las variables ruminales en relación al testigo (Lin *et al.*, 2012). La variabilidad de los compuestos de los aceites esenciales, puede tener diversos efectos (aditivos, sinérgicos o antagónicos), encontrando datos variables debido al efecto del AEO (Burt, 2004).

Cuadro 1.4 Variables ruminales de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO en la dieta.

Variables	Tratamientos			EEM	P<F
	T1	T2	T3		
pH	6.26	6.14	6.26	0.40	0.7391
ACE (mmol l ⁻¹)	45.73	42.37	45.49	7.31	0.4346
PRO (mmol l ⁻¹)	28.87	27.42	26.46	9.07	0.7930
BUT (mmol l ⁻¹)	7.50	7.41	6.98	2.81	0.8819
A: P (mmol l ⁻¹)	1.71	1.65	1.75	0.56	0.8964
Otros [‡] (mmol l ⁻¹)	2.14	2.34	1.88	0.74	0.3135
Total (mmol l ⁻¹)	84.25	78.77	78.52	17.17	0.6334
NH ₃ (mg dl ⁻¹)	15.09	12.49	11.70	7.11	0.4535

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO. ACE=Ácido acético, PRO=Ácido propiónico, BUT=Ácido butírico, A: P=Relación del ácido acético: propiónico.

£=Sumatoria de ácido isobutírico, isovalérico y valérico. EEM=error estándar de la media. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$).

1.5.4 Balance de nitrógeno

El Cuadro 2.5 muestra los resultados de balance de nitrógeno (N) obtenidos con los diferentes niveles de inclusión de AEO en dietas para ovinos de engorda, no encontrando diferencias ($P>0.05$).

Cuadro 1.5 Balance de nitrógeno de ovinos alimentados con diferente porcentaje de inclusión de aceite esencial de orégano en la dieta.

Variables (g^{-1})	Tratamientos			EEM	P<F
	T1	T2	T3		
Nitrógeno consumido	39.47	36.67	34.94	4.379	0.1381
Nitrógeno en heces	1.082	1.073	1.061	0.177	0.9728
Nitrógeno en orina	14.24	14.66	14.01	1.486	0.6858
Nitrógeno retenido	24.15	20.94	19.86	4.439	0.1579
Nitrógeno retenido (%)	60.67	56.33	56.54	6.772	0.3691

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO. EEM: Error estándar de la media. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$).

El balance de nitrógeno depende del consumo de materia seca, concentración de N, digestibilidad de la dieta y la síntesis de proteína microbiana en el rumen. Soltan *et al.* (2018) encontraron diferencias ($P<0.05$) en el nitrógeno retenido, sugiriendo un efecto de la digestión postruminal de la dieta con microencapsulados de una mezcla de aceites esenciales (cinamaldehído, eugenol, carvacrol y oleoresina de pimienta). En este estudio la inclusión de AEO, no modificó el balance de nitrógeno ($P>0.05$), aunado a que el AEO no es considerado una fuente de nitrógeno.

1.5.5 Determinación de las características físico-químicas de la canal

Las variables de peso al sacrificio, peso de la canal caliente, rendimiento de la canal caliente, rendimiento biológico verdadero, temperatura y pH no presentaron diferencias ($P>0.05$) por efecto de la inclusión de AEO en la dieta (Cuadro 2.6.).

Cuadro 1.6 Rendimiento de la canal de ovinos alimentados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano en la dieta.

Variable	Tratamientos			EEM	P<F
	T1	T2	T3		
Peso al sacrificio (kg)	45.87	46.14	45.22	2.55	0.7565
Peso de la canal caliente (kg)	25.18	25.47	25.88	1.28	0.5533
Rendimiento de la canal caliente (%)	54.99	56.10	56.41	2.24	0.4544
Rendimiento biológico (%)	59.02	59.26	60.06	3.19	0.8021
pH (sacrificio)	6.08	5.92	5.97	0.31	0.6092
Temperatura (C °)	23.81	24.26	24.37	3.48	0.9479

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO. EEM: Error estándar de la media. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$).

Simitzis *et al.* (2008) reportaron que la suplementación con AEO (1 ml kg⁻¹ de MS) en la dieta de corderos con una concentración de (83.10%) de carvacrol y (2.10%) de timol, no afectó el peso final, peso de la canal caliente y el rendimiento de la canal. En el presente estudio tampoco se encontró efecto del AEO (con una concentración de 50.21 y 3.72% de carvacrol y timol respectivamente) en estas variables y concuerdan con los datos reportados por Ünal y Kocabağlı (2014), que adicionaron 250 y 500 ppm kg⁻¹ de MS de AEO en la dieta de corderos. En otro estudio donde se proporcionó AE más cobalto en la dieta de cabras, el peso final fue diferente con la inclusión de 91 mg de la mezcla por animal al día, así como el peso de la canal en comparación al testigo presentando diferencias ($P<0.05$) por la inclusión de la mezcla; esta diferencia la atribuyen a una estimulación del consumo (Lei *et al.*, 2018). La inclusión de orégano en polvo con una dosis de 150 g kg⁻¹ de MS en pollos broiler no afectó el rendimiento de la canal (Rivaroli *et al.*, 2016a). En los estudios donde se ha reportado un efecto positivo del AEO se considera que mejora la absorción de nutrientes (Janacua *et al.*, 2019). Ünal y Kocabağlı (2014) mencionan que los rendimientos de canal caliente están relacionados con los resultados obtenidos en el comportamiento productivo. Lo que concuerda con este estudio, donde los rendimientos de canal caliente fueron similares entre tratamientos. Los valores de pH fueron mayores a los reportados por Partida *et al.*, (2016). Sin embargo, Sañudo (2008) menciona que los valores de pH en un rango de 5.5 – 6.0 se consideran como normales.

1.5.6 Vida de anaquel

Los resultados de la composición química de la carne se presentan en el Cuadro 2.7. El porcentaje de proteína cruda de la carne fue diferente debido al tratamiento y tiempo ($P<0.05$). Los valores de materia seca presentaron diferencias debido al tiempo, sin embargo, no se observaron diferencias debido al tratamiento o por la interacción entre tratamiento y tiempo ($P>0.05$). Tampoco se encontraron diferencias por tratamiento, tiempo e interacción de tratamiento y tiempo ($P>0.05$) en los valores de extracto etéreo, cenizas y pH.

Cuadro 1.7 Vida de anaquel de la carne de ovinos alimentados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano en la dieta.

%	TRAT	Tiempo					P<F		
		24 h	3 d	6 d	12 d	24 d	Trat	T	Trat*T
PC	T1	17.03 _{ax}	15.98 _{ay}	15.29 _{ay}	14.75 _{ayz}	14.60 _{ayz}	0.05	0.05	0.06
	T2	17.08 _{ax}	16.25 _{ax}	16.55 _{bx}	16.83 _{bx}	16.57 _{bx}			
	T3	16.92 _{ax}	16.57 _{ax}	16.48 _{bx}	16.31 _{bx}	16.17 _{bx}			
MS	T1	25.54 _y	27.71 _x	27.78 _x	28.77 _x	24.13 _z	0.42	0.05	0.61
	T2	24.85 _y	27.93 _x	25.58 _{xy}	27.77 _x	24.78 _y			
	T3	25.54 _y	27.32 _x	27.88 _x	28.67 _x	24.58 _y			
EE	T1	13.93	16.70	14.84	16.55	15.47	0.44	0.74	0.78
	T2	13.77	13.98	13.11	14.54	15.73			
	T3	13.17	12.76	14.82	13.97	13.20			
CENIZAS	T1	4.25	4.12	4.15	4.75	4.10	0.38	0.25	0.20
	T2	4.39	4.33	4.36	4.18	4.65			
	T3	4.32	4.20	4.25	4.23	4.30			
pH	T1	5.53	5.34	5.45	5.44	5.28	0.79	0.16	0.88
	T2	5.46	5.38	5.56	5.39	5.49			
	T3	5.52	5.41	5.43	5.45	5.39			

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO. EEM: Error estándar de la media. x, y=Literales diferentes en la misma fila indican diferencias ($P<0.05$). a, b=Literales diferentes en la misma columna indican diferencias ($P<0.05$). TRAT=Tratamiento, T=Tiempo, TRAT*T=Interacción tratamiento tiempo. PC=Proteína cruda, MS=Materia seca, EE=Extracto etéreo, C=Cenizas, pH=Potencial hidrógeno.

El contenido de proteína cruda en la carne a las 24 h y tres días, fueron similares entre tratamientos, para el día 6, 12 y 24, los tratamientos con inclusión de AEO presentaron valores más altos de proteína cruda en carne, en comparación con el tratamiento testigo ($P < 0.05$). El tratamiento testigo, presentó diferencias a través del tiempo con las siguientes medias de proteína cruda de la carne 17.03, 15.98, 15.29, 14.75, y 14.60 para las 24 h, 3, 6, 12 y 24 días, respectivamente. La adición de AEO no afectó la composición química de la carne a las 24 h, ya que las dietas fueron isoenergéticas e isonitrogenadas. Los resultados observados para estas variables son similares a los encontrados por Rivaroli *et al.* (2016b), dónde evaluaron una mezcla de aceites esenciales (orégano, ajo, limón, romero, tomillo, eucalipto y naranja) en la dieta de becerros. El valor de la proteína cruda en la carne a las 24 h no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos. La oxidación de la grasa tiene un efecto importante por la formación de peróxidos y aldehídos, estos productos reaccionan fácilmente con las proteínas de la carne afectando la calidad de la misma durante el almacenamiento (Waszkiewicz-Robak *et al.*, 2017). En este estudio el contenido de grasa no fue diferente ($P > 0.05$), sin embargo, la inclusión de 0.02 y 0.04% de AEO en la dieta disminuyó la oxidación lipídica, por lo que la proteína se mantuvo por mayor tiempo en los tratamientos con AEO. La materia seca fue diferente a través del tiempo ($P < 0.05$) en los tres tratamientos, esta variación pudo verse afectada por el contenido de grasa en el músculo *Longissimus dorsi* si bien el extracto etéreo de la carne no presentó diferencias ($P > 0.05$); por efecto de tiempo y tratamiento, su variación numérica se pudo reflejarse en el porcentaje de MS. Rotondi *et al.*, (2018) y Shashie *et al.*, (2018) encontraron resultados donde el porcentaje de MS aumentaba al aumentar el contenido de grasa intramuscular presentando diferencias ($P < 0.05$) en la variable de materia seca de la carne en la evaluación de calidad de carne de borregos y cabritos. El pH afecta diversas características de la calidad de la carne, la vida útil puede disminuir, afectar la terneza y el color, los rangos deseables de pH en la carne de ovino se encuentran entre 5.4 y 5.8 (Al-Khalasi y Mahgoub, 2018). Los valores de pH en este estudio se encontraron dentro de este rango, sin presentar diferencias por efecto de tratamiento, tiempo e interacción de ambos factores ($P > 0.05$). Pérez *et al.* (2012) reportaron valores de extracto etéreo de 16.8 y un contenido de minerales de 1.2 en corderos de raza Merino, similares en grasa a lo observado en este experimento, pero diferente al de cenizas, que fue menor en comparación a los encontrados en esta investigación, con medias de 4.25, 4.39 y 4.32 para los tratamientos de T1, T2 y T3 respectivamente. Sin embargo,

Shashie *et al.* (2018), reportan valores en el porcentaje de cenizas entre 4.08 a 6.15, más cercanos a los observados en el presente estudio.

1.5.7 Actividad antioxidante

En muestras de músculo *Longissimus dorsi*, se determinó la capacidad antioxidante mediante la técnica de FRAP; los resultados presentaron diferencias ($P<0.05$) con los siguientes valores de las medias 1.49, 1.76 y 2.13, para los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente. El valor de TBARS se vio afectado debido a la inclusión de AEO, presentando un valor menor el T3, con una media de 7.28 ($P<0.05$). Los resultados se muestran en el (Cuadro 2.8).

Cuadro 1.8 Valores de FRAP y TBARS en músculo *Longissimus dorsi* de ovinos alimentados con diferentes dosis de AEO.

Variable	TRATAMIENTOS			EEM	P<F
	T1	T2	T3		
FRAP (mcmol Trolox g ⁻¹ de proteína)	1.49a	1.76ab	2.13b	0.29	0.0011
TBARS (nmol MDA g ⁻¹ de proteína)	13.26a	9.31b	7.28b	2.93	0.0047

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T3=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO. EEM: Error estándar de la media. a,b=Literales diferentes en la misma fila indican diferencias ($P<0.05$).

Una de las limitantes para la vida útil de la carne y su almacenamiento en refrigeración o congelación es la oxidación de los lípidos; estos al oxidarse causan un deterioro importante en su calidad (Campo *et al.*, 2006). El valor de FRAP en el T3 con inclusión de 0.04% de AEO fue diferente a la dieta testigo T1 ($P<0.05$), lo que indica que al agregar AEO en la dieta se tuvo una mayor capacidad antioxidante. Existen diversos estudios donde se evalúa la capacidad antioxidante del AEO: Soto-Domínguez *et al.* (2012) mencionan que la actividad antioxidante del orégano aumenta conforme se aumenta la concentración del extracto. Velasco *et al.* (2017) evaluaron el uso de orégano seco (*Origanum vulgare*) en la dieta de pollos y encontraron que la oxidación en músculo del muslo era mayor en el tratamiento testigo, en comparación a los tratamientos con inclusión de orégano seco; los tratamientos con inclusión de 3.75 y 5% mostraron índices menores de peróxidos ($P<0.05$). En otro estudio donde se evaluó la actividad antioxidante en carne de cordero utilizando AEO en una dosis de 1ml kg⁻¹ de concentrado, se observó que la inclusión de AEO en la dieta redujo ($P<0.05$) la oxidación lipídica (Simitzis *et al.*, 2008). Los valores de

TBARS con inclusión de 0.02 y 0.04% fueron menores en comparación al tratamiento testigo, lo que indica una menor oxidación.

1.6 CONCLUSIÓN

La adición de 0.02% y 0.04% de AEO en la dieta no afectó ($P>0.05$) las variables de comportamiento productivo, el balance de N, ni las variables ruminales. Sin embargo, el porcentaje de proteína cruda se mantuvo estable hasta los 24 d en la carne al incluir AEO en 0.02 y 0.04 % en la dieta. También se observó que la actividad antioxidante en la carne fue mayor en las dietas con inclusión de AEO, por lo que la inclusión de 0.02% de AEO en la dieta de ovinos en crecimiento, mantiene la estabilidad de la proteína cruda de la carne y su actividad antioxidante aumentando la vida de anaquel.

1.7 LITERATURA CITADA

- Adams, R. P. (1996). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(6), 594. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20083116584>
- Al-Khalasi, S., y Mahgoub, O. (2018). Carcass and Meat Quality Characteristics of Omani Sheep Fed Diets Based on Raw or Processed Mesquite (*Prosopis Juliflora*) Pods. *Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry*, 6(6). <https://doi.org/10.15744/2348-9790.6.301>
- Amadio, C., Medina, R., Dediol, C., Zimmermann, M., y Miralles, S. (2011). Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*.
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International: Agricultural chemicals, contaminants, drugs.* (P. Cunniff, Ed.) (19a ed.). Gaithersburg, MD (USA): AOAC International, 2000. Recuperado de <https://books.google.com.mx/books?id=jN0NzQEACAAJ>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Benzie, I. F. F., y Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299(1995), 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72(2), 303–311. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.07.015>
- Cerón Salazar, I., y Cardona Alzate, C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja. *Ingeniería y ciencia*, (13), 65–86.
- Challacombe, J., y Kuske, C. (2012). Mobile genetic elements in the bacterial phylum Acidobacteria. *Mobile Genetic Elements*, 2(4), 179–183. <https://doi.org/10.4161/mge.21943>
- CP, C. de P. (2019). Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación. Recuperado de http://www.colpos.mx/wb_pdf/norma_interna/reglamento_usoycuidadoanimales_050819.pdf
- Delfa, R., Teixeira, A., Gonzalez, C., y Blasco, I. (1995). Ultrasonic estimates of fat thickness and Longissimus dorsi muscle depth for predicting carcass composition of live Aragon lambs. *Small Ruminant Research*, 16(2), 159–164. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00632-U](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00632-U)
- Dudko, P., Junkuszew, A., Bojar, W., Milerski, M., Szczepaniak, K., Le Scouarnec, J., ... Grzybek,

- M. (2018). Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (Lamiaceae) and *Citrus* spp. (Citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1), 57–65. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1346965>
- Erwin, E. S., Marco, G. J., y Emery, E. M. (1961). Volatile Fatty Acid Analyses of Blood and Rumen Fluid by Gas Chromatography. *Journal of Dairy Science*, 44(9), 1768–1771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89956-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6)
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (Quinta edi). México. Recuperado de http://www.igeograf.unam.mx/sigg/utilidades/docs/pdfs/publicaciones/geo_siglo21/serie_lib/modific_al_sis.pdf
- García Pérez, E., Castro Álvarez, F. F., Gutiérrez Uribe, J. A., y García Lara, S. (2012). Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 339–353. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i2.1467>
- Gümüş, R., Erol, H. S., İmik, H., y Halici, M. (2017). Kuzu rasyonuna ilave edilen kekik yağının performans, bazı kan parametreleri ile et ve karaciğer dokularında antioksidan metabolizma üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(3), 395–401. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.16791>
- Harris, L. (1970). Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Animal Science Dept., Utah State University. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300551102>
- Janacua-Vidales, H., Peña-González, E., Alarcon-Rojo, A. D., Ortega-Gutiérrez, J., y Aguilar-Palma, N. (2019). Determination of carcass yield, sensory and acceptance of meat from male and female pigs with dietary supplementation of oregano essential oils. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 668–678. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1553507>
- Jayasena, D. D., y Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 34(2), 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>
- Kovats, E. S. (1965). Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Adv. Chromatogr.*, 1, 229–247.
- Lei, Z., Zhang, K., Li, C., Wu, J., Davis, D., Casper, D., ... Wang, J. (2018). Dietary supplementation with Essential-oils-cobalt for improving growth performance, meat quality and skin cell capacity of goats. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29897-3>
- Lin, B., Lu, Y., Wang, J. H., Liang, Q., y Liu, J. X. (2012). The effects of combined essential oils along with fumarate on rumen fermentation and methane production in vitro. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21(1), 198–210. <https://doi.org/10.22358/jafs/66064/2012>
- Marie, M. C., Hoste, H., Mahieu, M., Varo, H., y Archimede, H. (2009). In vitro effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 161(1–

- 2), 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.12.008>
- McCullough, H. (1967). The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17(2), 297–304. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)
- NRC, C. N. R. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants. Nutrient Requirements of Small Ruminants*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11654>
- Ohkawa, H., Ohishi, N., y Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Ojeda, Á., Reyes, M., y Rodríguez, W. (2012). Efecto de la liberación controlada de nitrógeno sobre la fermentación y la degradabilidad in situ de *Cynodon dactylon*. *Revista MVZ Cordoba*, 17(3), 3133–3139. <https://doi.org/10.21897/rmvz.212>
- Ozkaya, S., Erbas, S., Ozkan, O., Baydar, H., y Aksu, T. (2018). Effect of supplementing milk replacer with aromatic oregano (*Oreganum onites* L.) water on performance, immunity and general health profiles of Holstein calves. *Animal Production Science*, 58(10), 1892–1900. <https://doi.org/10.1071/AN16574>
- Partida, de la P. J. A., Casaya, R. T. A., Rubio, L. M. S., y Méndez, M. R. D. (2016). Efecto del clorhidrato de zilpaterol sobre las características de la canal en cruza terminal de corderos Kathadin. *Veterinaria México OA*, 2(2), 1–13. <https://doi.org/10.21753/vmoa.2015.2.2.1>
- Pérez, P., Maino, M., Morales, M. S., Tomic, G., Aguilera, F., y Egaña, J. I. (2012). Meat quality and carcass characteristics of Merino Precoce suckling lambs raised under confinement in the Mediterranean semi-humid dryland of Central Chile. *Ciencia e investigación agraria*, 39(2), 289–298. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202012000200005>
- Rivaroli, D. C., Guerrero, A., Velandia Valero, M., Zawadzki, F., Eiras, C. E., Campo, M. del M., ... Nunes do Prado, I. (2016a). Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Science*, 121, 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.017>
- Rivaroli, D. C., Guerrero, A., Velandia Valero, M., Zawadzki, F., Eiras, C. E., Campo, M. del M., ... Nunes do Prado, I. (2016b). Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Science*, 121, 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.017>
- Rotondi, P., Colonna, M. A., Marsico, G., Giannico, F., Ragni, M., y Facciolongo, A. M. (2018). Dietary supplementation with oregano and linseed in gorganica suckling kids: Effects on growth performances and meat quality. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(4), 1421–1433. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2018.50.4.1421.1433>
- Salazar, J. E. (2006). El nitrógeno en los sistemas ganaderos de leche. *Agronomía Mesoamericana*, 17(3), 69–77.
- Sañudo Astiz, C. (2008). Qualidade da carcaça e da carne ovina e caprina em face ao

desenvolvimento da percepção do consumi. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(SPECIALISSUE), 143–160. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001300018>

SAS, I. I. (2018). *SAS/STAT® 15.1 User's Guide*. Cary, NC.

Shashie, A., Urge, M., Animut, G., y Kurtu, M. Y. (2018). *East African Journal of Veterinary and Animal Sciences* (2018) Comparative Evaluation of Proximate Chemical Composition and Eating Quality of Meat from Three Selected Ethiopian Sheep Breeds in Different Levels of Concentrate Supplement, 2, 99–106.

Simitzis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., Dardamani, A., Theodosiou, I., y Fegeros, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Science*, 79(2), 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.09.005>

Soltan, Y. A., Natel, A. S., Araujo, R. C., Morsy, A. S., y Abdalla, A. L. (2018). Progressive adaptation of sheep to a microencapsulated blend of essential oils: Ruminant fermentation, methane emission, nutrient digestibility, and microbial protein synthesis. *Animal Feed Science and Technology*, 237(March), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.004>

Soto-Domínguez, A., García-Garza, R., Ramírez-Casas, Y., Morán-Martínez, J., y Serrano-Gallardo, L. B. (2012). El Extracto Acuoso de Orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México Tiene Actividad Antioxidante sin Mostrar un Efecto Tóxico in vitro e in vivo. *International Journal of Morphology*, 30(3), 937–944. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022012000300029>

Ünal, A., y Kocabağlı, N. (2014). Effect of different dosages of oregano oil on performance and some blood parameters in lambs. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 61(3), 199–204. https://doi.org/10.1501/vetfak_00000002629

Ünal Baruh, A., y Kocabağlı, N. (2017). Effect of different levels of oregano essential oil on some rumen parameters in lambs. *Istanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 43(2), 116–122. <https://doi.org/10.16988/iuvfd.322369>

Velasco, V., Bravo, P., Williams, P., Campos, J., Astudillo, R., y Melín, P. (2017). Estabilidad durante el almacenamiento de carne de pollos alimentados con orégano seco (*Origanum vulgare* L.) en la dieta. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*, 33(1), 28–38. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902017005000104>

Waszkiewicz-Robak, B., Obiedziński, M. W., Biller, E., y Obiedzińska, A. (2017). Nutraceuticals in Animal Nutrition and Their Effect on Selected Quality Characteristics of Beef . a Review Article. *Pol. J. App. Sci.*, 3, 73–77.

Watabiki, T., Tokiyasu, T., Ishida, N., y Ogawa, K. (1989). Double Staining Procedure for Histochemical Localization of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Activities in the Mouse Liver. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 22(3), 401–406. <https://doi.org/10.1267/ahc.22.401>

Zeng, Z., Zhang, S., Wang, H., y Piao, X. (2015). Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0004-5>

CAPÍTULO 2. ACTIVIDAD LARVICIDA *in vitro* DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Lippia graveolens*) EN NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS

2.1 RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue hacer la evaluación *in vitro* de aceite esencial de orégano *Lippia graveolens* (AEO) para determinar su efecto larvicida sobre nematodos gastrointestinales de ovinos. Se realizó una prueba de mortalidad larval *in vitro*, evaluando dos concentraciones de AEO: 0.02 y 0.04 mg ml⁻¹, además de un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo comercial (0.1 mg ml⁻¹ de levamisol). Los resultados mostraron que los tratamientos con AEO o levamisol produjeron mayor (P<0.0001) mortalidad larval (100%) que con el tratamiento de agua destilada a las 24 h. Se concluye que el AEO a 0.02 mg ml⁻¹ tuvo una eficacia del 100% contra larvas de nematodos gastrointestinales, mostrando buena eficacia larvicida *in vitro*.

Palabras clave: mortalidad larval, terpenos, efectividad. (*Fuentes: MeSH, DeCS*).

2.2 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of oregano essential oil (*Lippia graveolens*) (AEO) on larvae survival on gastrointestinal nematodes of sheep. An *in vitro* larval mortality test was performed, evaluating two concentrations of AEO 0.02 and 0.04 mg ml⁻¹, and two controls: distilled water, and 0.1 mg ml⁻¹ of levamisole. The results of the treatment with AEO and levamisole produced higher (P<0.0001) larval mortality (100%) than which the treatment of distilled water at 24 h, It is concluded that the AEO at 0.02 mg ml⁻¹ was 100% effective against larvae of gastrointestinal nematodes, when it was applied *in vitro*.

Key words: larval mortality, terpenes, effectiveness. (*Fuentes: MeSH, DeCS*).

2.3 INTRODUCCIÓN

Los nematodos gastrointestinales (NGI) son uno de los principales problemas en los sistemas de producción de pequeños rumiantes, causando anemia, condición corporal baja, diarrea y en casos de infestación graves la muerte (Barone *et al.*, 2018). Esto genera un impacto económico negativo debido a pérdidas directas e indirectas, además de que el uso inadecuado de medicamentos

antihelmínticos ha provocado que se generen parásitos resistentes, además de residuos que afectan el ambiente y a alimentos de origen animal que pueden repercutir en el consumidor (Silva Soares *et al.*, 2018). Una población resistente fue definida por Conder y Campbell (1995) como “una reducción hereditaria de la sensibilidad de una población de parásitos a la acción de una droga”, debido a esto se busca obtener alternativas naturales que ayuden al control de los NGI. Los metabolitos secundarios como los aceites esenciales de las plantas o frutas pueden ser eficaces para el control de parásitos, por lo que se pueden usar como una alternativa (Barone *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2017). Estos compuestos secundarios pueden reducir la carga parasitaria y la inhibición de los cambios patofisiológicos negativos causados en el huésped (Hoste *et al.*, 2015). El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto *in vitro* del aceite esencial de orégano *Lippia graveolens* sobre larvas L₃ de nematodos gastrointestinales de ovinos.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

2.4.1 Obtención de huevos

Las muestras se obtuvieron de un rancho particular del municipio de Texcoco, estado de México, donde se colectaron de 10 a 15 g de heces directamente del recto de borregas de edad aproximada de dos años, cruce Suffolk × Dorper; las muestras se transportaron al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM en una hielera con gel refrigerante. Inmediatamente se realizó la técnica de McMaster para verificar la presencia de huevos de NGI (Miller, 1997).

2.4.2 Obtención de larvas

Se realizó un coprocultivo a partir de los huevos obtenidos, se agregó hule espuma finamente picado y la mezcla se colocó en una estufa a 37°C durante un periodo de 10 días para obtener larvas L₃. Posteriormente a la incubación, la mezcla se depositó en un equipo Baermann, que se basa en la migración activa de las larvas, hundiéndose hacia el fondo para posteriormente ser colectadas (Wagland *et al.*, 1992).

2.4.3 Aceite esencial de orégano (AEO)

Se utilizó AEO (ORE, Saucillo, Chih) proveniente de orégano silvestre *L. graveolens*, recolectado en los meses de agosto y septiembre. El aceite de orégano utilizado fue certificado como producto

orgánico por BioAgriCert Certificate N° 00062_2017control code MXBIO132k77W que garantiza que se ajusta a los estándares orgánicos (REG UE.2019/91). El aceite fue analizado por cromatografía de gases-masas en el Laboratorio de Ecología Química y Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad perteneciente a la UNAM.

2.4.4 Mortalidad de larvas

Se determinó la mortalidad de larvas en una microplaca de 25 pozos en los que se colocaron 25 larvas L₃ contenidas en 1 ml de agua. Se evaluaron dos concentraciones de AEO (*L. graveolens*) 0.02 y 0.04 mg ml⁻¹. Además de un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo comercial (0,01 mg ml⁻¹ de levamisol). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. Las especies de nematodos encontrados fueron *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp.*, y *Oesophagostomum spp.* Se incubaron durante 24 h a 27°C y se observaron en un microscopio compuesto (10x). Se determinó el porcentaje de inhibición de la motilidad (Marie *et al.*, 2009). Para determinar la efectividad del extracto se contabilizaron las larvas para obtener el porcentaje de eficiencia (Cabardo y Portugaliza, 2017). Se consideró como larvas muertas, aquellas que presentaran un cuerpo estirado o enroscado, sin movimiento sinusoidal después de haber sido estimuladas por la luz del microscopio.

La eficiencia del AEO a las diferentes dosis fue calculada de acuerdo a Wood *et al.* (1995) mediante la siguiente fórmula:

$$\%Eficiencia = [(C-T/C) * 100]$$

Dónde:

C= Promedio o porcentaje del grupo control.

T= Promedio o porcentaje del grupo tratado.

2.4.5 Análisis estadístico

El porcentaje de eficiencia para control de nematodos gastrointestinales se analizó mediante la prueba de Kruskal Wallis, el valor probabilístico indicativo de significancia estadística fue de (p<0,05), los datos se analizaron con el programa estadístico SAS 9.4 utilizando el procedimiento NPAR1WAY WILCOXON (SAS, 2018).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis cromatográfico del AEO mostró trece compuestos, de los cuales seis (carvacrol, p-cimeno, cariofileno, timol, b-mirceno y a-terpinino) se encontraban en mayor concentración porcentual (Cuadro 3.1).

Cuadro 2.1 Compuestos contenidos en el aceite esencial de orégano *L. graveolens* utilizado en la prueba in vitro.

TR	%	Compuesto	IK	IK Adams
4.89	0.63	a-Pineno	936	932
5.99	3.12	b-Mirceno	992	988
6.60	3.00	a-Terpinino	1020	1014
6.82	29.13	p-Cimeno	1031	1020
6.89	0.66	D-Limoneno	1033	1024
10.65	0.96	4-TErpineol	1169	1155
12.13	0.66	Timol metil éter	1237	1232
13.61	3.72	Timol	1294	1289
13.97	50.21	Carvacrol	1315	1298
17.02	4.16	Cariofileno	1428	1417
17.44	0.74	No identificado	1445	1493
17.85	2.12	a-Cariofileno	1462	1452
18.47	0.88	No identificado	1487	1496

TR: tiempo de retención en minutos, %: proporción de la muestra, IK: índices (Kovats, 1965) experimentales IK Adams: índices Kovat reportados por (Adams, 1996).

Se observó que las dosis utilizadas de AEO (0.02 y 0.04 mg ml⁻¹) mostraron resultados similares (P>0,001) al tratamiento positivo de Levamisol, con una eficiencia larvicida del 100%, en comparación con el tratamiento testigo con agua donde la eficacia fue de 0 % a las 24 h (Figura 1).

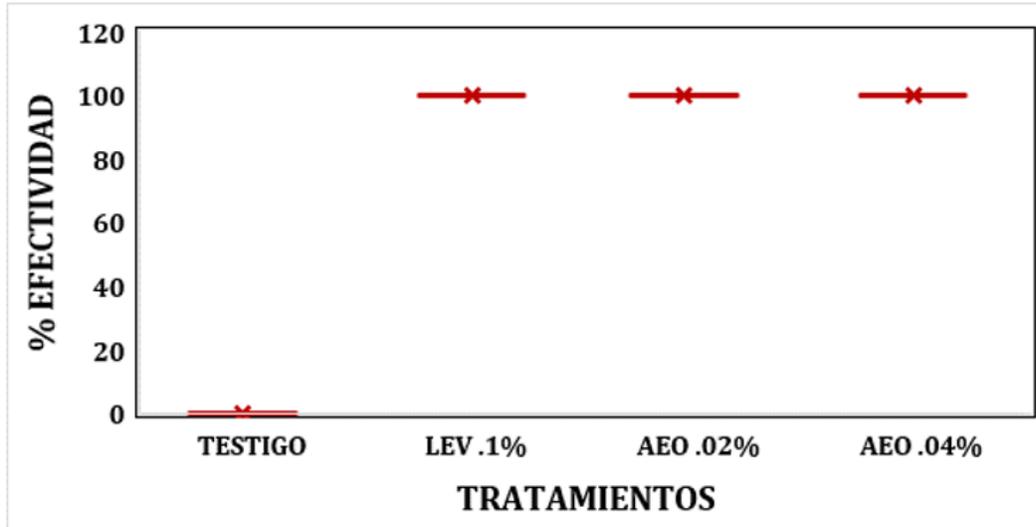


Figura 2.1 Distribución de puntuaciones Wilcoxon para el porcentaje de efectividad antihelmíntica del AEO.

La composición del AEO contenía una mezcla de diversos metabolitos secundarios que produce la planta que posiblemente le confieren capacidad larvicida. De los compuestos encontrados en el AEO utilizado en este estudio, el carvacrol y el timol se encontraron en una concentración de 50.21 y 3.72% , estos compuestos han demostrado tener diferentes funciones farmacológicas, entre ellas capacidad antihelmíntica (André *et al.*, 2017). En este estudio la efectividad del AEO contra larvas fue del 100% a las 24 h, similar al uso de acetato de carvacrol reportado por (André *et al.*, 2016) quienes realizaron un estudio *in vitro* de motilidad de larvas utilizando 1 ml de 200, 100, 50 y 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de acetato de carvacrol y carvacrol; cada tratamiento se aplicó a larvas L₃ de *Haemonchus contortus* que colocaron en placas de 24 pocillos con una densidad de tres larvas por pocillo. El tratamiento de acetato de carvacrol inhibió la motilidad de las larvas en un 100%, mientras que el carvacrol, inhibió la motilidad de larvas en un 41.8% a las 24 h, afectando principalmente a la cutícula. Se ha reportado que el modo en que actúa el carvacrol para tener efecto parasiticida es por su interacción con los receptores de acetilcolina (NACHR) en el sistema neuromuscular de los nematodos, lo que se ha observado en *Ascaris suum*, donde actúa como un antagonista de nACHR afectando la motilidad (Marjanović *et al.*, 2018). En el estudio realizado por André *et al.* (2017) se utilizó 1 ml de 800, 400, 200 y 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de acetato de timol y timol, los resultados mostraron una disminución en la motilidad de 83.4 y 100% respectivamente a las 24 h, el efecto del timol se atribuye a la inhibición de la actividad de las proteínas de la membrana (Sánchez *et al.*, 2004). El

efecto del AEO puede deberse a diversas características Marie *et al.* (2009) mencionan que la sinergia de varios terpenoides puede ser efectiva contra nematodos y helmintos. Los aceites esenciales en los que se encuentran los compuestos de timol y carvacrol afectan la cutícula y son neurotóxicos en nematodos (Lei *et al.*, 2010).

2.6 CONCLUSIONES

El aceite esencial de orégano *Lippia graveolens* a $0,02 \text{ mg ml}^{-1}$ tuvo una eficacia larvicida del 100% en 24 horas, contra larvas de nematodos gastrointestinales de ovinos, lo cual sugiere su potencial antiparasitario. Sin embargo, es necesario realizar evaluaciones de reducción de carga parasitaria en estudios *in vivo*.

2.7 LITERATURA CITADA

- Adams, R. P. (1996). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(6), 594. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20083116584>
- André, W. P. P., Cavalcante, G. S., Ribeiro, W. L. C., Dos Santos, J. M. L., Macedo, I. T. F., De Paula, H. C. B., ... Bevilaqua, C. M. L. (2017). Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 26(3), 323–330. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017056>
- Andre, W. P. P., Ribeiro, W. L. C., Cavalcante, G. S., Santos, J. M. L. do., Macedo, I. T. F., Paula, H. C. B. d., ... Bevilaqua, C. M. L. (2016). Comparative efficacy and toxic effects of carvacryl acetate and carvacrol on sheep gastrointestinal nematodes and mice. *Veterinary Parasitology*, 218, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.001>
- Barone, C. D., Zajac, A. M., Manzi-Smith, L. A., Howell, A. B., Reed, J. D., Krueger, C. G., and Petersson, K. H. (2018). Anthelmintic efficacy of cranberry vine extracts on ovine *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 253(July 2017), 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.016>
- Cabardo, D. E., and Portugaliza, H. P. (2017). Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 5(1), 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.02.001>
- Conder, G. A., and Campbell, W. C. (1995). Chemotherapy of Nematode Infections of Veterinary Importance, with Special Reference to Drug Resistance. *Advances in Parasitology* (Vol. 35). [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60069-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60069-X)
- Hoste, H., Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A., Mueller-Harvey, I., Sotiraki, S., Louvandini, H., ... Terrill, T. H. (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology*, 212(1–2), 5–17. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.06.026>
- Kovats, E. S. (1965). Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Adv. Chromatogr.*, 1, 229–247.
- Lei, J., Leser, M., and Enan, E. (2010). Nematicidal activity of two monoterpenoids and SER-2 tyramine receptor of *Caenorhabditis elegans*. *Biochemical Pharmacology*, 79(7), 1062–1071. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.11.002>
- Marie, M. C., Hoste, H., Mahieu, M., Varo, H., and Archimede, H. (2009). In vitro effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 161(1–2), 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.12.008>
- Marjanović, S. Đ., Bogunović, D., Milovanović, M., Marinković, D., Zdravković, N., Magaš, V., and Trailović, M. S. (2018). Anthelmintic activity of carvacrol, thymol, cinnamaldehyde and p-cymen against the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* and rat pinworm *Syphacia muris*. *Acta Veterinaria*, 68(4), 445–456. <https://doi.org/10.2478/acve-2018-0036>

- Miller, J. (1997). The epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of ruminants. *Preventive Veterinary Medicine*, 31(1–2), 161–162. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)83404-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)83404-6)
- Oliveira, A. F., Costa Junior, L. M., Lima, A. S., Silva, C. R., Ribeiro, M. N. S., Mesquista, J. W. C., ... Vilegas, W. (2017). Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. *Veterinary Parasitology*, 236, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.005>
- Sánchez, M. E., Turina, A. D. V., García, D. A., Nolan, M. V., and Perillo, M. A. (2004). Surface activity of thymol: Implications for an eventual pharmacological activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 34(2), 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2003.11.007>
- SAS, I. I. (2018). *SAS/STAT® 15.1 User's Guide*. Cary, NC.
- Silva Soares, S. C., de Lima, G. C., Carlos Laurentiz, A., Féboli, A., dos Anjos, L. A., de Paula Carlis, M. S., ... da Silva de Laurentiz, R. (2018). In vitro anthelmintic activity of grape pomace extract against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(2), 243–247. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.11.005>
- Wagland, B. M., Jones, W. O., Hribar, L., Bendixsen, T., and Emery, D. L. (1992). A new simplified assay for larval migration inhibition. *International Journal for Parasitology*, 22(8), 1183–1185. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(92\)90040-R](https://doi.org/10.1016/0020-7519(92)90040-R)
- Wood, I. B., Amaral, N. K., Bairden, K., Duncan, J. L., Kassai, T., Malone, J. B., ... Vercruyse, J. (1995). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology*, 58(3), 181–213. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)

CAPÍTULO 3. EFECTO *in vitro* DE LA ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO *Lippia graveolens* EN LA PRODUCCIÓN DE METANO

3.1 RESUMEN

Se realizó un estudio *in vitro* para evaluar el efecto de taninos condensados y diferentes dosis de aceite esencial de orégano (*Lippia graveolens*) en la producción de gas *in vitro*, concentración de metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂), ácidos grasos volátiles (AGV's), nitrógeno amoniacal (NH₃) y los valores del potencial hidrógeno (pH). Se evaluaron siete tratamientos, T1: dieta testigo; T2: con inclusión de 4% de taninos condensados kg⁻¹ de MS; T3, T4, T5, T6, T7: con inclusión de 0.02, 0.04, 0,06, 0.08 y 0.10% de aceite esencial de orégano AEO kg⁻¹ de MS, respectivamente, la concentración de CH₄ y CO₂ se realizó a las 24 y 48 h, el resto de las variables se evaluaron a las 6, 12, 24 y 48 h de incubación. Los resultados no mostraron diferencias en la producción de gas *in vitro* debido al tratamiento con inclusión de taninos o los distintos niveles de AEO (P>0.05); sin embargo, al aumentar el tiempo, se incrementó su producción (P>0.05), en tanto que la interacción tratamiento por tiempo no tuvo ningún efecto (P>0.05). El tiempo incrementó la producción de metano (P<0.05) en los tratamientos con inclusión de 4% de taninos y 0.02% de AEO kg⁻¹ de MS, presentando mayores valores a las 48 h. No obstante, no se encontraron diferencias debido al tratamiento o a la interacción tratamiento por tiempo (P>0.05). En interacción tratamiento por tiempo, fue diferente (P<0.05) el porcentaje de ácido acético con valores más altos para el T1, T5 y T6 en comparación con el resto de los tratamientos. El ácido butírico, tuvo mayores porcentajes en los tratamientos T2, T3, y T4 con medias de 10.33, 10.85 y 13.19%. El ácido propiónico presentó diferencias (P>0.05). La concentración de NH₃ aumentó a través del tiempo (P<0.05), observando la mayor concentración a las 48 h en todos los tratamientos, sin observar diferencias (P>0.05) debido al tratamiento o a la interacción tratamiento por tiempo. Los valores de pH no se vieron afectados (P>0.05) debido al tratamiento, tiempo o a la interacción tratamiento tiempo. Los niveles de taninos y de AEO usados en esta investigación *in vitro*, no redujeron la producción de gas, CH₄ y CO₂, los AGV's acético y butírico incrementaron su concentración, en tanto que los valores de NH₃ y pH fueron similares entre tratamientos.

Palabras clave: fermentación, ácidos grasos volátiles, rumen, microflora del rumen. (*Fuentes: AGROVOC, NAL*).

3.2 ABSTRACT

An in vitro study was conducted to evaluate the effect of condensed tannins and different doses of oregano essential oil (*Lippia graveolens*) on in vitro gas production, methane concentration (CH₄), carbon dioxide (CO₂), volatile fatty acids (AGV's), ammoniacal nitrogen (NH₃) and the values of the hydrogen potential (pH). Seven treatments were evaluated, T1: control diet; T2: including 4% of kg⁻¹ condensed tannins of DM; T3, T4, T5, T6, T7: including 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 and 0.10% of oregano essential oil AEO kg⁻¹ of DM, respectively. The concentration of CH₄ and CO₂ was performed at 24 and 48 h, the rest of the variables were evaluated at 6, 12, 24 and 48 h of incubation. The results did not show differences in the production of gas in vitro due to the treatment (P>0.05); however, with increasing time, their production increased (P>0.05), while the treatment-by-time interaction had no effect (P>0.05). The time increased the CH₄ production (P<0.05) in the treatments including 4% tannins and 0.02% AEO kg⁻¹ of DM, presenting higher values at 48 h. However, no differences were found due to treatment or treatment-time interaction (P>0.05). In treatment interaction by time, the percentage of acetic acid with higher values for T1, T5 and T6 was different (P<0.05) compared to the rest of the treatments. Butyric acid had higher percentages in treatments T2, T3, and T4 with means of 10.33, 10.85, and 13.19%. Propionic acid showed differences (P>0.05). The NH₃ concentration increased over time (P<0.05), observing the highest concentration at 48 h in all treatments, without observing differences (P>0.05) due to the treatment or the treatment interaction by time. The pH values were not affected (P>0.05) due to treatment, time or treatment time interaction. The tannin and AEO levels used in this in vitro investigation did not reduce the production of gas, CH₄ and CO₂, the acetic and butyric AGV's increased their concentration, while the NH₃ and pH values were similar between treatments.

Key words: fermentation, volatile fatty acids, rumen, rumen microflora. (*Fuentes: AGROVOC, NAL*).

3.3 INTRODUCCIÓN

La importancia de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) ha llevado a buscar alternativas que reduzcan la producción de CH₄, ya que éste tiene un potencial de calentamiento 25 veces mayor al del CO₂ (Benchaar *et al.*, 2011; Tekeli *et al.*, 2017). El sector agropecuario aporta alrededor de 13% de la emisión total de GEI en el mundo, 80% del óxido nitroso (N₂O) y el 50% de CH₄ (Benaouda *et al.*, 2017). El CH₄ es resultado de la fermentación entérica de los rumiantes representando una de las principales fuentes de producción; su formación depende del tipo y presentación del alimento, microflora ruminal presente, estado fisiológico y parámetros productivos del animal (Benaouda *et al.*, 2017; Benchaar y Greathead, 2011; Dämmgen *et al.*, 2012). La producción de CH₄ en los rumiantes constituye una pérdida de la eficiencia nutricional que alcanza el 7% de la energía bruta consumida, lo que afecta la producción en los sistemas pecuarios (Bonilla y Lemus, 2012; Hill *et al.*, 2016; Prieto *et al.*, 2017). Han surgido diversas alternativas que buscan mitigar las emisiones de CH₄ sin afectar el rendimiento productivo del animal. Por ejemplo, compuestos secundarios de plantas contenidos en los aceites esenciales (AE) (Cobellis *et al.*, 2015). Los AE son una mezcla compleja que pueden tener de 20 a 60 componentes y varían en su concentración. La mayoría de los componentes se encuentran presentes en cantidades trazas y únicamente dos o tres se encuentran en concentraciones altas (20-70%). Se tienen dos grupos de compuestos: los terpenos y terpenoides y el otro de aromáticos y constituyentes alifáticos; ambos de bajo peso molecular (Bakkali *et al.*, 2008). Los AE tienen un efecto antimicrobiano contra diversos microorganismos como protozoarios, bacterias y hongos. Los terpenoides y fenil-terpenoides tienen efecto contra bacterias Gram +, afectando la membrana celular de éstas, causando cambios morfológicos en la estructura de la membrana (Benchaar *et al.*, 2008; Cobellis *et al.*, 2015; Polin *et al.*, 2014). El AE de orégano (*Oreganum vulgare L.*) es conocido por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y medicinales (Martínez *et al.*, 2015; Raut y Karuppayil, 2014). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* de la adición de taninos y aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) en la fermentación ruminal y producción de metano.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Localización del área experimental

La prueba *in vitro* se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México. Se utilizaron tres novillos de raza Holstein, con fístula ruminal, para la recolección de líquido ruminal y su utilización en la técnica de producción de gas *in vitro*. Los novillos estaban consumiendo una dieta con 40% forraje y 60% concentrado.

3.4.2 Tratamientos para la evaluación de producción de gas *in vitro*.

Se probaron siete dietas integrales formuladas para cubrir los requerimientos de ovinos en crecimientos con base en el NRC (2007). El primer tratamiento fue una dieta base, el segundo con inclusión de 4% de taninos condensados kg^{-1} de MS y los siguientes tratamientos con inclusión de 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1% de AEO (Cuadro 1). Las dietas se molieron en un molino Wiley (Thomas Scientific® Swedesboro, NJ, EE.UU.) con tamiz de 1 mm. Los taninos se proporcionaron con la adición de un producto comercial SilvaFeed®, con un porcentaje de 86% de taninos condensados, su análisis fue realizado en el Laboratorio de Nutrición Animal del Colegio de Postgraduados. El AEO es un producto comercial de la empresa ORE® que se obtiene a partir de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), el cual tenía un contenido de 50.21, 29.13 y 3.72% de carvacrol, p-cimeno y timol, respectivamente. El análisis de la muestra fue realizado por el Laboratorio de Ecología Química y Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad perteneciente a la UNAM.

3.4.2 Análisis químico de las dietas

A las dietas experimentales se les determinó materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (CE) y extracto etéreo (EE) (AOAC, 2012), así como fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest *et al.*, 1991).

Cuadro 3.1 Composición y análisis químico de las dietas experimentales.

Ingredientes % MS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Maíz, molido	54	54	53.98	53.96	53.94	53.92	53.90
Melaza	3	3	3	3	3	3	3
Urea	1	1	1	1	1	1	1
Pasta de soya	20	20	20	20	20	20	20
Avena	20	16	19	19	19	19	19
AEO	0	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
Taninos condensados	0	4	0	0	0	0	0
Sal mineral	2	2	2	2	2	2	2
Composición química (% MS)							
PC	17.59	17.34	17.42	17.39	17.32	17.45	17.64
EE	3.23	3.44	3.35	3.31	2.90	3.025	3.01
FDN	23.14	20.39	21.70	21.29	24.38	21.89	22.19
FDA	8.52	8.81	7.85	7.74	7.91	7.70	7.79
MS	89.5	89.3	88.6	88.1	88.5	89.1	88.0

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 4% de taninos condensados, T3=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T4=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO, T5=Dieta base + inclusión de 0.06% de AEO T6=Dieta base + inclusión de 0.08% de AEO T7=Dieta base + inclusión de 1% de AEO. PC=proteína cruda, EE=extracto etéreo, FDN=fibra detergente neutro, FDA=fibra detergente ácido y MS=materia seca.

3.4.3 Biodigestores

El líquido ruminal se recolectó 2 h posteriores a la alimentación, se filtró con cuatro capas de gasa y se mantuvo en condiciones anaerobias a una temperatura de 39 °C. Se utilizaron frascos de 120 ml sellados con tapón de hule de neopreno y casquillo de aluminio de 20 mm con centro removible. En cada frasco se agregaron 0.5 g de muestra y 60 ml de una mezcla de líquido ruminal y solución buffer. Los frascos se mantuvieron con un flujo constante de CO₂, posteriormente se sellaron y colocaron en un baño maría a 39 °C. La presión de gas *in vitro* se midió con un manómetro manual con escala de 0 a 1 kg cm⁻² a las 6, 12, 24 y 48 h de incubación. Las lecturas se transformaron a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V=(P+0.0145)(0.018)^{-1}$ (Ørskov y McDonald, 1979). Para la corrección de producción de gas a partir del líquido ruminal se utilizaron cuatro botellas sin sustrato como blancos.

3.4.4 Medición de producción de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂)

La producción de metano y dióxido de carbono se determinó mediante un cromatógrafo de gases Perkin Elmer, modelo Clarus 500. Las temperaturas del horno, columna y detector de conductividad térmica fueron de 80 °C, 170 °C y 130°C, respectivamente. La cantidad de muestra inyectada fue de 0.3 ml de muestra, con un tiempo de retención de 0.73 min para el CH₄ y 1.05 min para el CO₂.

3.4.5 Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV's) y nitrógeno amoniacal (NH₃)

Del líquido de las pruebas de los frascos de producción de gas se tomaron muestras (1 ml) a las 6, 12, 24 y 48 h, se mezclaron con ácido metafosfórico (25% p/v) en una relación 4:1, y se refrigeraron a 4°C. Las muestras se centrifugaron por 15 min a 15,000 rpm en una centrifuga EBA 21 de Hettich, del sobrenadante se tomaron 20 µl se depositaron en tubos de 13×10 mm y se adicionó 1 ml de fenol y 1 ml de hipoclorito de sodio basicado con hidróxido de sodio; los tubos se incubaron a 37 °C durante 30 min y se agregaron 5 ml de agua destilada. El NH₃ se midió en un fotolorímetro marca CARY 1E, modelo Varian a una longitud de onda de 530 nm (McCullough, 1967). La concentración de AGV se determinó con un cromatógrafo de gases Perkin Elmer, modelo Clarus 500, columna capilar Elite FFAP. Las temperaturas del horno, columna y detector de conductibilidad térmica fueron de 140 °C, 200 °C y 250°C, respectivamente. Se inyectó 1 µl de muestra, con un tiempo de retención de 7 min.

3.4.6 Análisis estadístico

Las variables de producción de gas *in vitro*, CH₄, CO₂, producción de AGV's, nitrógeno amoniacal y pH, fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo, mediante el procedimiento PROG MIXED del paquete estadístico SAS (2018) y las diferencias entre las medias se estimaron con una prueba de Tukey (P<0.05).

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Producción de gas

Los resultados de producción de gas a través del tiempo hasta las 48 h se muestran en la Figura 1, observando una respuesta exponencial en todos los tratamientos. La inclusión de taninos y los diferentes niveles de inclusión de AEO no tuvieron efecto (P>0.05) en la producción de gas; todos los tratamientos presentaron diferencias (P<0.05) por efecto del tiempo, la interacción tratamiento y tiempo no tuvo efecto en la producción de gas. Getachew *et al.* (1998) mencionan que el gas se

produce por la fermentación de carbohidratos, mientras que la proteína y los lípidos son poco fermentables. La adición de taninos y las diferentes dosis de AEO no afectaron la producción de gas *in vitro* en este estudio.

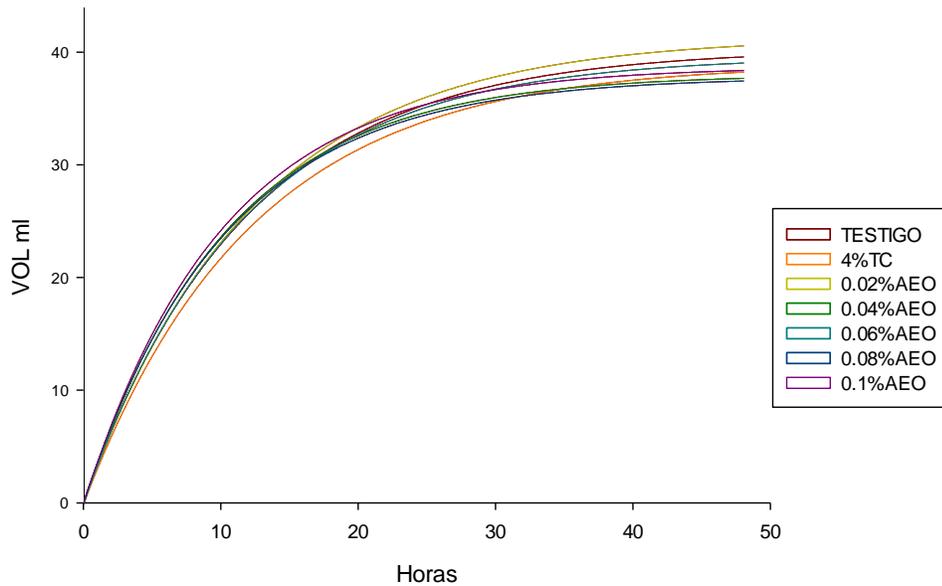


Figura 3.1 Producción de gas a las 6, 12, 24, y 48 h de incubación en la dieta testigo, dieta testigo + 4% de taninos condensados y dieta testigo + diferentes dosis de AEO.

4.5.2 Producción de metano y bióxido de carbono al incluir diferentes dosis de AEO

La concentración de metano y bióxido de carbono, no presentaron diferencias ($P > 0.05$) por efecto del tratamiento o interacción tratamiento y tiempo, sin embargo, se encontraron diferencias ($P < 0.05$) debido al tiempo (Cuadro 4.2).

Cuadro 3.2 Producción de metano y bióxido de carbono in vitro al incluir taninos y diferentes dosis de AEO.

Trat	Tiempo (horas)					
	24		48			
	% CH ₄		% CO ₂			
1	3.73 _a	4.31 _a	30.43 _a	35.93 _b		
2	2.96 _a	4.09 _b	28.91 _a	34.85 _b		
3	3.68 _a	4.92 _b	29.72 _a	36.67 _b		
4	3.05 _a	3.94 _a	30.18 _a	34.09 _a		
5	3.47 _a	4.04 _a	30.96 _a	34.86 _a		
6	3.66 _a	4.07 _a	29.42 _a	34.12 _b		
7	3.57 _a	4.20 _a	30.37 _a	34.83 _b		
P<F	Trat	T	Ttrat*T	Trat	T	Trat*T
	0.1116	0.0001	0.3991	0.9311	0.0001	0.4831

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 4% de taninos condensados, T3=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T4=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO, T5=Dieta base + inclusión de 0.06% de AEO T6=Dieta base + inclusión de 0.08% de AEO T7=Dieta base + inclusión de 1% de AEO. a-b los valores con diferentes literales difieren significativamente (P<0.05). x-z los valores con diferente literal difieren significativamente (P<0.05).

Los taninos causan un efecto tóxico en las arqueas metanogénicas disminuyendo la producción de metano (Makkar, 2003); sin embargo, en este estudio no se observaron diferencias (P>0.05) debido al efecto de la adición de 4% de taninos condensados. Se observaron diferencias debido al tiempo, con medias de producción de metano de 2.96 y 4.09% a las 24 y 48 h, respectivamente (P<0.05), sin que tenga efecto (P>0.05) la interacción tratamiento y tiempo. La producción de CO₂ con la adición de taninos condensados no tuvo efecto por el tratamiento o la interacción tratamiento y tiempo (P>0.05), pero si en el tiempo (P<0.05), obteniendo los siguientes resultados: 28.91 y 34.85% a las 24 y 48 h, respectivamente. El efecto que pueden tener los taninos sobre la producción de metano depende en mucho de su origen, ya que se pueden obtener de diversas plantas (Adejoro *et al.*, 2019). Jayanegara *et al.* (2015) obtuvieron resultados positivos con el uso de taninos hidrolizables, e indican que pueden tener un mayor efecto en la reducción de metano en comparación con los condensados. El efecto de los AE sobre la producción de CH₄ y CO₂ se

relaciona con una disminución de las arqueas metanogénicas o afectando procesos metabólicos microbianos (Knapp *et al.*, 2014). El tratamiento con 0.02% de AEO presentó diferencias por efecto del tiempo ($P < 0.05$) con medias de 3.68 y 4.92% para las 24 y 48 h respectivamente. El porcentaje de CO_2 se elevó significativamente ($P < 0.05$) presentando porcentajes de 29.72 y 36.67 a las 24 y 48 h respectivamente, en tanto que el tratamiento y la interacción tratamiento por tiempo no fueron significativos. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en la producción de metano y de CO_2 en ninguno de los tratamientos evaluados, así como en el tiempo e interacción tratamiento por tiempo. Cobellis *et al.* (2015) realizaron un estudio *in vitro* donde encontraron que se redujeron los porcentajes de CH_4 y CO_2 al incluir AEO en niveles de 1.0, 1.5 y 2.0 g l⁻¹ de líquido ruminal, encontrando diferencias entre los niveles evaluados ($P < 0.05$). Posiblemente la diferencia en los resultados con el presente trabajo se deba a la especie utilizada, lo que causó el efecto en la reducción de CH_4 y CO_2 . García *et al.* (2012) mencionan que existe una variación en la composición fitoquímica del AEO dependiendo del género utilizado.

3.5.3 Producción de ácidos grasos volátiles al incluir diferentes dosis de AEO

No se encontraron diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$) en la producción de ácido acético a las 6, 12, 24 y 48 h. Sin embargo, sí hubo efecto del tiempo y de la interacción tratamiento por tiempo ($P < 0.05$) en que se incrementó a las 48 h en el tratamiento testigo y con inclusión de 0.08 y 0.1% de AEO. La producción de ácido propiónico fue similar en todos los tratamientos ($P > 0.05$) en el tiempo e interacción tratamiento por tiempo. En el caso del ácido butírico, tampoco se encontraron diferencias entre tratamientos ($P < 0.05$), sin embargo, sí se observaron ($P < 0.05$) por la adición de taninos o AEO en el tiempo y la interacción tratamiento por tiempo, siendo diferente el tratamiento con inclusión de 4% de taninos, 0.02% y 0.04% de AEO a las 48 h con medias de 10.33, 10.85 y 13.19 respectivamente, siendo estos valores superiores al resto de los tratamientos a los mismos tiempos. La producción total de ácidos grasos volátiles fue mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento con inclusión de 0.06% de AEO a las 6, 24, 48 h, sin que se encontraran diferencias debido al tratamiento o interacción tratamiento por tiempo (Cuadro 4.3).

Cuadro 3.3 Concentración de ácidos grasos volátiles (%) a las 6, 12, 24 y 48 h en dietas integrales de ovinos con inclusión de taninos y diferentes dosis de AEO.

	Trat	Tiempo				P<F		
		6	12	24	48	Trat	T	Trat*T
% Acético	1	70.65 _{ax}	75.45 _{ax}	69.70 _{ax}	73.81 _{abx}			
	2	75.71 _{ax}	69.53 _{ax}	68.65 _{ax}	70.45 _{ax}			
	3	75.18 _{ax}	71.11 _{ax}	63.57 _{ax}	69.97 _{ax}			
	4	70.51 _{ax}	72.40 _{ax}	66.72 _{ax}	63.00 _{ax}	0.6959	0.0001	0.0009
	5	71.63 _{ax}	73.05 _{ax}	65.70 _{ax}	72.82 _{abxy}			
	6	69.75 _{ax}	57.37 _{ax}	67.70 _{ax}	73.26 _{abxy}			
	7	68.55 _{ax}	68.77 _{ax}	69.17 _{ax}	72.15 _{axy}			
% Propiónico	1	16.18	12.47	16.41	15.10			
	2	14.37	16.57	16.55	16.65			
	3	14.27	15.11	15.83	15.87			
	4	16.59	16.47	17.45	19.48	0.5997	0.0594	0.1991
	5	14.76	16.31	18.32	15.07			
	6	16.07	17.54	17.72	14.49			
	7	16.49	18.43	18.32	15.77			
% Butírico	1	9.33 _{ax}	8.56 _{ax}	10.53 _{ax}	8.88 _{ax}			
	2	7.93 _{ax}	10.11 _{ax}	11.15 _{ax}	10.33 _{abx}			
	3	8.41 _{ax}	9.60 _{axy}	11.92 _{ay}	10.85 _{abxy}			
	4	10.32 _{ax}	9.07 _{ax}	11.48 _{ax}	13.19 _{abx}	0.7327	0.0001	0.0002
	5	10.20 _{ax}	8.66 _{ax}	11.48 _{ax}	9.22 _{ax}			
	6	10.76 _{ax}	7.89 _{ax}	11.19 _{ax}	8.83 _{ax}			
	7	11.34 _{ax}	10.19 _{ax}	10.09 _{ax}	8.86 _{ax}			
mmol AGV total	1	82.00	137.21	150.97	122.81			
	2	99.80	163.16	136.38	109.54			
	3	84.00	122.43	83.59	106.46			
	4	97.66	83.97	125.48	122.98	0.2529	0.0004	0.0001
	5	132.85 _{ab}	93.43 _a	159.63 _{ab}	188.07 _b			
	6	146.64	84.74	68.06	168.26			
	7	107.31	90.64	82.97	190.90			

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 4% de taninos condensados, T3=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T4=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO, T5=Dieta base + inclusión de 0.06% de AEO T6=Dieta base + inclusión de 0.08% de AEO T7=Dieta base + inclusión de 1% de AEO. a-b los valores con diferentes literales difieren significativamente (P<0.05). x-z los valores con diferente literal difieren significativamente (P<0.05).

La búsqueda de alternativas a los antibióticos ha permitido el desarrollo de diversas investigaciones, donde se utilizan diferentes fuentes naturales, como los aceites esenciales, los cuales tienen variación en la concentración y composición de elementos fitoquímicos (Ünal Baruh y Kocabağlı, 2017), lo que puede afectar la concentración total de AGV's. Otro factor es el nivel empleado: Ortiz *et al.*, (2014), y Medjekal *et al.* (2017) evaluaron plantas medicinales (*Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis* y *Zingiber officinale*) y encontraron que su adición en la dieta en la fermentación ruminal *in vitro* incrementaba la proporción de AGV's; en tanto que Wu *et al.* (2018) en un estudio *in vitro* en el que agregaron aceite esencial de cítricos, no encontraron diferencias ($P>0.05$); sin embargo, al probarlo *in vivo* observaron que la concentración total de AGV's disminuyó al incluirlo en 16 y 8 ml l⁻¹ de líquido ruminal ($P<0.05$) en comparación con el tratamiento testigo. Los resultados de este estudio son similares a los obtenidos por Ünal Baruh y Kocabağlı (2017) quienes encontraron un aumento en la concentración de ácido acético y butírico a través del tiempo, pero no debido al tratamiento ($P>0.05$), sin que se tuvieran diferencias en la concentración de propiónico por el tiempo o tratamiento. Chaves *et al.* (2008) evaluaron el uso de carvacrol y cinamaldehído en niveles de 0.20 g kg⁻¹ MS, reportando que la concentración total de AGV's aumentó en comparación con el tratamiento testigo, sin que se afectaran las concentraciones individuales de los ácidos acético, propiónico y butírico.

Los valores de nitrógeno amoniacal y pH se muestran en el Cuadro 4.4, donde se observa que la concentración de nitrógeno amoniacal se vio afectada ($P<0.05$) por el tiempo, aumentado su concentración en todos los tiempos de incubación, pero no debido al tratamiento, sin que se encontraran diferencias por la interacción tratamiento y tiempo. Estos resultados indican que la actividad proteolítica fue adecuada (Cobellis *et al.*, 2016). Los valores de pH no presentaron diferencias ($P>0.05$) por efecto de tratamiento, tiempo o la interacción de ambos factores.

Cuadro 3.4 Nitrógeno amoniacal (mg/dl) a las 6 12 24 y 48 h en dietas integrales de ovinos con inclusión de taninos y diferentes dosis de AEO.

	Trat	Tiempo				P<F		
		6	12	24	48	Trat	T	Trat*T
mg dl ⁻¹ N-NH ₃	1	11.84 _a	14.31 _b	27.74 _c	36.04 _d			
	2	10.50 _a	13.54 _b	25.59 _c	34.86 _d			
	3	11.68 _a	13.31 _b	25.61 _c	28.64 _d			
	4	12.48 _a	15.16 _b	28.57 _c	30.85 _d	0.1131	0.0001	0.5029
	5	11.53 _a	15.39 _b	28.08 _c	32.37 _d			
	6	12.99 _a	14.73 _b	25.45 _c	37.28 _d			
	7	12.04 _a	14.54 _b	25.50 _c	35.67 _d			
pH	1	6.26	6.29	5.92	6.65			
	2	6.53	6.16	6.43	6.31			
	3	6.17	6.21	6.12	6.28			
	4	6.33	6.09	6.20	6.06	0.3209	0.2855	0.3794
	5	6.19	6.15	6.07	6.16			
	6	6.43	6.15	6.38	6.53			
	7	5.81	6.38	5.92	6.07			

T1=Dieta base, T2=Dieta base + inclusión de 4% de taninos condensados, T3=Dieta base + inclusión de 0.02% de AEO, T4=Dieta base + inclusión de 0.04% de AEO, T5=Dieta base + inclusión de 0.06% de AEO T6=Dieta base + inclusión de 0.08% de AEO T7=Dieta base + inclusión de 1% de AEO. a-b los valores con diferentes literales difieren significativamente (P<0.05). x-z los valores con diferente literal difieren significativamente (P<0.05).

Algunos estudios muestran resultados diferentes a los obtenidos en el presente estudio, ya que los tratamientos aumentan o disminuyen la concentración de amoníaco. La evaluación *in vitro* con la adición de 30% de *Acacia decurrens* considerada como una fuente de taninos, redujo la concentración de amoníaco a las 24 y 48 h mostrando diferencias (P<0.05) en relación al tratamiento testigo (Vásquez y Peralta, 2017). Los resultados obtenidos en el presente estudio no mostraron efecto de los taninos condensados al adicionarlos en 4%, lo que pudo deberse a diversos factores como estructura y concentración de taninos, tipo de planta, madurez y etapa fenológica afectando la bioactividad de los taninos condensados (Pereira *et al.*, 2018). En otro estudio donde

se utilizó aceite de anís (500 mg animal día⁻¹) obtuvieron una disminución en la producción de NH₃ considerando que el anís disminuye la desaminación (Fandiño *et al.*, 2008). Paraskevakis (2018) encontró que la concentración de NH₃ en el tratamiento testigo fue diferente (P<0.05) al tratamiento con la adición de un hidrodestilado de hojas secas de orégano (*Oreganum vulgare*) con un contenido de aceite esencial de 5.0% (v/m), atribuyendo este efecto a su alto contenido de carvacrol (89%). El pH es un indicador de la actividad fermentativa de las bacterias, ya que se modifica por la producción de AGV's, resultado de la fermentación de carbohidratos; los resultados de pH obtenidos en este estudio coinciden con los de Ünal Baruh y Kocabağlı (2017) al evaluar la adición de 250 y 500 ppm de AEO kg⁻¹ de MS. Wu *et al.* (2018) encontraron que al incluir aceite esencial de cítricos en concentración de 0.8 ml l⁻¹ de líquido ruminal el pH aumentó. En el presente trabajo el aporte de carbohidratos rápidamente fermentables favoreció la reducción del pH con valores menores a los del rango deseable 6.6-7.0 para un mayor crecimiento de microorganismos celulíticos (Ojeda *et al.*, 2012).

3.6 CONCLUSIONES

La inclusión de taninos condensados o diferentes niveles de AEO no disminuyó la producción de gas, CH₄ y CO₂, sin embargo, aumentaron la concentración de ácido acético y butírico, mientras que los valores de NH₃ y pH fueron similares.

3.7 LITERATURA CITADA

- Adejoro, F. A., Hassen, A., y Akanmu, A. M. (2019). Effect of lipid-encapsulated acacia tannin extract on feed intake, nutrient digestibility and methane emission in sheep. *Animals*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/ani9110863>
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International: Agricultural chemicals, contaminants, drugs.* (P. Cunniff, Ed.) (19a ed.). Gaithersburg, MD (USA): AOAC International, 2000. Recuperado de <https://books.google.com.mx/books?id=jN0NzQEACAAJ>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Benaouda, M., González Ronquillo, M., T. Molina, L., y Castelán Ortega, O. A. (2017). Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), 965. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i4.20>
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., y Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 209–228. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014>
- Benchaar, Chaouki, y Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 338–355. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>
- Bonilla, C. J. A., y Lemus, F. C. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 3(2), 215–246.
- Chaves, A. V., Stanford, K., Gibson, L. L., McAllister, T. A., y 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. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.016>
- Cobellis, G., Petrozzi, A., Forte, C., Acuti, G., Orrù, M., Marcotullio, M. C., ... Trabalza-Marinucci, M. (2015). Evaluation of the effects of mitigation on methane and ammonia production by using *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils on in vitro rumen fermentation systems. *Sustainability (Switzerland)*, 7(9), 12856–12869. <https://doi.org/10.3390/su70912856>
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., y Yu, Z. (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545–546, 556–568. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.103>
- Dämmgen, U., Rösemann, C., Haenel, H.-D., y Hutchings, N. J. (2012). Enteric methane emissions from German dairy cows. *Landbauforschung -vTI Agriculture and Forestry Research*, 1(262), 21–32.

- Fandiño, I., Calsamiglia, S., Ferret, A., y Blanch, M. (2008). Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.018>
- García Pérez, E., Castro Álvarez, F. F., Gutiérrez Uribe, J. A., y García Lara, S. (2012). Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 339–353. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i2.1467>
- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H. P. S., y Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3–4), 261–281. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2)
- Hill, J., McSweeney, C., Wright, A. D. G., Bishop-Hurley, G., y Kalantar-zadeh, K. (2016). Measuring Methane Production from Ruminants. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.004>
- Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H. P. S., y Becker, K. (2015). Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 209(August), 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.002>
- Knapp, J. R., Laur, G. L., Vadas, P. A., Weiss, W. P., y Tricarico, J. M. (2014). Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3231–3261. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7234>
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- Martínez, R. M., Esther, M., Cerrilla, O., Guadalupe, J., Haro, H., Ramsy, J., ... Robles, S. (2015). En Animales De Granja. *Interciencia*, 40(November), 744–750. <https://doi.org/10.15713/ins.mmj.3>
- McCullough, H. (1967). The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17(2), 297–304. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)
- Medjekal, S., Bodas, R., Bousseboua, H., y López, S. (2017). Evaluation of three medicinal plants for methane production potential, fiber digestion and rumen fermentation in vitro. *Energy Procedia*, 119, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.07.089>
- NRC, C. N. R. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11654>
- Ojeda, Á., Reyes, M., y Rodríguez, W. (2012). Efecto de la liberación controlada de nitrógeno sobre la fermentación y la degradabilidad in situ de *Cynodon dactylon*. *Revista MVZ Cordoba*, 17(3), 3133–3139. <https://doi.org/10.21897/rmvz.212>

- Ørskov, E. R., y McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage *Journal of Agricultural Science Cambridge*. *Agricultural science cambridge*, 92:(1970), 499–503.
- Ortiz, D. M., Posada, S. L., y Noguera, R. R. (2014). Effect of plant secondary metabolites on methane enteric emission in ruminants [Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes]. *Livestock Research for Rural Development*, 26(11). Recuperado de <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84908430710ypartnerID=40ymd5=996717fc59c78be56df66b86ee041817>
- Paraskevakis, N. (2018). 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(3), 701–705. <https://doi.org/10.1111/jpn.12812>
- Pereira, T. P., Modesto, E. C., Nepomuceno, D. de D., de Oliveira, O. F., de Freitas, R. S. X., Muir, J. P., ... Almeida, J. C. de C. (2018). Characterization and biological activity of condensed tannins from tropical forage legumes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 53(9), 1070–1077. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000900011>
- Polin, L. A., Muro, A., y Díaz, L. H. (2014). Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 5(1), 25–47.
- Prieto-Manrique, E., Vargas-Sánchez, J. E., Angulo-Arizala, J., y Mahecha Ledesma, L. (2017). Aceites vegetales sobre ácidos grasos y producción de metano in vitro en vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 1. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22034>
- Raut, J. S., y Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
- SAS, I. I. (2018). *SAS/STAT® 15.1 User's Guide*. Cary, NC.
- Tekeli, A., Yıldız, G., Drochner, W., y Steingass, H. (2017). Effects of essence oil additives added to different feeds on methane production Efectos sobre la producción de metano de los aceites esenciales añadiendo diferentes aditivos. *Rev.MVZ Córdoba*, 22(2), 5854–5866. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1023>
- Ünal Baruh, A., y Kocabağlı, N. (2017). Effect of different levels of oregano essential oil on some rumen parameters in lambs. *Istanbul Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 43(2), 116–122. <https://doi.org/10.16988/iuvfd.322369>
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., y Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vásquez, R., y Peralta, C. (2017). Efecto in vitro de la inclusión de *Acacia decurrens* y *Sambucus nigra* sobre la utilización del nitrógeno en rumiantes, 2(July), 3–4.
- Wu, P., Liu, Z. B., He, W. F., Yu, S. B., Gao, G., and Wang, J. K. (2018). Intermittent feeding of

citrus essential oils as a potential strategy to decrease methane production by reducing microbial adaptation. *Journal of Cleaner Production*, 194, 704–713.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.167>

CONCLUSIÓN GENERAL

Las variables de comportamiento productivo, variables ruminales, balance de N y rendimiento de canal de corderos no presentaron diferencias con la inclusión del AEO en la dieta. Sin embargo, se mejoró la actividad antioxidante en carne, además de mantener estable el valor de la proteína cruda en carne hasta los 24 días de refrigeración, lo que representa una mayor vida de anaquel. El AEO de *Lippia graveolens* a una concentración *in vitro* de 0.02%, tuvo una eficacia del 100% a las 24 h, contra larvas de nematodos gastrointestinales. Las concentraciones *in vitro* de CH₄ y CO₂ no disminuyeron por la inclusión de las distintas dosis de AEO; la concentración total de ácidos grasos volátiles fue similar en todos los tratamientos. Individualmente, el ácido acético presentó un aumento al incluir AEO a 0.08 y 0.1% de AEO a las 48 h de evaluación; el ácido butírico aumentó su concentración con la inclusión de 0.02% de AEO; y el ácido propiónico fue similar en los tratamientos evaluados, así como las concentraciones de NH₃ y valores de pH. Por lo que el AEO puede ser una alternativa de uso en producción ovina, presentando efectos nutracéuticos.