



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES EN LA LECHE DE OVEJAS LACAUNE-
AWASSI E EAST FRIESIAN DURANTE UNA LACTANCIA EN CONDICIONES DE
ESTABULACIÓN**

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

PRESENTA:
EDWIN OSWALDO BOTIA CARREÑO

TUTOR PRINCIPAL:
Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

COMITÉ TUTOR:
Dra. Rosa Isabel Higuera Piedrahita
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Dr. Pedro Alberto Vázquez Landaverde
Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-CICATA, Unidad
Querétaro-Instituto Politécnico Nacional. IPN.

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

Junio de 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo, por su apoyo, enseñanzas y guiarme en el desarrollo de mi maestría, mil gracias.

A la Dra. Rosa Isabel Higuera Piedrahita quien confió en mí y jamás me abandonó en la búsqueda de lograr titularme de mi posgrado.

Al Dr. Pedro Alberto Vázquez Landaverde, quien con sus recomendaciones y consejos me ayudó a mejorar mi investigación.

Al Maestro Héctor Alejandro De La Cruz Cruz, por motivarme y mostrarme las maravillas del mundo lácteo de los pequeños rumiantes.

Al equipo de trabajo del laboratorio 3 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria, de la FESC, quienes con su apoyo y tiempo me permitieron alcanzar este logro.

A la UNAM- FES Cuautitlán, mi casa de estudios que me abrió las puertas al conocimiento científico y me ha hecho sentir como en casa.

A mis jurados, quienes con sus sabios aportes me ayudaron a mejorar este trabajo.

Al CONACyT quien a través de su apoyo me permitió culminar mis estudios de maestría.

Al Programa Interno de Apoyo para Proyectos de Investigación de la Facultad (PIAPI) clave 2020 quien financió esta investigación.

Dedicatorias

A Dios... por todo.

A mis padres...

Edilberto Botia, por ser un padre ejemplo de vida, lucha y compromiso, quien durante toda mi vida siempre he tenido siempre su apoyo incondicional.

Ana María Carreño, por ser la mamá perfecta, quien con sus palabras y caricias siempre me motivó a nunca rendirme.

A mi hermano...

Wilber H. Botia Carreño, con quien comparto el honor de tener a los mejores padres y una profesión en común, quien siempre ha estado ahí para darme sus mejores consejos.

A mi mejor amiga...

Paula Andrea Fernández, con quien nos embarcamos en el océano de los pequeños rumiantes y creemos en la ciencia como norte de nuestra profesión, por no dejarme solo en momentos de tormentas.

A Liss...

Por darme aliento en el camino de este gran sueño.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| ÍNDICE | 1 |
| ÍNDICE DE TABLAS | 3 |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | 4 |
| ÍNDICE DE GRÁFICAS | 5 |
| 1 RESUMEN | 6 |
| 2 ABSTRACT..... | 7 |
| 3 ANTECEDENTES | 8 |
| 3.1 Producción de leche de oveja en el mundo: | 8 |
| 3.2 Leche de oveja en México..... | 9 |
| 3.3 La leche de oveja..... | 10 |
| 3.4 Razas lecheras | 13 |
| 3.4.1 Raza east friesland..... | 15 |
| 3.4.2 Raza awassi | 16 |
| 3.4.3 Raza lacaune..... | 16 |
| 3.5 Leche de oveja, un alimento funcional..... | 17 |
| 3.6 Estrés oxidativo | 19 |
| 3.7 Compuestos polifenólicos: | 20 |
| 3.8 Importancia de los fenoles en el alimento | 26 |
| 3.9 Cuantificación de fenoles en el alimento | 27 |
| 3.10 Polifenoles en el rumen | 28 |
| 3.11 Los principales compuestos antioxidantes de la leche | 30 |
| 3.12 Factor Racial: | 31 |
| 4 JUSTIFICACIÓN | 33 |
| 5 OBJETIVOS | 34 |
| 5.1 Objetivo general | 34 |
| 5.2 Objetivos específicos..... | 34 |
| 6 HIPOTESIS | 35 |
| 7 MATERIALES Y MÉTODOS:..... | 35 |
| 7.1 Localización | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 7.2 | Población de estudio..... | 35 |
| 7.3 | Toma de muestras de leche..... | 36 |
| 7.4 | Liofilización de la leche | 36 |
| 7.5 | Toma de muestras de alimento..... | 36 |
| 7.6 | Evaluación de fenoles totales en el alimento..... | 37 |
| 7.7 | Evaluación de fenoles totales en la leche | 37 |
| 7.7.1 | Factor de retención de la TLC (r_f)..... | 38 |
| 7.8 | Análisis estadístico..... | 39 |
| 8 | RESULTADOS | 40 |
| 8.1 | Curva patrón de ácido gálico en alimento | 40 |
| 8.2 | Resultados de los fenoles en el alimento..... | 41 |
| 8.3 | Curva patrón de ácido gálico en leche..... | 42 |
| 8.4 | Resultados de fenoles en leche de oveja..... | 43 |
| 8.5 | Presencia de fenoles en leche en cromatografía de capa fina..... | 44 |
| 9 | DISCUSIÓN | 46 |
| 10 | CONCLUSIÓN | 50 |
| 11 | BIBLIOGRAFÍA | 51 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Panorama mundial del ganado ovino ¹ | 8 |
| Tabla 2 Composición de la leche de diferentes animales lecheros (Kapadiya <i>et al.</i> , 2016; Giambra <i>et al.</i> , 2014). | 12 |
| Tabla 3 Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos (Gimeno, E.,2004)..... | 24 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Principales vías de biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interrelaciones con el metabolismo primario. (Taiz, 2002)..... | 21 |
| Figura 2 Biosíntesis de los compuestos fenólicos (Tenorio <i>et al.</i> ,2006). | 22 |
| Figura 3 Clasificación de los fenoles y polifenoles. Adaptado de Shahidi y Ambigaipalan, 2015..... | 26 |
| Figura 4 Ejemplo de presencia de compuestos fenólicos en cromatografía de capa fina con sus respectivos valores del valor de referencia no superior a 1. (Línea blanca=Estándar de ácido Gálico; Líneas roja y amarilla=muestra de leche)..... | 45 |

ÍNDICE DE GRÁFICAS

| | |
|---|----|
| Gráfica 1 Tendencias de la producción mundial de leche de oveja desde 1960 a 2016 (línea continua) y pronóstico hasta 2030 mediante el uso de un modelo de series de tiempo (línea discontinua) (FAOSTAT, 2018). | 13 |
| Gráfica 2 Curva de calibración de fenoles totales en el alimento | 40 |
| Gráfica 3 Concentración de fenoles en las muestras de alimento | 41 |
| Gráfica 4 Curva de calibración de fenoles totales en leche. | 43 |
| Gráfica 5 Concentración de fenoles totales en extractos metanólicos en la leche de oveja east friesland y lacaune-awassi a los días 35, 50, 65, 80, 95 y 110 días de lactancia. | 44 |

1 RESUMEN

Existe una creciente curiosidad por el estudio de compuestos bioactivos presentes en la leche que pueden beneficiar la salud humana. En este sentido, la mayoría de las investigaciones de la leche van enfocadas en sus características industriales y en las propiedades nutricionales sobresalientes como la proteína y los beneficios de los ácidos grasos poliinsaturados, pero, existen otros compuestos que pueden enriquecer el valor nutricional de este alimento con características nutracéuticas como son los compuestos fenólicos. En el presente trabajo se midió la presencia de fenoles totales en la leche de 24 hembras ovinas lecheras durante 110 días de su periodo de lactancia, las cuales se dividieron en 2 grupos de acuerdo con su raza. El primer grupo de 12 hembras de la raza east friesland y el segundo grupo de la cruce lacaune x awassi. Durante este periodo ambos grupos fueron alimentados con la misma dieta, la cual constaba de 60 % de forraje y 40% de grano. A partir del día 35 día postparto y cada 15 días se realizó un muestreo a la leche de cada uno de los animales y del alimento, con el fin de evaluar la presencia de fenoles totales en la leche proveniente del alimento, usando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico GraphPad Prims® usando una prueba t. El nivel de significación se fijó en ($P < 0,05$), encontrándose que el grupo 1 (East friesland) presento una mayor presencia de fenoles totales durante el periodo evaluado de lactancia que el grupo 2 (Lacaune-awassi).

Palabras clave: Leche, oveja, polifenoles.

2 ABSTRACT

There is a growing curiosity about the study of bioactive compounds present in milk that can benefit human health. In this sense, most research on milk is focused on its industrial characteristics and outstanding nutritional properties such as protein and the benefits of polyunsaturated fatty acids, but there are other compounds that can enrich the nutritional value of this food with nutraceutical characteristics such as phenolic compounds. In the present work, the presence of total phenols in the milk of 24 female dairy sheep was measured during 110 days of their lactation period, which were divided into 2 groups according to their breed. The first group of 12 females from the east friesian breed and the second group from the lacaune x awassi cross. During this period both groups were fed the same diet, which consisted of 60% forage and 40% grain. From the 35th day postpartum and every 15 days, a sampling was carried out on the milk of each of the animals and the food, in order to evaluate the presence of total phenols in the milk from the food using the Folin colorimetric method. -Ciocalteu. The results obtained will be analyzed using the statistical program GraphPad Prims® using a t-test. The significance level was set at ($P < 0.05$), finding that group 1 (East friesian) had a higher presence of total phenols during the lactation period evaluated than group 2 (Lacaune-awassi).

Keywords: Milk, sheep, polyphenols.

3 ANTECEDENTES

3.1 Producción de leche de oveja en el mundo:

A escala mundial, la producción anual de leche de oveja, aproximadamente diez millones de toneladas, tiene una importancia marginal en comparación con la leche de vaca en términos cuantitativos (1,3% de la producción total de leche del mundo); sin embargo, es de gran importancia en los países de Oriente Medio y Mediterráneo, como Francia, Italia, España y Grecia, aún y cuando el inventario más alto de producción de leche de oveja está en Asia, no lo es así en rendimiento lechero por individuo en donde la especialización del manejo y selección de las razas lecheras ha hecho que Europa tenga mejores rendimientos por individuo (Tabla 1). La producción de leche de oveja se ha más que duplicado durante los últimos 50 años y, si se mantiene esta tendencia, se espera que aumente en aproximadamente 2,7 millones de toneladas (+ 26%) para 2030 (FAOSTAT, 2018), debido a la mayor demanda de queso y otros productos lácteos tradicionales, y el uso más reciente de leche de oveja como componente de fórmulas infantiles, leche de bebida y productos nutracéuticos (Pulina et al., 2018). Aunque la demanda de leche de oveja y cabra está aumentando en el mercado mundial, el sabor "cabra-oveja" asociado con la leche de cabra y oveja puede limitar la aceptación y el consumo del consumidor (Kaffarnik *et al.*, 2014).

Tabla 1 Panorama mundial del ganado ovino¹

| Continente | Total, ovinos ² [millones de cabezas (%)] | Ovejas lecheras [millones de cabezas (%)] | Leche [millones de toneladas (%)] | Rendimiento ³ [l/cabeza] |
|------------|--|---|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Asia | 512 (43,6) | 135 (54,0) | 4,73 (45,6) | 35.1 |
| África | 352 (30,0) | 79 (31,7) | 2,54 (24,5) | 32.2 |
| Europa | 131 (11.2) | 33 (13,3) | 3.01 (29.0) | 90.8 |
| América | 84 (7.1) | 3 (1.1) | 0,09 (0,9) | 33 |
| Oceanía | 95 (8,1) | <0.1 (0) | <0.01 (0) | — |
| Total | 1,173 (100) | 250 (100) | 10.37 (100) | 41.5 |

¹Fuente FAOSTAT (2018).

²Número total de ovejas y cabras (independientemente del propósito).

³Rendimiento promedio

La cría de ovejas en los países en desarrollo tiene como principal objetivo la seguridad de los medios de vida, no el beneficio comercial. En estos países, oveja significa solo cordero y, en cierta medida, lana. En muchos países en desarrollo, la demanda y el suministro visible de leche de oveja son insignificantes. (Mohapatra, 2019). La leche y los productos lácteos de oveja son muy importantes para una nutrición humana adecuada en lugares donde la leche de vaca no está disponible o no es asequible (Haenlein, 2001).

En muchos países en vía de desarrollo, los mamíferos productores de leche se crían a menudo en sistemas de seguridad alimenticia. Aunque estos animales pueden estar bien adaptados a las difíciles condiciones medioambientales de la zona, presentan un bajo potencial genético para la producción lechera. Otros factores que pueden influir en la presencia de las especies lecheras es la demanda de estos productos por tradiciones culturales y el poder adquisitivo de los distintos hogares (p. ej., las familias pobres tienden a depender más de los pequeños rumiantes). (“Animales lecheros - Derivados lácteos” FAO-2021). El número de ovejas no refleja completamente la cantidad de leche producida, ya que las ovejas se utilizan a menudo para otros fines, como la carne y la lana. Al respecto, se ha estimado que la relación es leche (28%), carne (45%), y lana (27%): y, descartando lana, la relación leche / carne es 38/62 (Pulina *et al.*, 2018).

3.2 Leche de oveja en México

El concepto de ordeñar ovejas en los países en desarrollo es relativamente nuevo, pero en la nueva era de los alimentos funcionales, las formulaciones de leche de oveja desempeñarán un papel fundamental en la prestación de beneficios para la salud humana. (Mohapatra, 2019).

La producción de ganado ovino lechero es una importante actividad ganadera y económica en los países mediterráneos. Recientemente, los países latinoamericanos han desarrollado una industria de ganado ovino lechero con el objetivo de mejorar los ingresos agrícolas y proporcionar a los consumidores productos ovinos lácteos de alta calidad. (Ángeles-Hernández, *et al.*, 2018).

En 2018, el tamaño del rebaño mexicano consistió en 8.7 millones de cabezas de ganado ovino (Notimex, 2018). El Estado de México representa la región con mayor producción (Cuéllar Ordaz *et al.*, 2012). México tiene tres sistemas de ganado ovino: 1) Intensivo (los animales están confinados y los productores dependen de razas de alto rendimiento e insumos industriales); 2) Agricultura mixta (la alimentación animal se basa en el pastoreo de pastizales nativos, bordes de caminos o residuos de cultivos) y 3) Sistemas de producción extensivos donde los animales reciben la menor cantidad de insumos y generalmente se alimentan en los pastizales (Cuéllar Ordaz *et al.*, 2012).

En muchos países en desarrollo, la demanda y la oferta visible de leche de oveja son insignificantes. (Mohapatra, 2019). En México recientemente ha habido un aumento en el número de rebaños de ovejas lecheras con la introducción de razas lecheras especializadas. Sin embargo, no hay información disponible sobre los niveles de producción de leche y las características de las curvas de lactancia que permitan evaluar el desempeño productivo y posterior implementación de estrategias de mejora (Ángeles-Hernández *et al.*, 2018).

3.3 La leche de oveja

La leche es una mezcla en equilibrio de proteínas, grasas, lactosa y minerales en varios estados de dispersión en agua, como emulsiones, suspensiones coloidales y soluciones verdaderas. La leche de oveja es más viscosa que la de vaca y es más resistente a la proliferación de bacterias en las primeras horas tras el ordeño, debido a su mayor actividad inmunológica. Tiene un olor característico del animal que lo produce, y es de color blanco opaco. (Gómez-Cortés, 2022). En comparación con la leche de las vacas lecheras, la de los pequeños rumiantes generalmente no se consume directamente, sino que se utiliza en la

producción de productos lácteos de nicho o étnicos, generalmente utilizados para el autoconsumo o vendidos como productos lácteos tradicionales y de alta calidad (p. Ej., queso feta y yogur) incluidos en la lista de ingredientes clave de la denominada dieta mediterránea (Dennett, 2016).

La ventaja nutricional de la leche de oveja sobre la de otras especies está más relacionada con el contenido de grasa (Tabla 2) y más específicamente con el perfil de ácidos grasos (Balthazar *et al*, 2017).

La leche de oveja es uno de los productos lácteos funcionalmente activos y también se considera una fuente inagotable de nutrición. El papel beneficioso de la leche de oveja se debe a su contenido de ácidos grasos, inmunoglobulinas y proteínas no inmunes. En el intestino humano, las proteínas de la leche se convierten en una excelente fuente de péptidos bioactivos con función antioxidante, antimicrobiana, antihipertensiva, inmunomoduladora y antitrombótica. También se utiliza en formulaciones antienviejimiento y preparaciones de jabón cosmético para aliviar la psoriasis y el eccema cutáneo como enfermedades crónicas. Las propiedades fisicoquímicas y bioquímicas únicas de la leche de oveja también incluyen prebióticos y probióticos que la convierten en un alimento funcional perfecto para la promoción de la salud humana y la reducción del riesgo de enfermedades. (Mohapatra, 2019).

Durante la última década, la investigación en ovejas lecheras se ha centrado en la mejora de las propiedades tecnológicas y de coagulación de la leche, la mejora del valor nutricional de la leche para que coincida con las pautas dietéticas y la producción de leche como fuente de componentes con beneficios potenciales para la salud humana. (Nudda, 2020).

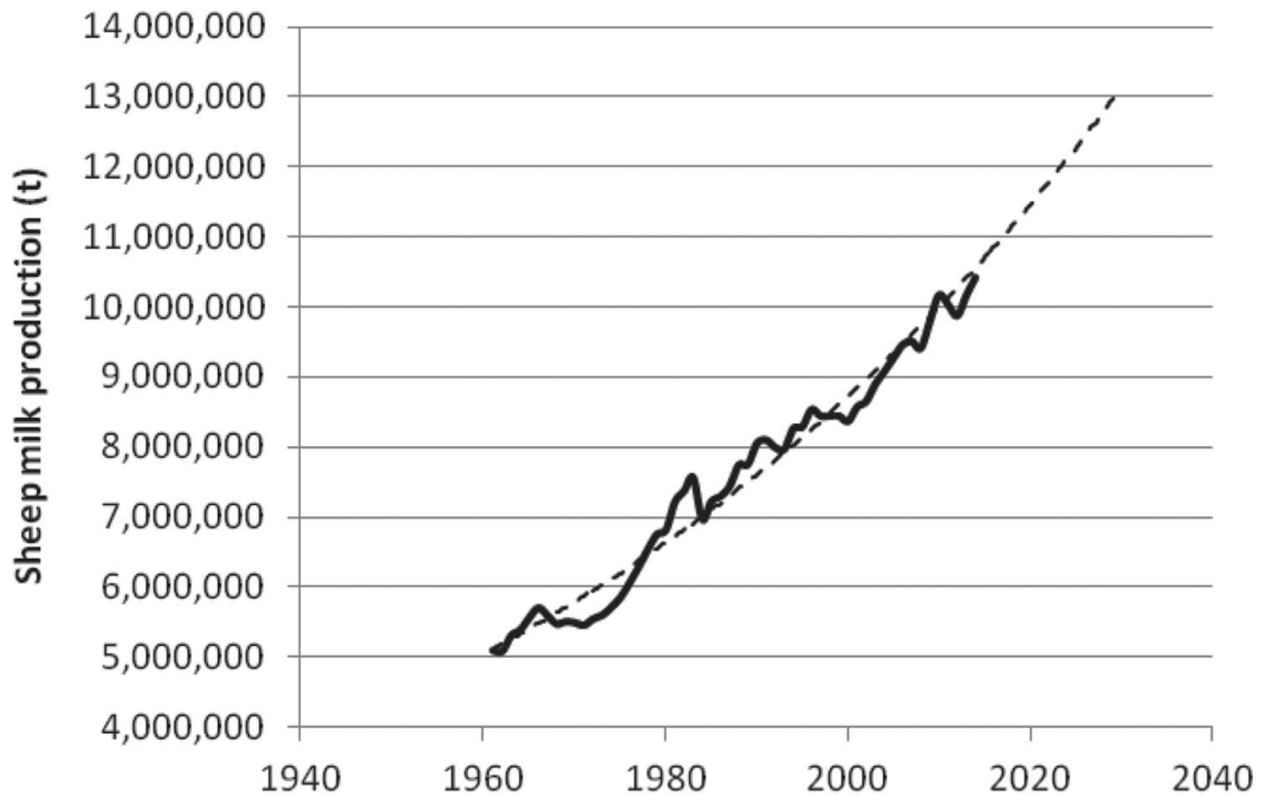
En ovejas lecheras la duración de la lactancia y el rendimiento lechero no se comparan con otros mamíferos domésticos como las cabras o los bovinos productores de leche. Entre las razas de ovejas de mayor producción lechera cabe mencionar la awassi, la east friesland y la lacaune. (FAO, 2021).

El rendimiento lechero es considerado un factor clave para determinar la viabilidad de otros sistemas, como la producción de carne y lana, porque las ovejas que producen más leche tienden a criar más corderos (Fahmy, 2020).

Tabla 2 Composición de la leche de diferentes animales lecheros (Kapadiya *et al.*, 2016; Giambra *et al.*, 2014).

| Parámetros | Oveja | Cabra | Búfala | Vaca | Camello |
|-----------------------|----------------------|----------------------|--------|----------------------|---------|
| Proteína (%) | 4.50–6.60 | 2,80–3,70 | 4.38 | 3.20–4.00 | 3.26 |
| Grasa (%) | (5.30– 9.30) 6.99 | (3,40– 4,50) 4,07 | 7.73 | (3,40– 4,50) 4,09 | 3.8 |
| Lactosa (%) | 3,90–4,90 | 3,90–4,80 | 4.79 | 4.60–4.90 | 4.3 |
| Sólidos no grasos (%) | 12 | 8.9 | 9.5 | 9 | 10.36 |
| Agua (%) | 82 | 83.2 | 83.18 | 87.8 | 86.5 |
| Sólidos totales (%) | 18.5 | 12.5 | 18 | 13.8 | 14 |

La población mundial de ovejas en el año 2018 fue de 1173 millones (FAOSTAT, 2018); de este total alrededor de 250 millones (21%) son ovejas lecheras . Sin embargo, dado que todas las ovejas producen leche, ya sea que se utilice para consumo humano o para sus crías en etapa lactante se debe aclarar la idea por eso se define como una raza lechera al grupo racial de ovejas que producen un nivel relativamente más alto de leche o que se seleccionan y crían para el ordeño. En la actualidad el promedio mundial de producción de leche por oveja es de 41,5 l, siendo más alto en Europa (90,8 l) y más bajo en el continente africano (32,2 l). La producción mundial de leche creció de manera lineal de 5 millones de toneladas en el año de 1960 a 10,5 millones de toneladas en el año 2010 y se calcula que llegue a los 13 millones de toneladas en 2030 (Gráfica 1). Turquía fue el país productor de leche de oveja más grande del mundo en el año 2019, con alrededor de 1,46 millones de toneladas métricas, seguido por China, 1,18 millones de toneladas y Grecia 0,785 millones de toneladas. (Fahmy, 2020).



Gráfica 1 Tendencias de la producción mundial de leche de oveja desde 1960 a 2016 (línea continua) y pronóstico hasta 2030 mediante el uso de un modelo de series de tiempo (línea discontinua) (FAOSTAT, 2018).

Debido al mayor contenido de minerales y proteínas, y de ser una muy buena fuente de lípidos y péptidos bioactivos funcionales, la demanda en el consumo de leche de oveja está aumentando en todo el mundo (Mohapatra, 2019). Ampliando la demanda de ovejas de razas productoras de leche y fortaleciendo su comercialización.

3.4 Razas lecheras

Por sus tradiciones culturales los países del mediterráneo practican más el ordeño de ovejas, al igual que países del norte de África y algunos países asiáticos. Esta práctica del ordeño se realizaba según la temporada, el estilo de producción nómada en donde se mantenían los

rebaños en las montañas en épocas de verano y luego se trasladaban a las llanuras en invierno, para aprovechar las ventajas de la estacionalidad en donde se ve más producción de pastos en estas áreas ha llevado a un bajo nivel de producción y una pobre higiene de la leche (Boyazoglu y Morand-Fehr, 2001).

Como las ovejas se criaban para el ordeño en áreas con baja producción de pastos, los criadores seleccionaron sus ovejas de baja productividad y buena adaptación a las condiciones difíciles del ambiente, ya que a menudo el alimento disponible no era suficiente y era de pobre valor nutricional para sostener una alta producción de leche. Pero a partir de que finalizara la Segunda Guerra Mundial, que muchos gobiernos de Europa comenzaron a fomentar el asentamiento de pastores, acompañándolo con asesorías en la selección de ovejas para la producción de leche. Esto se basó en pruebas de progenie de carneros y resultó en grandes ganancias genéticas, principalmente en países como Francia (Flamant y Barillet 1982). España, Grecia e Italia (Bencini, 1993; Lindsay y Skerritt, 2003).

Debido al crecimiento de la demanda por parte de grupos étnicos se ha visto un aumento en la producción de ovejas lecheras en los países que no tenían una tradición en el ordeño de ovejas como en Gran Bretaña (Mills 1989), EE. UU. (Thomas 2004), Australia y Nueva Zelanda (Bencini, 1993). Aunque situaciones como el pequeño tamaño de la industria y la falta de organización hacen que acciones como la importación de animales de razas lecheras especializadas y con pruebas de progenie se vean obstaculizados (Bencini *et al.*, 2010)

Como sucede en la leche de otros mamíferos como los bovinos, la composición de la leche de oveja varía por factores como el contenido de la dieta, la raza, los individuos dentro de la raza, el parto, el sistema de manejo, las condiciones ambientales, y la etapa de lactancia. (Gómez-Cortés, 2022). Se puede ordeñar cualquier raza de oveja, pero la selección ha permitido que algunas razas sean más eficientes que otras permitiendo que el período de lactancia promedio de las ovejas lecheras oscile de 180 a 240 días mientras que una raza no lechera tiene un período de lactancia que oscila de 90 a 120 días (Mohapatra, 2019).

Las razas de ovejas que son seleccionadas por su alta producción de leche producen una leche con un nivel más bajo de sólidos totales y la porción lipídica muestra una mayor variación

que la fracción proteica dentro de una raza (Gómez-Cortés, 2022). Otro factor para considerar es la etapa de lactancia, como se ve al inicio del periodo postparto el calostro de oveja contiene aproximadamente 13,0 % de grasa, 11,8 % de proteína, 3,3 % de lactosa, 0,9 % de minerales y 28,9 % de sólidos totales, mostrando una concentración de nutrientes básicos mucho más alta que el calostro bovino. (Gómez-Cortés, 2022).

El contenido de grasa y proteína de la leche disminuye durante las primeras semanas, luego aumenta gradualmente después del primer mes hasta que termina la lactancia y disminuye el rendimiento. Al final de la lactancia, el contenido de grasa puede estar entre un 8,1 % a un 10 % y el contenido de proteínas entre un 6,8 % y un 8,9 %. El contenido de lactosa cae ligeramente durante de la lactancia y al final cae bruscamente (4,1%-3,4%) (Gómez-Cortés, 2022).

El enfoque clásico cuantitativo de selección de ovejas lecheras para mejorar la composición de la leche es difícil debido a la correlación genética negativa con la producción de leche. Un objetivo de la selección debería ser aumentar la producción de grasa y proteína independientemente de la producción de leche para evitar castigar las concentraciones de estas (Casu *et al.*, 2009).

3.4.1 Raza east friesland

La raza east friesland, también conocida como german milk sheep y milchscharf, se originó a partir de las ovejas autóctonas de las costas e islas del Mar del Norte, principalmente en la región de East Friesland del norte de Alemania y las islas de Frisia Oriental (Fahmy, 2020). La raza east friesland se ha caracterizado por ser una de las razas más productoras de leche en el mundo (Berger y Thomas, 1997), son animales que fácilmente pueden adaptarse a climas templados a fríos. Entre sus características principales, presentan cola delgada con poco o casi nulo desarrollo de pelo o lana en ella por lo que se les conoce como “cola de rata”. Las hembras adultas pueden alcanzar de 50 a 70 kg de peso vivo y los carneros de 75 a 95 kg.

Dentro de esta raza la producción lechera de individuos sobresalientes puede alcanzar los 1500 kg por lactancia. La duración de la lactancia varía entre 180 y 210 días, y en casos excepcionales dura 260 días; algunos reportes recientes indican que en países Balcanes se han obtenido lactancias de 300 días (Fahmy, 2020).

3.4.2 Raza awassi

La raza ovina awassi que no es de origen no europeo es la más extendida a nivel mundial, esta raza es popular en países del Medio Oriente y suroeste de Asia donde puede tener diferentes nombres como Ivesi, Baladi, Deiri, Sirio, Ausi, Nuami o Gezirieh (Fahmy, 2020). Se cree que los primeros registros de mejoramiento y selección de esta raza datan de 1942 en donde se registró una producción promedio de 279 kg con un máximo de 430 kg, después de 20 años, la media alcanzó los 421 kg y algunas ovejas alcanzaron los 1050 kg. (Fahmy, 2020).

3.4.3 Raza lacaune

Esta raza recibe su nombre de una ciudad al sureste de Tarn en las montañas Lacaune de Francia. En 1870, en un esfuerzo por mejorar el potencial de producción de leche, las razas merino, southdown y berbería se cruzaron con ovejas lacaune, esta acción tuvo poca influencia en la raza. En 1947, la raza camarés del sur del Aveyron se absorbió oficialmente en la raza lacaune junto con las razas larzac y segala de Aveyron y las razas lauraguais y corbires de Aude. El mayor producto obtenido de esta raza es la leche, utilizada en la elaboración del queso Roquefort, aunque la producción de carne y lana también es común. (Fahmy, 2020).

En Francia se han adoptado índices genéticos que consideran el contenido de grasa y proteína de la leche para las ovejas lacaune, con el fin de prevenir una disminución del contenido de grasa y proteína de la leche causada por una selección basada únicamente en elevar el volumen de producción (Barillet 1997).

Las ovejas de la raza lacaune se han seleccionado de forma intensiva para la producción de leche, viéndose como la producción de leche en 1964 que fue de 80 l, paso en 1974 a 140 l y en 1998 llegó a 270 l (Barillet *et al.*, 2001).

3.5 Leche de oveja, un alimento funcional

El futuro de las ovejas lecheras ha dependido de la capacidad de producir más leche y productos lácteos de calidad. (Mohapatra, 2019). Las ovejas y las cabras tienen un tipo de secreción de leche apocrina, mientras que en las vacas la secreción de leche es de tipo merocrina. Por esta razón en pequeños rumiantes encontramos un recuento de células somáticas (SCC) más alto que el de las vacas (Caldwell, 2014)

Las personas en la actualidad están buscando alimentos naturales con beneficios para la salud para disminuir el consumo de medicamentos que tienen numerosos efectos secundarios. Para muchas personas, especialmente para los niños lactantes, la leche de pequeños rumiantes y sus productos son también opciones (Haenlein, 2001).

Un alimento puede tener tres funciones: (1) ser fuente de energía en forma de carbohidratos, proteínas, lípidos o ambos; (2) ofrecer placer, a través de sus características organolépticas; (3) traer beneficios para la salud del consumidor. (Mingruo Guo, 2009). Un alimento funcional debe poseer un componente, nutriente o no nutriente, que ejerza un efecto sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto adicional a su valor nutricional y cuyos efectos benéficos justifican que pueda recibir el carácter de funcional o incluso saludable (PROFECO, 2013). En la actualidad existe un incremento en investigar el papel de la actividad antioxidante de los alimentos y se hace en particular para los alimentos de origen vegetal más que con los alimentos de origen animal. Sin embargo, también se ha reportado que los alimentos de origen animal, particularmente los lácteos, ejercen actividades antioxidantes a través de varios compuestos bioactivos (Fardet y Rock, 2017).

La leche es un líquido que posee efectos nutricionales, inmunológicos y antiinflamatorios, único dentro del reino animal y de suma importancia para las crías de los mamíferos (Vorbach

et al., 2006). La leche protege la salud de los recién nacidos porque contiene compuestos esenciales que realizan actividades metabólicas. A pesar de estos beneficios, el estudio de los compuestos fenólicos en la leche ha sido poco explorado (Vázquez, 2015). Además de lo anterior, la leche es un alimento biológicamente completo que contiene macronutrientes y agua (Rodríguez, 2009). La leche puede contener varios compuestos antioxidantes que pueden ser de origen exógeno o endógeno, dentro de los compuestos exógenos sobresalen principalmente las vitaminas A, E y C, mientras que los antioxidantes endógenos incluyen a las enzimas catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa etc., y sustancias provenientes de proteínas como lactoferrina y coenzima Q10 (Albera y Kankofer, 2009; Bysokogorskii y Veselov, 2010; Gunesser y Karagul, 2012; Pizzoferrato *et al.*, 2007, Rodríguez, 2009).

Un antioxidante de tipo biológico es ese compuesto que estando presente en el alimento en una concentración mucho menor en comparación con la de un sustrato oxidable, puede retrasar o impedir la oxidación de dicho sustrato (Halliwell *et al.*, 1992; Godic *et al.*, 2014). Las funciones antioxidantes comprenden la reducción del estrés oxidativo, la protección de los ácidos nucleicos contra posibles mutaciones, así como otros parámetros de daño celular (Galina *et al.*, 2018).

El sistema de defensa antioxidante endógeno que puede comprender a enzimas antioxidantes, ácido úrico, bilirrubina, proteínas ligantes metálicas como ferritina, transferrina, lactoferrina y ceruloplasmina, se logra fortalecer con la adición de antioxidantes exógenos como ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, fenólicos-flavonoides y no flavonoides, entre otros presentes en la dieta o en suplementos nutricionales (Pisochi y Pop, 2015).

El estilo de vida y la dieta moderna llevan a un sinnúmero de enfermedades lo que está surgiendo como un desafío en los países en desarrollo. Por tanto, en los espectros modernos de la salud humana, los alimentos bioactivos desempeñan una alternativa fundamental (Mohapatra, 2019). Ordeñar ovejas en los países en desarrollo es relativamente nuevo, pero en la era de los alimentos funcionales, las fórmulas de leche de oveja desempeñarán un papel

fundamental a la hora de proporcionar beneficios para la salud de las personas (Mohapatra, 2019).

3.6 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se define como un desbalance entre oxidantes y antioxidantes, debido a que el exceso de actividad oxidante no es neutralizado por la capacidad antioxidante (Celi, 2010). Aunque existen amplias y variadas definiciones del concepto de estrés oxidativo, aún no se ha formulado una hipótesis general y definitiva de estrés oxidativo (Sies, 2015).

Este concepto de estrés oxidativo aumenta el interés en el estudio de las vías de generación de las principales especies reactivas de oxígeno (ROS) que dependen del desarrollo de fenómenos subespecíficos que generan estrés oxidativo, por ejemplo, estrés metabólico, estrés ambiental, estrés foto oxidativo, estrés oxidativo dependiente de fármacos, estrés nitrosativo o ambos (Sies *et al.*, 2005).

El estrés oxidativo es responsable del daño de varias macromoléculas en el organismo, por ejemplo, ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos, proteínas y a partir de la oxidación de estas macromoléculas se originan productos finales, que pueden medirse, para de esta forma establecer el estrés oxidativo (Celi y Gabai, 2015).

El estrés oxidativo participa en más de 100 enfermedades, ya sea como una causa primaria o factor asociado (Halliwell *et al.*, 1992; Gutteridge, 1993). Este es un proceso producto de las especies reactivas al oxígeno, influyen negativamente en la fisiología del envejecimiento, que consiste en que empiezan a disminuir las funciones fisiológicas de defensa del cuerpo, lo cual promueve la presentación de enfermedades y reducen el lapso de vida (Maulik *et al.*, 2013).

Los daños que genera el estrés oxidativo sobre los componentes de las membranas lipídicas favorecen el mecanismo de neurodegeneración, cáncer, enfermedades cardiovasculares o inflamatorias (Pisochi y Pop, 2015). Se ha logrado demostrar que la producción en exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) puede llevar a que se sobre expresen genes oncogénicos

o a la formación de compuestos mutagénicos, y además está relacionada con la inflamación (Pisochi y Pop, 2015).

3.7 Compuestos polifenólicos:

Las plantas usan una alta cantidad del carbono asimilado y de la energía, a la formación de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no tienen una función directa en procesos primarios relacionados con fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, transporte de minerales, síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios. (Figura 1). (INFOAGRO, s.f.)

Los metabolitos secundarios no se encuentran en todos los grupos de plantas. Las plantas sintetizan estos metabolitos en cantidades muy pequeñas y no de forma generalizada, esto hace que su producción se presente en una determinada familia de plantas, o incluso solo en algunas especies dentro de ellas (INFOAGRO, s.f.).

Los metabolitos secundarios de las plantas se pueden agrupar así:

- Terpenos: Hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- Compuestos fenólicos: Lignina, taninos, cumarinas y flavonoides.
- Glicósicos: Glicósidos, glucosinolatos y saponinas.
- Alcaloides

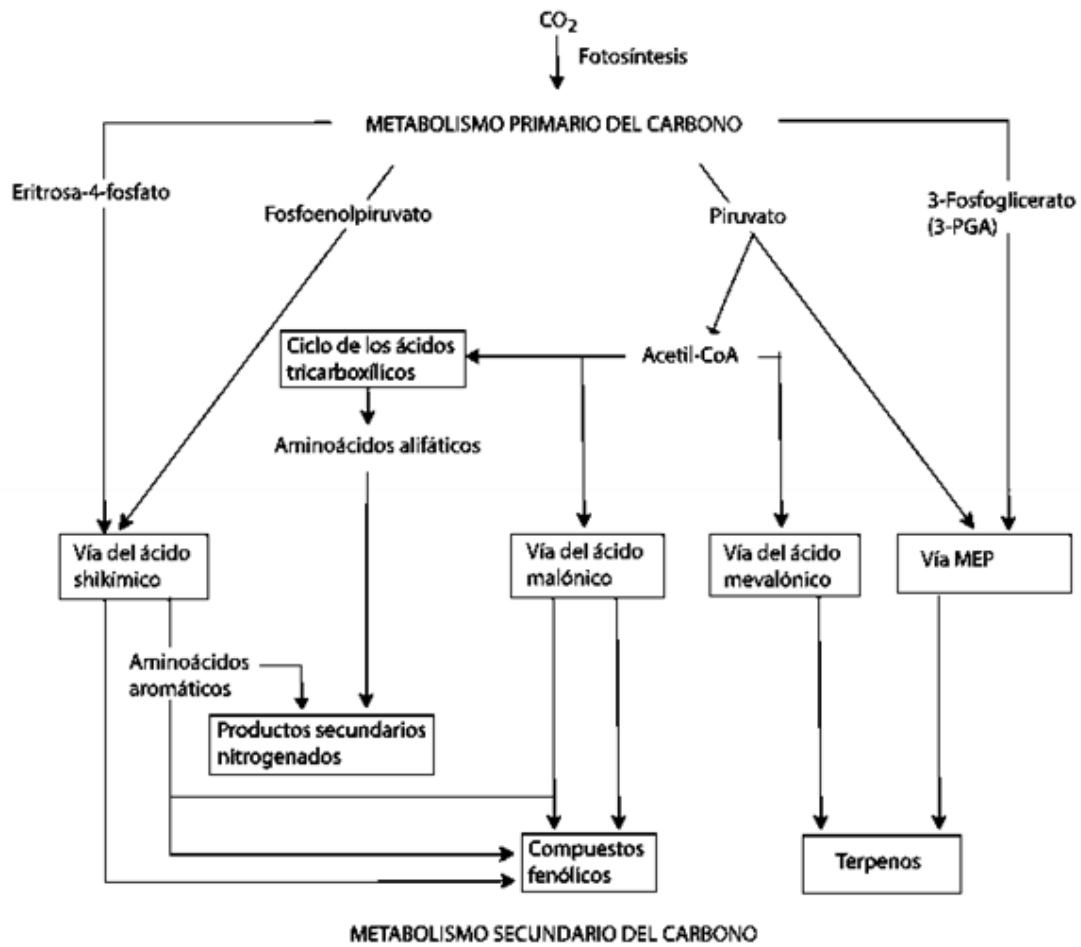


Figura 1 Principales vías de biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interrelaciones con el metabolismo primario. (Taiz, 2002)

La formación de los polifenoles como productos del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos (Bravo L, 1998). De la primera ruta se obtienen los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano) como se muestra en la Figura 2. Mientras tanto de la ruta de los poliacetatos se obtiene las quinonas y las xantonas (Quiñonez *et al*,2022).

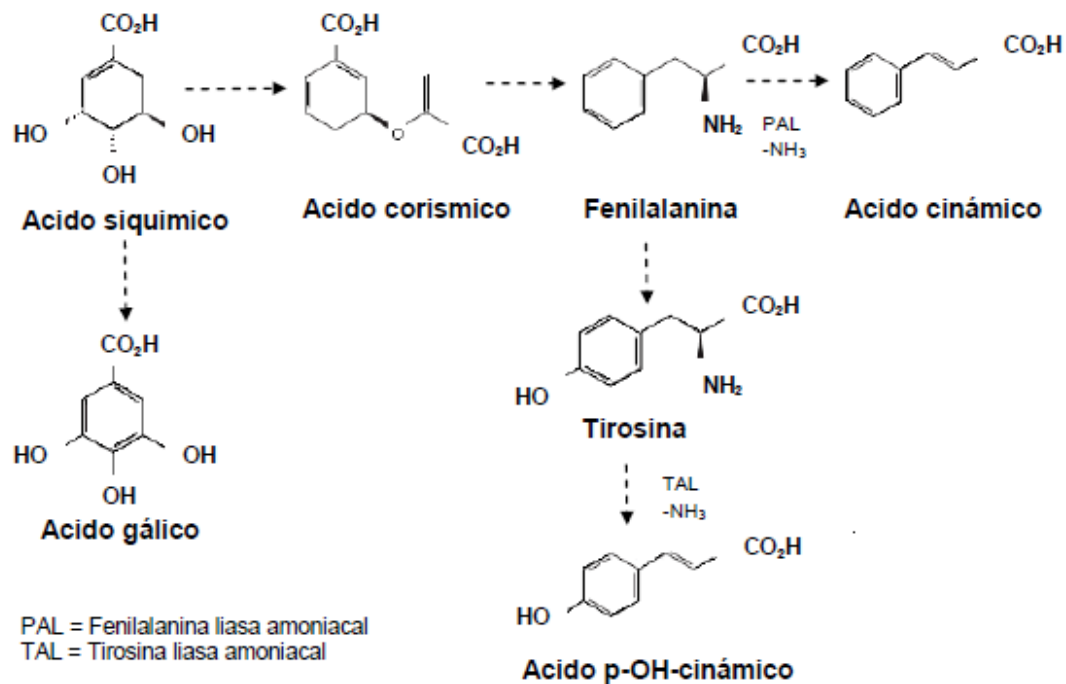


Figura 2 Biosíntesis de los compuestos fenólicos (Tenorio *et al.*, 2006).

Además de los nutrientes principales (grasas, carbohidratos, proteínas), las plantas contienen metabolitos secundarios que intervienen en las interacciones en la señalización entre la planta y el medio ambiente, estos dan a las plantas su color y sabor, contribuyendo a las estrategias de defensa y otras funciones (Boudet, 2007; Díaz-Sánchez *et al.*, 2015).

Cuando se habla de compuestos fenólicos sobresale lo que se conoce como la “Paradoja francesa” en donde los franceses, a pesar de ser grandes consumidores de grasas saturadas (mantequilla, crema de leche), tienen una menor presencia de problemas cardiovasculares que otros países desarrollados de Europa y Norteamérica. La clave de esta situación se debe supuestamente al buen hábito de beber vino de forma regular. Se ha demostrado que el consumo de 200 ml de vino tinto de manera diaria ayuda a que se reduzca el riesgo de presentar un infarto al miocardio. Atribuyéndose en parte, a la presencia de antioxidantes fenólicos en éste, como, por ejemplo, el resveratrol (Gimeno, E. 2004).

Cuando se incluye en la dieta de un rumiante, los polifenoles pueden generar varias ventajas como: reducir el costo de alimentación para los ganaderos y otorgar valor agregado a los productos lácteos mejorando la calidad y la eficiencia de su producción (Correddu, *et al.*,2020).

El término de “compuestos fenólicos” hace referencia a todas aquellas sustancias que poseen un grupo fenol, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Solo algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenólicos no son polifenoles, sino monofenoles (Gimeno, E, 2004).

Son las plantas, integrantes del reino vegetal, las capaces de formar estos compuestos fenólicos, formando parte del grupo de principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas como parte de su alimentación. El control sobre la producción de estos compuestos fenólicos está regulado de manera genética, tanto a nivel cuantitativo como cualitativo, aunque a este nivel también influyen factores medio ambientales. Las plantas cuando sufren lesiones pueden secretan estos compuestos fenólicos como mecanismo de defensa de posibles ataques de hongos y bacterias; Además que contribuyen a dar color a algunas partes de las plantas, (p. ej. las antocianinas son responsables del generar los colores como el rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). Y cuando los fenoles son oxidados, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo que muchas veces es indeseable (Gimeno, E.2004), algunas de las características organolépticas que proporcionan los polifenoles se muestran en la tabla 3.

Cuando el grupo $-OH$ se encuentra unido a un anillo aromático llamado benceno, el compuesto recibe el nombre de fenol. El polifenol puede cambiar desde compuestos fenólicos simples (por ejemplo, ácidos elágico y gálico), hasta compuestos diméricos u oligoméricos (por ejemplo, procianidinas, lignanos) o compuestos poliméricos con un peso molecular alto, como los taninos (Bravo, 1998).

Tabla 3 Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos (Gimeno, E.,2004)

| |
|--|
| Color |
| Las antocianinas, generan de los tonos rojos, azules y violáceos de muchas frutas, hortalizas y derivados; Fresas, ciruelas, uvas, berenjena, col lombarda, rábano, vino tinto, etc. |
| Sabor amargo |
| Las flavonas de los cítricos (Narangina de pomelo, neohesperidina de la naranja) o la oleuropeína que se forma en las aceitunas. |
| Astringencia |
| Las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, por ejemplo, los elagitaninos presentes en el vino. |
| Aroma |
| Fenoles simples como el eugenol en los plátanos. |

Las plantas producen una amplia gama de compuestos orgánicos derivados del metabolismo secundario que pueden ser útiles en la nutrición animal debido a su composición química. Se ha demostrado que estos compuestos bioactivos de origen vegetal, también llamados fitobióticos, expresan actividades antimicrobianas contra una amplia gama de bacterias, levaduras hongos además de tener una actividad como modificadores del rumen en la nutrición de rumiantes (Oh *et al.*, 2017).

Desde la antigüedad el hombre ha tenido relación con los compuestos fenólicos, usando principalmente taninos, como en la producción de cuero a partir de pieles de animales (Haslam & Lilley, 1988). En la sociedad occidental, se ha usado extractos que contienen compuestos fenólicos de una variedad de plantas para tratar quemaduras, escorbuto e intoxicaciones por hongos (amanita) (Singleton, 1981). Mientras que en china se han encontrado reportes del uso de extractos de plantas ricos en polifenoles como agentes hemostáticos y antidiarreicos (Haslam y Lilley, 1988).

Teniendo en cuenta el consumo promedio de polifenoles y los procesos de desintoxicación fisiológica en humanos, los compuestos fenólicos poliméricos se empiezan a degradar gracias a la microflora intestinal (Kelly *et al.*, 1993) y los compuestos fenólicos simples se metilan o se convierten en conjugados de fosfato o sulfato en el hígado y riñón, para mejorar su solubilidad, y luego se excretan, parece que en la mayoría de los casos el consumo de compuestos fenólicos no representa un riesgo para la salud de los humanos, aunque pueden existir excepciones (Singleton, 1981).

El estilo de vida de las personas y los factores sociodemográficos pueden determinar el consumo promedio de polifenoles, variando entre países y poblaciones, (Castro, 2018). En algunos países europeos como Francia, Alemania, Grecia, Italia, Noruega, España, entre otros, el consumo de polifenoles varía entre 584 - 1786 mg/día en donde el consumo de bebidas no alcohólicas como café, té y jugos de frutas, frutas y verduras, y bebidas alcohólicas como vino son la principal fuente de estos compuestos fenólicos, mientras que en Estados Unidos se ha calculado que el consumo diario de polifenoles varía entre 358 - 413 mg/día y las principales fuentes alimentarias son manzana, jugos de naranja y fresas. (Castro, 2018). En Brasil el consumo promedio de polifenoles es de 1198.6 mg/día, proveniente de alimentos como café, leguminosas y polenta. (Castro, 2018).

En México se ha reportado en humanos un consumo promedio de polifenoles de 684 mg/día y las principales fuentes alimentarias son el café y las frutas. (Castro, 2018).

Los compuestos fenólicos representan una clase de compuestos bioactivos que son derivados de las vías de pentosa fosfato, shikimato y fenilpropanoide en las plantas. (Balasundram *et al.*, 2006). El contenido de fenoles totales en las plantas y frutos varía dependiendo del genotipo, la especie, las condiciones ambientales, el grado de madurez, la composición del suelo, la ubicación geográfica y las condiciones de almacenamiento. (Haminiuk *et al.*, 2012). Estos compuestos, comúnmente encontrados en el reino vegetal, incluyen varios grupos de diferentes sustancias, entre ellas taninos, flavonoides y ácidos fenólicos, (Figura 3) y son una de las clases de compuestos más importantes por sus actividades biológicas, especialmente por sus propiedades antioxidantes (Škerget *et al.*, 2005) (Liu H *et al.*, 2008) y sus implicaciones en la nutrición animal. (Tedesco *et al.*, 2001) (Alonso-Amelot *et al.*, 2007).

En altas concentraciones en la dieta de los animales los taninos pueden afectar negativamente su productividad, ya que reducen la actividad microbiana del rumen y la digestión bacteriana y de aminoácidos en el intestino, y en cantidades moderadas, los taninos tienden a aumentar la producción de leche y el contenido de proteínas, probablemente ya que protegen a las proteínas proveniente del alimento de la degradación ruminal y aumentan la disponibilidad de aminoácidos esenciales. Además, cuando se incluye los polifenoles en la dieta puede influir en la aparición de compuestos nutraceuticos o saborizantes en la leche y los productos lácteos. Un ejemplo de ello se logró con el suministro de taninos condensados de *Hedysarum* (40g/kg MS) un género de la familia de las Fabáceas, el cual fue ofrecido a ovejas en lactancia lo cual disminuyó la absorción intestinal de indol y escatol (Roy *et al.*, 2004a) y su secreción en la leche (Roy *et al.* 2004b).

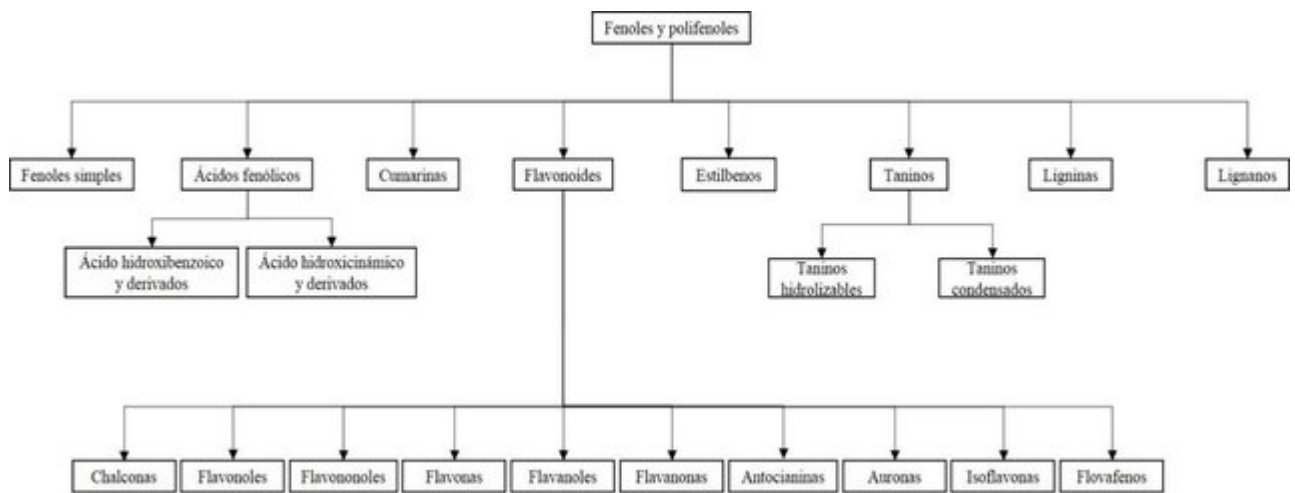


Figura 3 Clasificación de los fenoles y polifenoles. Adaptado de Shahidi y Ambigaipalan, 2015.

3.8 Importancia de los fenoles en el alimento

El metabolismo del animal se verá afectado por la composición y la calidad del alimento que consume ya que esto incide en la disponibilidad de energía y nutrientes para la síntesis de los componentes de la leche o la carne (Mardalena *et al.*,2011).

Se ha demostrado que la presencia de compuestos fenólicos de la dieta trae efectos benéficos sobre los índices de producción. Por ejemplo, en cabras productoras de leche que son alimentadas con pastos ricos en compuestos fenólicos producen leche con mayor contenido de grasas y especialmente de omega 3, además de un mayor contenido de proteínas y menor contenido de urea en comparación con grupos de cabras productoras de leche que son alimentadas con una dieta pobre en compuestos fenólicos (Hadaya *et al.*, 2017; Hadaya *et al.*, 2020).

En los forrajes se encuentran grandes cantidades de compuestos aromáticos tanto en la pared celular insoluble (Besle *et al.*, 1994) como en el contenido celular en forma de polifenoles solubles en agua y etanol (Fraisse *et al.*, 2007) específicos de cada taxón vegetal (Harborne, 1999). Para establecer la composición polifenólica de los forrajes, los métodos colorimétricos específicos, que son rápidos, pueden ser un primer enfoque suficientemente preciso y económico. (Fraisse *et al.*, 2007). Es un objetivo nuevo en la evaluación de la calidad de los piensos y productos animales. Ya que existe un aumento en el interés sobre el conocimiento nutricional de los polifenoles y de su efecto de las dietas de los animales. (Fraisse *et al.*, 2007).

3.9 Cuantificación de fenoles en el alimento

Para determinar y cuantificar fenoles totales en alimentos y vegetales existen dos métodos usados comúnmente: El ensayo de la vainillina y el método de Folin-Ciocalteu. Este ensayo de la vainillina se utiliza para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas que tienen unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos metahidroxilo libres en el anillo B, mientras el método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. Este método usa el reactivo de Folin-Ciocalteu que contiene molibdato y tungstato sódico, los cuales reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando así complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, G.L., 1979). Cuando ocurre la transferencia de electrones a pH básico se reducen los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno

(W₈O₂₃) y molibdeno (Mo₈O₂₃), siendo este color proporcional al número de grupos hidroxilo de la molécula (Julkunen-Tiito, 1985).

En estudios recientes sobre polifenoles, en especial los taninos condensados (Aerts *et al.*, 1999; Barry y McNabb, 1999) se resalta la importancia de considerar el efecto dosis-dependiente. Por lo tanto, las especies que presentan concentraciones moderadas de taninos condensados (2-4% de la MS) pueden ejercer efectos beneficiosos sobre el metabolismo de las proteínas en los rumiantes, lo que disminuye la degradación de las proteínas de la dieta en el rumen y aumentan la absorción de aminoácidos en el intestino delgado de los animales; Mientras que en las dietas que contienen una concentración alta de taninos condensados (6–12 % de la MS) se puede deprimir el consumo voluntario de alimento, la eficiencia digestiva y la productividad en los animales (Frutos *et al.*, 2002).

3.10 Polifenoles en el rumen

Existe un aumento en el estudio de los efectos de los polifenoles vegetales en la nutrición animal. Estos compuestos resultan ser ubicuos en el reino vegetal, especialmente en algunas plantas espontáneas explotadas como recursos de alimentación alternativos a los cultivos y en varios subproductos de la agroindustria. Los compuestos fenólicos interactúan con la microbiota ruminal afectando la fermentación de carbohidratos, la degradación de proteínas y el metabolismo de los lípidos, aspectos que han sido ampliamente estudiados, especialmente para los taninos; pero, se dispone de menos información sobre el efecto directo de los compuestos fenólicos en la composición de la microbiota ruminal. (Vasta *et al.* 2019) y su presencia en alimentos de origen animal.

Según Frutos *et al.* (2004), la cantidad total de polifenoles en la dieta puede afectar el consumo voluntario de alimento en los animales, lo que está relacionado con la presencia de dosis altas de taninos que redujeron significativamente la ingesta voluntaria de alimento y el rendimiento animal, en comparación con dosis bajas o medias. Esto se ve reflejado en la

reducción de la palatabilidad en las dietas, generada por la actividad astringente de los taninos (Patra y Saxena, 2011). Aunque se han reportado diferencias según la naturaleza de los taninos, en ovinos lecheros se suelen considerar dosis adecuada entre 20 y 40 g por cabeza al día (Toral *et al.*, 2011).

En las últimas décadas el estudio del efecto de los polifenoles en la dieta de los rumiantes ha tomado mayor relevancia debido a los resultados que muestran su efecto en el ambiente ruminal ya que puede aumentar o disminuir la población microbiana del rumen. Está ampliamente demostrado que el mayor aprovechamiento del alimento en el rumen depende de todo el conjunto de microorganismos ruminales, más que de la acción de grupos específicos o cepas de algunos microorganismos. (Vasta *et al.* 2019).

Varios estudios demuestran que los cambios en la composición y abundancia de microorganismos ruminales son inducidos no solo por el tipo de alimento, ya sea una dieta más o menos rica en granos o forrajes frescos (Fernando *et al.*, 2010; Grilli *et al.*, 2016) sino que también por la presencia de compuestos secundarios en la dieta, como los compuestos fenólicos, las saponinas y los aceites esenciales (Vasta y Luciano, 2011).

Aunque algunos estudios se contradigan, en general, los polifenoles presentes en la dieta pueden modular la composición en la microbiota del rumen al afectar negativamente a algunas especies de bacterias fibrolíticas y protozoos ciliados. Se han descrito diferencias entre el efecto según el tipo de polifenol, por ejemplo: los taninos condensados los cuales suelen inhibir el proceso de biohidrogenación mientras que los taninos hidrolizados modulan la biohidrogenación. (Vasta *et al.*, 2019).

La mayoría de los compuestos polifenólicos que se pueden encontrar en la leche aparecen de la degradación ruminal de polifenoles solubles y de compuestos aromáticos de la pared celular de los forrajes. Varias reacciones bioquímicas como reducción, desmetilación, deshidroxilación y descarboxilación dan como resultado varios compuestos aromáticos que pueden absorberse (Besle *et al.*, 1995). Estos compuestos son absorbidos a través de la pared del rumen y la mucosa intestinal y se conjugan inmediatamente antes de que puedan ser transformados en el hígado y excretarse en la orina o la leche (Scheline, 1991).

3.11 Los principales compuestos antioxidantes de la leche

Debido a la presencia natural de agentes antioxidantes en la leche de oveja, tales como las proteínas del suero, los carotenoides, la lactoferrina, los tocoferoles, ácido ascórbico y enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, entre otros, la oxidación en este alimento está naturalmente compensada (Lindmark-Månsson y Åkesson, 2000). Las proteínas como las caseínas, la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina, son consideradas como uno de los principales compuestos antioxidantes presentes en la fase soluble en agua de leche de oveja. probablemente debido a la actividad antioxidante generada por los aminoácidos (Caroprese *et al.*, 2019).

En la fase hidrofóbica, la fracción lipídica representa una fracción importante que determina la actividad antioxidante. En la fase hidrofóbica de la leche los principales componentes que ejercen actividad antioxidante son los ácidos grasos, vitaminas lipofílicas como α -tocoferol y β -caroteno, coenzima Q10, fosfolípidos, éter lípidos y compuestos fenólicos (Simos *et al.*, 2011). Pero el compuesto que muestra la mayor actividad antioxidante en la fase hidrofóbica de la leche es el ácido linoleico conjugado (Fardet y Rock, 2017). Y se ha informado que el ácido linoleico conjugado en la leche mejora la actividad de enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, al eliminar los radicales libres, mejorando así en general el efecto de las enzimas antioxidantes. (Chinnadurai *et al.*, 2013).

Algunos compuestos secundarios vegetales como los terpenos y fenoles se transfieren a la leche en cierta medida. mostrándose que una alimentación con plantas con flores ricas en fenoles vegetales mejora la concentración de los ácidos α -linolénico y linoleico conjugado (CLA) en la leche de vacas lecheras, que se consideran beneficiosos para la salud humana. Este enriquecimiento se debe al efecto inhibitorio de los fenoles sobre la biohidrogenación ruminal. Los estudios en vacas lecheras mostraron que la biohidrogenación ruminal satura la mayor parte de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de la dieta. Resultando así que los compuestos secundarios vegetales influyen en la biohidrogenación ruminal ayudando a determinar el perfil de ácidos grasos (AG) de la leche (Leparmarai P, 2019).

En particular, el potencial antioxidante de la leche depende de varios factores como: el factor racial, la composición de la dieta, la cantidad y calidad de los complementos grasos en el pienso, así como del estado de los pastos (Fardet y Rock, 2017).

3.12 Factor Racial:

En Europa se han encontrado registros históricos en donde las ovejas se ordeñaban y con su leche se elaboraba queso desde el Neolítico y la Edad del Bronce, ya que en el centro de Italia se encontraron calderas de leche prehistóricas junto con huesos de ovejas y cabras (De Bellis, 1982; Helmer y Vigne, 2007). así como la evidencia de residuos de leche en cerámica encontrada en varios sitios arqueológicos (Dudd y Evershed, 1998).

El ordeño de ovejas se practicaba tradicionalmente en los países mediterráneos, incluidos Italia, Francia, España, Portugal, Grecia, el norte de África y algunos países asiáticos. Este ordeño se realizaba según la estación y bajo un estilo de vida nómada generando un bajo nivel de producción con mala higiene de la leche. (Boyazoglu y Morand-Fehr, 2001). En estas condiciones de producción primitiva, la selección hacia razas de ovejas lecheras especializadas nunca se impulsó en la misma medida que en el ganado bovino lechero (Flamant y Morand-Fehr 1982).

Existe una correlación negativa entre el volumen de producción de leche y la composición de la leche, de modo que cuando los animales tienen un rendimiento lechero mayor, la leche suele tener una menor concentración de grasa y proteína (Bencini y Pulina, 1997).

Los efectos que pueden ejercer los polifenoles en la dieta de los rumiantes pueden variar entre especies de animales. Esto se debe especialmente a los mecanismos evolutivos desarrollados para afrontar la desintoxicación específica y a los mecanismos desarrollados para afrontar las diferencias en la composición típica de los alimentos consumidos de forma natural por los herbívoros, como las ovejas, y los ramoneadores, así como por los comederos intermedios, como las cabras (Austin *et al.*, 1989).

El ramoneador, que normalmente ingiere tanino en la dieta, va a producir unas proteínas de unión a taninos, mientras que los herbívoros no producen tales proteínas. (Austin *et al.*, 1989).

Algunos estudios en donde a ovejas suplementadas con taninos de quebracho (*Schinopsis balansae*) no alcanzaban a producir las proteínas salivales suficientes para desactivar los taninos consumidos (Ammar *et al.*, 2011) permitieron demostrar que el principal mecanismo que usan los herbívoros como las ovejas para desintoxicarse del exceso de taninos consumidos depende de los cambios en la población microbiana ruminal para poder compensar la actividad de estos compuestos fenólicos (Silanikov *et al.*, 1996; Ammar *et al.*, 2009).

Un factor importante que afecta la cantidad de leche producida es la etapa de lactancia. En ovejas, la lactancia comienza con el parto y los rendimientos de producción diaria aumentan rápidamente durante las primeras semanas. Los rendimientos máximos de producción de leche se logran alrededor entre la tercera y la quinta semana de lactancia (Bencini y Pulina, 1997). Después de este pico, la velocidad en que la producción desciende depende de la raza, el genotipo y del potencial lechero de cada individuo. Las concentraciones de sólidos totales y células somáticas son altas al principio y al final de la lactancia, pero bajas en el pico de la lactancia, mientras que la concentración de la lactosa sigue de cerca el rendimiento de la lactancia (Bencini y Pulina, 1997).

La selección de animales productores de leche bajo el aspecto de la calidad del producto final tiene que lidiar con la constante evolución del concepto de calidad, que incluye una marcada tendencia hacia aspectos nutracéuticos. (Ward *et al.* 1997). Un ejemplo significativo de esto está representado por el reciente interés en el contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en la leche. Las diferencias en la región genómica que contiene el gen estearoil Co-A Desaturasa (SCD), que codifica la enzima delta-9-desaturasa, afectan el nivel de presencia de CLA de la leche. Se ha podido clonar el ADN complementario (ADNc) de diferentes especies, incluidos hámster, rata, ratón, humanos y ovejas, pero solo se ha identificado una isoforma del gen SCD, ubicada en el cromosoma 22 de ovejas (Ward *et al.* 1997).

4 JUSTIFICACIÓN

Existe una creciente curiosidad por el estudio de compuestos bioactivos presentes en la leche que pueden beneficiar la salud humana como antiinflamatorias, anticancerosas, entre otras. En este sentido, la mayoría de las investigaciones de la leche van enfocadas en sus características industriales y en las propiedades nutricionales sobresalientes como proteína y los múltiples beneficios de los ácidos grasos poliinsaturados, pero, existen otros compuestos que pueden enriquecer el valor nutricional de este compuesto con características nutraceuticas como son los compuestos fenolicos. De esta forma, se sabe que el factor dietario de los animales incide en la presencia de compuestos fenolicos en la leche los cuales influyen de forma directa en características organolépticas como sabores y colores, pero además se sugiere que dichos compuestos poseen acción antioxidante y por ende un efecto nutraceutico sobre la salud humana. Reconociendo los beneficios que trae para el consumidor final la presencia de polifenoles en los productos lácteos de origen ovino, resulta importante cuantificar la cantidad de fenoles totales en la leche ya que es una forma de demostrar el valor como alimento funcional, además de que no existen estudios en México en donde se comparen la presencia de fenoles totales en leche proveniente del alimento que consumen las ovejas y como pueden existir diferencias entre razas ovinas lecheras que se han adaptado a las condiciones medioambientales del país, permitiéndole al productor de leche y quesos de oveja tener un factor más para poder realizar la selección de sus animales.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Cuantificar los fenoles totales presentes en la leche de ovejas de las razas east friesland y la cruce de lacaune- awassi a través del método de Folin-Ciocalteu durante un periodo de lactancia en condiciones de estabulación.

5.2 Objetivos específicos

- Estandarizar la curva de ácido gálico como parámetro de referencia para correlacionar el contenido de fenoles totales en la leche de oveja.
- Determinar espectrofotométricamente el contenido de polifenoles totales en la leche de ovejas east-friesland y lacaune-awassi en estabulación durante una lactancia a través del método de Folin-Ciocalteu.
- Correlacionar el contenido de fenoles de la dieta frente a los obtenidos en la leche de las ovejas durante el periodo de la lactancia.
- Asociar el contenido de fenoles totales de la leche con el factor racial en ovejas east-friesland y lacaune-awassi en estabulación durante una lactancia.

6 HIPOTESIS

Existen diferencias entre la cantidad de compuestos fenólicos totales presentes en la leche de ovejas de las razas east friesland y lacaune-awassi durante la lactancia en condiciones de estabulación, lo que podría afectar la presencia de estos compuestos en la leche dependiendo de la toma de la muestra de leche en el periodo de lactancia cuando se mantiene una misma dieta durante este periodo y correlacionando la cantidad de fenoles en la alimentación *versus* la cantidad que se encuentra en la leche de las ovejas.

7 MATERIALES Y MÉTODOS:

7.1 Localización

Las muestras de leche fueron tomadas en una producción ubicada en la localidad de Río Frío en el municipio de Ixtapaluca, Estado de México, con coordenadas de L-98°66'97.2" y A-19°35'25.0". Está ubicada a 3000 msnm, y cuenta con una temperatura promedio de 16°C.

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio N° 3 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria-UIM campo 4 Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM. Cuautitlán - Teoloyucan km 2.5, San Sebastián Xhala, 54714 Cuautitlán, Méx. Ubicado a 2260 msnm, con una temperatura promedio de 17°C.

7.2 Población de estudio.

Se evaluó la leche de 24 hembras ovinas (12 east-friesian y 12 lacaune-awassi) que se manejaron bajo un sistema estabulado, estos semovientes tenían 35 días posparto, encontrándose clínicamente sanas y con una condición corporal entre 3 y 4 de una escala de 1 a 5.

7.3 Toma de muestras de leche

La toma de muestras se realizó en los días 35, 50, 65, 80, 95 y 110 de lactancia, se tomaron 40 ml de leche y se depositaron en vasos de vidrios estériles, los cuales se transportaron en refrigeración. En cada muestreo se realizó el pesaje de la leche por medio de un medidor Waikato® de 4.5 litros. (De la Cruz, 2019).

7.4 Liofilización de la leche

Las muestras se refrigeraron a 4°C por 48 horas y posteriormente a se congelaron a -20°C durante 48 horas hasta su liofilización para luego depositarse en cajas de Petri y ser marcadas de manera individual, este proceso de liofilización se llevó a cabo según lo reportado por De la Cruz (2019) en la Unidad de Investigación Carlos Pijoan de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo Uno, utilizando un equipo de la marca LABCONCO® modelo freezone con las siguientes condiciones:

- Congelación: -14°C por 24 horas con 0.3 mbar de presión
- Secado primario: -7°C por 24 horas con 0.3 mbar de presión
- Secado secundario: 5°C por 24 horas a 0.1 mbar de presión

Las muestras en las cajas de Petri se sellaron con papel Parafilm® y se mantuvieron en un espacio protegido de la oscuridad y la humedad hasta la realización de la cuantificación de fenoles.

7.5 Toma de muestras de alimento

Se siguió el protocolo recomendado por Podetti (2010), para esto se tomaron 15 submuestras de varios sectores del comedero inmediatamente luego de la distribución del alimento. Se mezcló bien todas las submuestras y se tomó una muestra final de 1,5 kg. Luego se colocó en una doble bolsa de polietileno. Se comprimió la muestra hasta sacar bien el aire y cerrar

herméticamente. Se identificaron las muestras secas y luego se mantuvieron en un lugar fresco para luego ser transportadas en una heladera hasta el laboratorio para su análisis.

7.6 Evaluación de fenoles totales en el alimento

Se utilizó la técnica desarrollada por Piluzza, G. y Bullitta, S. (2010). En primer lugar, se trataron 50 mg de cada muestra tomada a los días 35, 50, 65, 80, 95 y 110, que coinciden con los mismos días de toma de muestras de leche de los animales, el material liofilizado se mezcló con 2,5 ml de acetona/agua (7:3 v/v) y se agitó durante 60 min. Luego la mezcla se centrifugó a $1683 \times g$ durante 10 min y se utilizó el sobrenadante para la determinación. En un tubo de ensayo, se añadieron 10-40 μ l de extracto de tejido a 1 ml de agua destilada, seguidos de 0,5 ml de solución de Folin-Ciocalteu, y luego se le adiciona 2,5 ml de Na_2CO_3 . El tubo se agitó vigorosamente y luego se dejó reposar en la oscuridad. Se desarrolló una coloración azul y después de 45 min se leyó la absorbancia mediante análisis espectrofotométrico a 750 nm. El contenido de Fenoles Totales se expresó como g equivalentes de ácido gálico (GAE) kg MS.

7.7 Evaluación de fenoles totales en la leche

Para la cuantificación de fenoles totales en leche se llevó a cabo una modificación a la técnica descrita por Taga et al (1984) y reportada por Ramírez et al (2017) en donde usaban volúmenes más grandes debido a una elevada producción de leche que para el caso de ellos fue caprina y bovina. En este estudio se pesaron 3 gramos de leche de cada muestra, a los cuales se les adicionó 10 ml de una solución metanol: agua (80:20 v/v) luego esta mezcla se mantuvo en agitación por 30 minutos. Pasado el tiempo, la disolución se filtró en papel Whatman No 4 y se obtuvo la fracción sólida y orgánica. A la fracción sólida se le añadieron 10 ml de una solución acetona: agua (70:30 v/v) la cual se mantuvo en agitación por 30 minutos. La fracción obtenida de este último paso se mezcló con la fracción orgánica y se concentró en un rotaevaporador a temperatura de 35°C hasta lograr sequedad total.

El extracto obtenido se reconstituyó con 8 ml de metanol frío (4°C) y se centrifugó por 15 minutos a 4100 rpm. El sobrenadante se recuperó en un vial de color ámbar posteriormente se depositó en una celda de cuarzo y se le agregó 100 µl de reactivo de Folin- Ciocalteu, luego se realizó la lectura en espectrofotómetro a 750 nm.

La cromatografía en capa fina (TLC) es un método que nos permite demostrar la presencia de compuestos fenólicos en la leche, ya que es muy utilizado en química y bioquímica para la separación y análisis de una amplia variedad mezclas de moleculares. La TLC se pueden utilizar para separar mezclas de iones inorgánicos, moléculas orgánicas y compuestos biorgánicos tales como pigmentos, lípidos, aminoácidos, nucleótidos y azúcares, este es un método de afinidad que se utiliza para separar los compuestos de una mezcla. En la TLC, la fase estacionaria es una fina capa de material adsorbente, normalmente gel de sílice u óxido de aluminio, que recubre una superficie de placa inerte, normalmente vidrio, plástico o aluminio. Se debe depositar una pequeña cantidad de la muestra a evaluar en un extremo de la placa de TLC, que se coloca verticalmente en una cámara cerrada con un disolvente orgánico (fase móvil). La fase móvil se desplaza hacia arriba por la placa por capilaridad y los componentes de la muestra migran distancias variables en función de sus afinidades diferenciales por las fases estacionaria y móvil. Cuando el disolvente llega a la parte superior de la placa, ésta se retira de la cámara de desarrollo y se seca. Los componentes separados aparecen como puntos en la placa, y se evalúa el factor de retención (R_f) de cada componente. (SIGMAALDRICH, 2022).

7.7.1 Factor de retención de la TLC (r_f)

El factor de retención (R_f) se utiliza para medir el movimiento de los compuestos a lo largo de la placa de TLC. R_f se define como la distancia recorrida por una componente dividida por la distancia total recorrida por el disolvente. Su valor se encuentra siempre entre cero y uno.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el componente}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

En general, cuanto más fuerte se une un compuesto a la fase estacionaria adsorbente, más despacio migra hacia arriba en la placa de la TLC. Como los adsorbentes de la TLC son normalmente polares, los compuestos no polares tienden a subir más deprisa por la placa, lo que produce mayores valores de R_f , mientras que los compuestos polares tienden a moverse más despacio y tienen menores valores de R_f . (SIGMAALDRICH, 2022).

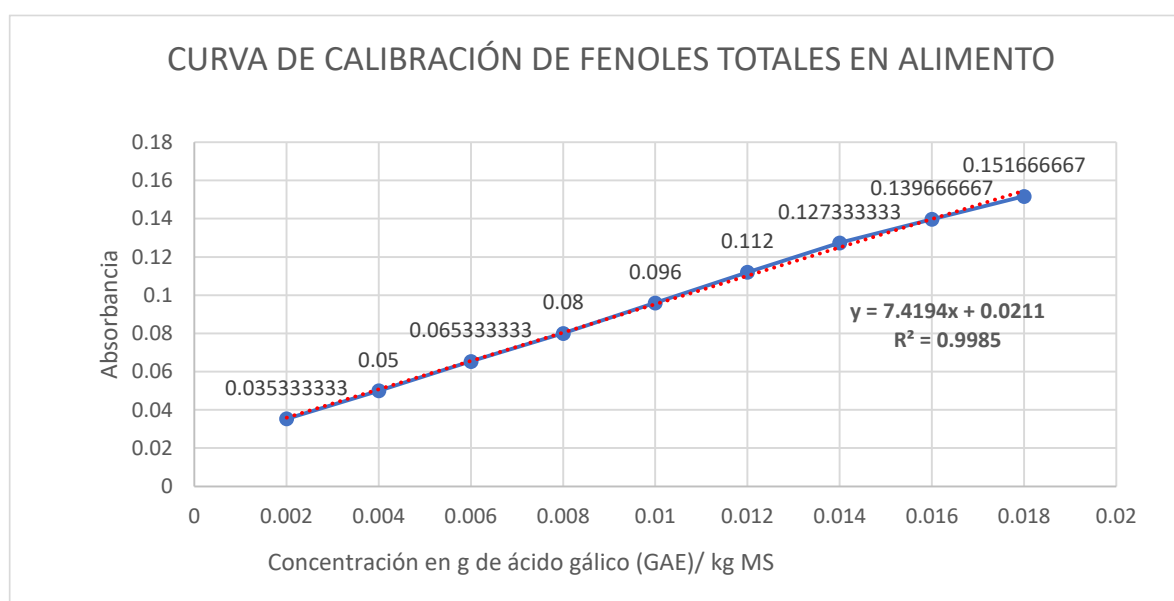
7.8 Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos se analizarán a través del programa estadístico GraphPad Prims® en donde la significación estadística se comprobó mediante análisis con una regresión lineal y las diferencias entre las medias se evaluaron mediante la prueba de t de Student y una prueba de Chi^2 . El nivel de significancia se fijó en 95% para los análisis estadísticos.

8 RESULTADOS

8.1 Curva patrón de ácido gálico en alimento

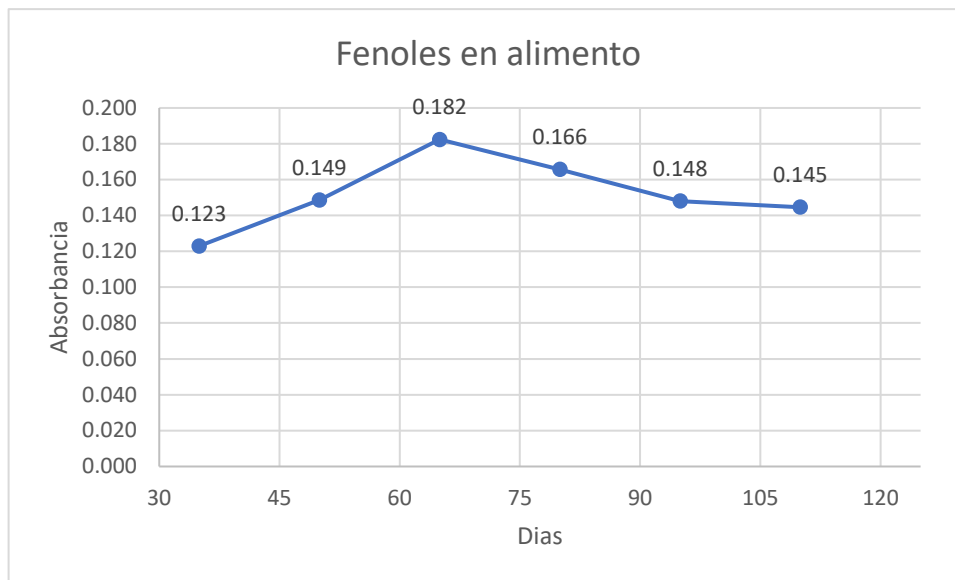
Las concentraciones usadas para obtener la curva de calibración oscilaron entre 0,0002 y 0,018 g de equivalentes de ácido gálico(GAE) / kg de MS. Se obtuvo una relación lineal entre las concentraciones de ácido gálico y la absorbancia a 760 nm, produciendo la ecuación lineal $y = 7,4194x + 0,0211$ con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,9985$. (Gráfica 2).



Gráfica 2 Curva de calibración de fenoles totales en el alimento

8.2 Resultados de los fenoles en el alimento

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos en las muestras de alimento mostraron la presencia de estos compuestos secundarios propios de las plantas y que desarrollan en situaciones de estrés biótico o abiótico. Se encontró que existían variaciones en el contenido de estos compuestos fenólicos durante el periodo de estudio, viéndose un ascenso que se ve desde el inicio de la toma de muestras en el día 35 hasta aproximadamente el día 65 y posteriormente desciende de manera constante, pero ligera hasta la última muestra en el día 110 del estudio y del periodo de lactancia de los animales, lo cual se puede relacionar con la existencia de diferentes situaciones de estrés a los cuales se expusieron los componentes de la dieta en su etapa de crecimiento hasta su cosecha y lo cual se ve reflejado en la presencia de parte de estos compuestos fenólicos en la leche de las ovejas. (Gráfica 5)



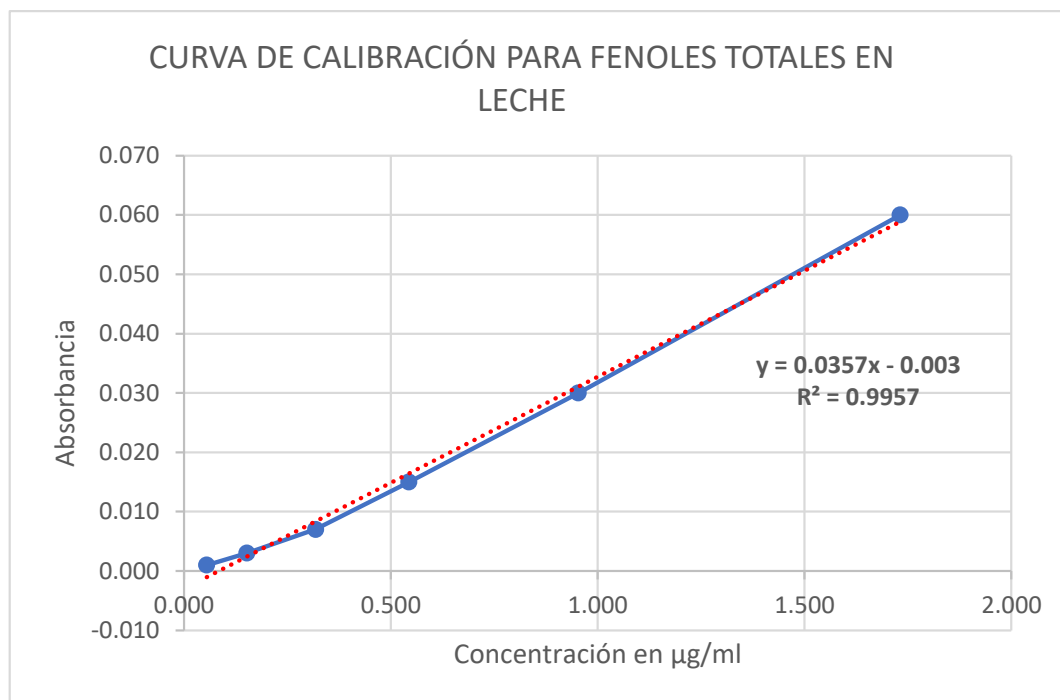
Gráfica 3 Concentración de fenoles en las muestras de alimento

Las muestras de alimento que se tomaron desde el día 35 al día 110 de la lactación de los animales del estudio mostraron variaciones en su concentración de fenoles, aunque

provenían del mismo proveedor de alimento. Al inicio del estudio los valores de fenoles en las muestras de alimento son bajos en comparación con los obtenidos en los muestreos siguientes, la prueba de χ^2 nos entregó un valor de $X^2 = 30$, para el alimento cuando se comparó con los obtenidos en la leche de ambas razas, lo que demuestra que existe una alta correlación entre el nivel de compuestos fenólicos consumidos con los niveles que los animales eliminaron en la leche durante los muestreos. Queda claro que el contenido de estos metabolitos secundarios cambia de acuerdo a muchas condiciones propias del cultivo y del ambiente, ya que como lo muestra la bibliografía revisada situaciones como el índice de pluviosidad, épocas de sequía, variaciones en los nutrientes del suelo, exposiciones a agentes patógenos y la época fenológica de cosecha generan diferencias entre el contenido de estos metabolitos secundarios en el alimento lo que se ve reflejado en la leche de los animales los cuales ayudan a determinar sabores y olores de los productos lácteos de los animales.

8.3 Curva patrón de ácido gálico en leche

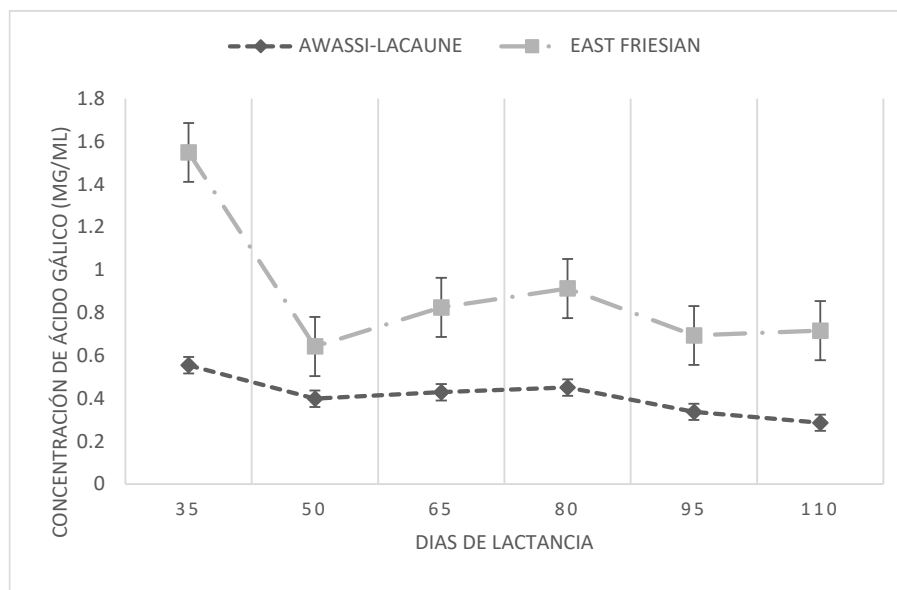
Las concentraciones usadas para obtener la curva de calibración de ácido Gálico en leche oscilaron entre 0,001 y 0,060 μg de equivalentes de ácido gálico /ml. Se obtuvo una relación lineal entre las concentraciones de ácido gálico y la absorbancia a 750 nm, produciendo la ecuación lineal $y = 0,0357x - 0,003$ con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,9957$. (Gráfica 4)



Gráfica 4 Curva de calibración de fenoles totales en leche.

8.4 Resultados de fenoles en leche de oveja

Se encontró que existe presencia de compuestos fenólicos en la dieta suministrada a los dos grupos de animales (Gráfica 3), y a través de la evaluación de las muestras de leche de las ovejas se encontró que la concentración de estos compuestos fenólicos desciende desde el parto de manera continua durante el transcurso del periodo de lactancia. En el grupo de animales de la raza east friesland se encontró un mayor contenido de compuestos fenólicos durante su primer tercio de lactancia frente a un contenido menor encontrado para el mismo primer tercio de lactancia en el grupo de animales de la cruce lacaune-awassi, luego ambos grupos presentaron un comportamiento similar teniendo una pequeña elevación que coincide con el periodo en el cual se encontró una mayor presencia de compuestos fenólicos de la dieta suministrada durante el periodo de lactancia de los animales, y es de resaltar que durante el estudio el grupo de la raza east friesland siempre mantuvo unos niveles más elevados de la presencia de compuestos fenólicos en la leche, se puede observar que hay una diferencia estadística significativa en la concentración de compuestos fenólicos en la leche entre los grupos raciales y entre los días de evaluación ($p < 0.05$). (Gráfica 5.)

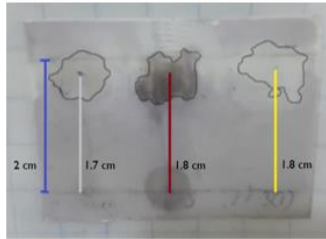


Gráfica 5 Concentración de fenoles totales en extractos metanólicos en la leche de oveja east friesland y lacaune-awassi a los días 35, 50, 65, 80, 95 y 110 días de lactancia.

8.5 Presencia de fenoles en leche en cromatografía de capa fina

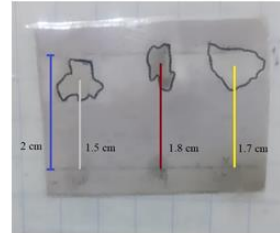
Para confirmar la presencia de compuestos fenólicos en las muestras de leche se realizó el análisis cualitativo de polifenoles por cromatografía de capa fina (TLC), en donde se utilizaron 55 placas de gel de sílice (TLC sílica gel 60 f 254, Merck) y una fase móvil compuesta por ácido fórmico/ ácido acético/ agua (1.1:1.1:2.0 v/v/v). Después de la migración y el secado, los compuestos se revelaron con Sulfato Cérico, mostrándose la presencia de los compuestos fenólicos en las muestras de leche de ambos grupos objeto de estudio, en la Figura 4 se ve la distancia recorrida por el estándar de ácido Gálico representada por la línea de color blanco, mientras que la línea de color rojo se ve la muestras de leche después de realizada la extracción de los compuestos fenólicos y la línea de color amarillo antes de que se le agregara el reactivo de Folin-Ciocalteu a la muestra, esto para confirmar la presencia de los fenoles totales en las muestras de leche durante el estudio.

Muestras: East Friesian (EF-3)



$$Rf = \frac{x}{y} \quad \frac{1.7}{2.0} = 0.85$$
$$Rx = \frac{Xa}{Xb} \quad \frac{1.7}{1.8} = 0.9$$

Muestras: Cruza Lacaune-Awassi (AW-4)



$$Rf = \frac{x}{y} \quad \frac{1.5}{2.0} = 0.75$$
$$Rx = \frac{Xa}{Xb} \quad \frac{1.5}{1.7} = 0.8$$

Figura 4 Ejemplo de presencia de compuestos fenólicos en cromatografía de capa fina con sus respectivos valores del valor de referencia no superior a 1. (Línea blanca=Estándar de ácido Gálico; Líneas roja y amarilla=muestra de leche)

9 DISCUSIÓN

La mayor cantidad de productores de leche ovina de México tienen sus animales bajo un sistema de producción estabulada, esto debido a las diferentes situaciones a las cuales se enfrenta el ovinicultor nacional en busca de sostener su producción, y como la tendencia mundial de es buscar alimentos que además de aportar nutrientes contengan beneficios para la salud de la persona que los ingieran, este nuevo consumidor informado representa un objetivo interesante para los ovinocultores interesados en producir alimentos de calidad con un valor agregado y un reconocimiento a su labor, como el que reciben los productores de alimentos con Denominación de Origen Protegida (DOP).

Los compuestos fenólicos que se sintetizan en las plantas usan distintas vías y por lo tanto también son un grupo de compuestos heterogéneo desde el punto de vista metabólico, pero son dos vías básicas las más importantes: la vía del ácido shikímico y la vía del ácido malónico. (Taiz y Zeiger,2006).

La vía del ácido shikímico es la ruta que participa en la biosíntesis de la mayor cantidad de los compuestos fenólicos de las plantas superiores. Esta ruta utiliza como sustratos a la eritrosa-4-fosfato (proveniente de la vía de las pentosas fosfato) y el ácido fosfoenolpirúvico (proveniente de la glucólisis). Obteniéndose entre los productos de esta vía a la fenilalanina, de la que se deriva la mayoría de los fenoles. Este aminoácido esencial forma parte del metabolismo primario de las plantas, pero también entra al metabolismo secundario precisamente cuando la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) la cataliza eliminando un amonio convirtiendo a la fenilalanina en ácido cinámico. (Taiz y Zeiger,2006).

Microorganismos como hongos y bacterias usan la vía del ácido malónico como fuente importante de fenoles, aunque existe en las plantas esta vía no están usada por ellas. El sustrato de esta vía es el acetyl-CoA. El cual participa con la vía del ácido shikímico en la biosíntesis de fenoles y de la lignina (Taiz y Zeiger,2006).

Las concentraciones de muchos polifenoles de las plantas pueden diferir significativamente entre los genotipos. Se han observaron variaciones en el contenido de

fenoles totales tanto dentro de individuos de la misma especie, como entre especies. Esto en todas las fases fenológicas y órganos de la planta. Por ejemplo, en la fase de floración de algunas plantas como la Silla (*Hedysarum. Coronarium*), se han encontrado diferencias de hasta un 35 % en las concentraciones de fenoles totales entre las láminas foliares de las ocho poblaciones naturales de estas plantas (Baker y Dynes,1999).

Se conoce que el contenido de polifenoles está más presente en las hojas que en los tallos de las plantas, esta variación depende de la edad de la planta y se debe principalmente a la disminución de la relación que hay entre hoja/tallo. Las condiciones ambientales también están involucradas, ya que una temperatura más alta tiene un efecto positivo en el contenido de polifenoles en las plantas. Todas las plantas superiores contienen flavonoides en sus partes aéreas y cada planta tiene una composición de flavonoides característica. (Harborne JB.,1967) Por lo tanto, algunos de los flavonoides son ubicuos mientras que otros son peculiares en las plantas (Fraisie *et al.*,2007).

Las diferentes composiciones de metabolitos secundarios dentro de una misma especie de plantas pueden estar relacionadas con las diferentes fechas y lugares de cosecha, así como con las diferentes etapas fenológicas. La etapa fenológica de cada especie es probablemente el factor fundamental para la biosíntesis de los metabolitos secundarios. Por ejemplo, algunos metabolitos secundarios como los terpenoides se forman solo en una etapa avanzada del desarrollo de la planta. (Schantz y Ek, 1971).

La composición botánica del forraje es un factor importante que puede influir en las características nutricionales y organolépticas de la leche y el queso. Se ha demostrado una relación entre la composición botánica del forraje y la fracción volátil de la leche (Bosset *et al.*, 1994; Bugaud *et al.*, 2001).

La leche es portadora de compuestos fenólicos y, por tanto, es la única fuente de compuestos fenólicos en la primera etapa de vida de la cría de los mamíferos. Por lo tanto, se debe asumir que los compuestos fenólicos de la leche tienen una alta biodisponibilidad, al igual que otros nutrientes. (Vázquez *et al.*, 2015).

No existe una leche idéntica a otra, ya que factores como las diferencias entre especies requiere que cada leche logre satisfacer sus requerimientos específicos (Barlowska, Szwajkowska, Litwinczuk, & Krol, 2011).

Con el objetivo de desarrollar y validar una nueva técnica para la extracción de Compuestos Fenólicos Totales (TPCs) de la leche, Vázquez et al, en 2015 en la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) se utilizó leche fluida de cabra para la estandarización de una nueva técnica, que luego se aplicó a la leche de otras especies como vaca, oveja y humana. Arrojando que los compuestos fenólicos totales (TPC) apuntan a una alta variabilidad entre especies y entre miembros de la misma especie. Se demostró que la leche de oveja presentó la mayor concentración de TPCs ($167,6 \pm 58,77$ mg GAE/l) en comparación con la leche de las demás especies estudiadas, mostrando una diferencia significativa ($p < 0,05$) frente a todas ellas. Lo que permite fortalecer más la importancia de nuestro estudio. Los valores para la leche de cabra fueron de ($69,03 \pm 6,23$ mg GAE/l) y no resulto ser significativamente diferente de la leche humana ($82,45 \pm 12,3$ mg GAE/l). La leche de vaca presentó los valores más bajos ($49,00 \pm 10,77$ mg GAE/l), con una diferencia significativa en comparación con la leche humana y de oveja. Estas diferencias pueden estar relacionadas con la composición química de la leche para lograr satisfacer las necesidades específicas de cada especie, además de la composición de la alimentación y con el metabolismo de los compuestos fenólicos en cada especie que se evaluó (Vázquez *et al.*, 2015).

Los resultados obtenidos muestran que hay un paso de una cantidad de polifenoles provenientes del alimento pero que existe una respuesta diferente entre los dos grupos objeto de estudio, y aunque el vigor híbrido de una cruce logra mejorar algunos índices de producción no se ha reportado su esto puede influir en la presencia de los polifenoles en la leche. Se encontró que los animales de raza pura en este caso la east friesland mostraron una presencia de polifenoles en su leche un poco mayor que los animales del grupo de la cruce de lacaune- awassi, durante su periodo de lactancia; esto se convertiría en un factor más que podría utilizar el productor como objetivo de selección de los animales de su rebaño productor de leche.

La mayor cantidad de estudios sobre la presencia de polifenoles en leche han estado enfocados a la evaluación por especie, pero no hay reportes de la evaluación de la presencia de estos compuestos fenólicos entre individuos pertenecientes a un grupo o varios grupos raciales de una misma especie. El camino se ha abierto con este estudio para seguir evaluando características genéticas de algunas razas ovinas lecheras que permita ampliar más el conocimiento sobre el metabolismo que pueden tener estos polifenoles provenientes del alimento y que tienen un destino la leche, esto con el fin de ser aprovechados en beneficio de la salud del consumidor final que aprecia los alimentos nutraceuticos.

10 CONCLUSIÓN

Este estudio demuestra que existen valores representativos de polifenoles en leche de oveja que ha pasado por procesos en los cuales se pierde el mayor porcentaje de su contenido de agua, como lo es la liofilización, demostrando que bajo un buen almacenamiento la leche de oveja liofilizada logra conservar unos niveles de compuestos fenólicos que pueden ser utilizados en beneficio de la persona que la consuman.

Durante los días de lactancia evaluados en el estudio se encontró que el periodo de mayor eliminación de fenoles totales presentes en la leche de las hembras ovinas evaluadas es el más cercano al periodo postparto.

Se encontró además que, aunque es pequeña la diferencia en la presencia de fenoles totales en la leche de oveja entre los dos grupos evaluados, estas diferencias son significativas entre la concentración de fenoles totales de los individuos de la raza pura east friesland versus la cruce de razas lacaune-awassi, aun cuando el contenido de fenoles totales en la dieta para ambos grupos durante el estudio fue el mismo.

11 BIBLIOGRAFÍA

Addis, M. Cabiddu, A. Pinna, M. Decandia, G. Piredda, G. Pirisi, A. Molle. Milk and cheese fatty acid composition in sheep fed Mediterranean forages with reference to conjugated linoleic acid cis-9, trans-11 *Journal of Dairy Science*, 88 (2005), pp. 3443-3454.

Addis, M. Pinna, G. Molle, G. Fiori, M. Spada, S. Decandia, M. Scintu, M.F. Piredda, G. Pirisi, A. The inclusion of a daisy plant (*Chrysanthemum coronarium*) in dairy sheep diet: Effect on the volatile fraction of milk and cheese, *Livestock Science*, Volume 101, Issues 1–3, 2006, Pages 68–80, ISSN 1871-1413, <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.09.009>.

Aerts, R.J. Barry, T.N. McNabb, W.C. Polyphenols and agriculture, beneficial effects of proanthocyanidins in forages *Agric. Ecosyst. Environ.*, 75 (1999), pp. 1-12

Albera. E, Kankofer. M, Antioxidants in colostrum and milk of sows and cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 44 (4) (2009), pp. 606-611.

Alichanidis. E, Polychroniadou. A Special feature of dairy products from Ewe and goat milk from the physical-chemical and organoleptic point of view. *Production and Utilization of Ewe and Goat Milk, 1995, Creet. Proceedings... Creet: IDF (1995)*, pp. 21-43.

Ammar, H. López, S. Kamoun, M. Bodas, R. Giraldez, F.J. González, J.S. Feeding quebracho tannins to sheep enhances rumen fermentative activity to degrade browse shrubs *Anim. Feed Sci. Technol.*, 149 (2009), pp. 1-15.

Ammar, H. López, S. Salem, A.Z.M. Bodas, R. González, J.S. Effect of saliva from sheep that have ingested quebracho tannins on the in vitro rumen fermentation activity to digest tannin-containing shrubs, *Animal Feed Science and Technology*, Volume 163, Issues 2–4, 2011, Pages 77-83, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.10.007>.

Angeles-Hernandez, Juan C. Pollott, Geoff. Albarran-Portillo, Benito. Ramírez-Perez, Aurora H. Lizarazo-Chaparro, Augusto. Castelan Ortega, Octavio A. Gonzalez Ronquillo, Manuel. The application of a mechanistic model to analyze the factors that affect the lactation curve parameters of dairy sheep in Mexico, *Small Ruminant Research*, Volume 164, 2018, Pages 58-63, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.05.003>.

Austin P J, Suchar L A, Robbins C T, Hagerman A E. Tannin-binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *J Chem Ecol.* 1989 Apr;15(4):1335-47. doi: 10.1007/BF01014834. PMID: 24272016.

Balasundram N, Sundram K and Samman S, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 99: 191– 203 (2006).

Balthazar, CF. Pimentel, TC. Ferrão, LL. Almada, CN. Santillo, A. Albenzio, M. Mollakhalili, N. Mortazavian, AM. Nascimento, JS. Silva, MC. Freitas, MQ. Sant´Ana, AS. Granato, D. Cruz, AG. Leche de Oveja: Características Fisicoquímicas y Relevancia para el Desarrollo de Alimentos Funcionales. *compr. Rev. Food Sci F.*, 16 (2017), págs. 247 - 262, 10.1111/1541-4337.12250.

Barillet. F. Genetics in milk production L. Piper, A. Ruwinsky (Eds.), *The Genetics of Sheep*, Cab International, London (1997), pp. 539-564.

Barillet. F, Marie. C, Jacquin. M, Ladrifoul. G, Astruc. J.M. The French Lacaune dairy sheep: use in France and abroad in the last 40 years *Livest. Prod. Sci.*, 71 (2001), pp. 17-29.

Barletta, R. Gandra, J. Bettero, Araújo, V. Del Valle, T. de Almeida, G. Ferreira de Jesus, E. Mingoti, R. Benevento, B. Júnior, J. Rennó, F. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: Oilseed provides ruminal protection for fatty acids, *Animal Feed Science and Technology*, Volume 219, 2016, Pages 111-121, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.011>.

- Barlowska, J. Sz wajkowska, M. Litwinczuk, Z. Krol, J. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (2011), pp. 291-302
- Barry, T.N. McNabb, W.C. The implications of condensed tannins on the nutritional value of temperate forages fed to ruminants. *Br. J. Nutr.*, 81 (1999), pp. 263-272.
- Bencini, R. The sheep as a dairy animal: lactation, production of milk and its suitability for cheese making, The University of Western Australia (1993). PhD thesis.
- Bencini, R. Pulina, G. The quality of sheep milk. A review, *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 37 (1997), pp. 485-504.
- Bencini, R. Stanislao Atzori, A. Nudda, A. Battacone, G. Pulina, G. Cap 13 - Improving the quality and safety of sheep milk, Editor(s): Mansel W. Griffiths, In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Improving the Safety and Quality of Milk*, Woodhead Publishing, 2010, Pages 347-401, ISBN 9781845698065, <https://doi.org/10.1533/9781845699437.3.347>.
- Berger, Y., D, Thomas. 1997. Early experimental results for growth of East Friesian crossbreed lambs and reproduction and milk production of East Friesian crossbreed ewes. *Proceedings of the 3rd Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Madison, Wisconsin, USA. Pp. 17-26.
- Besle, J.M. Cornu, A. Jouany, J.P. Roles of structural phenylpropanoids in forage cell wall digestion. *J. Sci. Food Agric.*, 64 (1994), pp. 171-190
- Besle, J.M. Jouany, J.P. Cornu, A. Transformations of structural phenylpropanoids during cell wall digestion. *FEMS Microbiol. Rev.*, 16 (1995), pp. 33-52.
- Bravo, 1998, Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance *Nutr. Rev.*, 56 (1998), pp. 317-333.
- Bosset, J.O. Bütikofer, U. Gauch, R. Sieber, R. Occurrence of terpenes and aliphatic hydrocarbons in Swiss Gruyere and Etivaz alpine cheese using dynamic headspace GC-

MS analysis of their volatile flavour compounds Schweizerische Milchwissenschaftliche Forschung, 23 (1994), pp. 37-42.

Boudet, A. Evolution and current status of research in phenolic compounds. Phytochemistry, 68 (2007), pp. 2722-2735, 10.1016/j.phytochem.2007.06.012.

Boyazoglu, J. Morand-Fehr, P. Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review, Small Ruminant Research, 4,0 (2001), pp. 1-11.

Bugaud, C. Buchin, S. Hauwuy, A. Coulon, J.B. Relationships between flavour and chemical composition of Abondance cheese derived from different types of pastures Lait, 81 (2001), pp. 757-773.

Bysokogorskii. V.E., Veselov. P.V., Estimation of antioxidizing properties of goat and cow milk, Vopr Pitan, 79 (1) (2010), pp. 56-58.

Caldwell, G. The Small-Scale Dairy: The Complete Guide to Milk Production for the Home and Market. Chelsea Green Publishing, UK (2014).

Caroprese, M. Ciliberti, M.G. Albenzio, M. Marino, R. Santillo, A. Sevi, A. Role of antioxidant molecules in milk of sheep, Small Ruminant Research, Volume 180, 2019, Pages 79-85, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.07.011>.

Castro, M.L. Polifenoles: compuestos bioactivos con efectos benéficos en la prevención de diabetes tipo 2. Revista digital RED CieN Vol. 1, número 3, enero-junio, 2019.

Casu, S. Colombino, M. Mulas, G. Sechi, S. Barillet, F. Carta, A. Detection on Oar7 of Qtl affecting fat and protein yields in dairy sheep. Italian Journal of Animal Science, 8 (suppl. 2) (2009), pp. 45-47

Celi. P, 2010, The role of oxidative stress in small ruminants' health and production, R. Bras. Zootec., 39 (2010), pp. 348-363.

Celino et al., 2011, Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase, PLoS One, 6 (2011), Article e16938.

Chinnadurai et al., 2013, High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats *Lipids Health Dis.*, 12 (2013), p. 121.

Craft, B.D. Kerrihard, A.L. Amarowicz, R. Pegg, R.B. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 11 (2012), pp. 148-173.

Correddu F, Lunesu MF, Buffa G, Atzori AS, Nudda A, Battacone G, Pulina G. Can Agro-Industrial By-Products Rich in Polyphenols be Advantageously Used in the Feeding and Nutrition of Dairy Small Ruminants? *Animals*. 2020; 10(1):131. <https://doi.org/10.3390/ani10010131>

Cuéllar Ordaz, J. Tórtora Pérez, J. Trejo González, A. Román Reyes, R. La producción ovina mexicana. Particularidades y complejidades Editorial Ariadna, México (2012).

Dennett. C, Key ingredients of the Mediterranean diet: The nutritious sum of delicious parts, *Today's Dietitian*, 18 (2016), pp. 28-33.

Diaz-Sanchez, S. Souza, D, D. Biswas, D. Hanning, I. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poult. Sci.*, 94 (2015), pp. 1419-1430.

FAO (Food and Agriculture Organization). Gateway to dairy production and products. *Producción. Dairy animals* (2021). <https://www.fao.org/dairy-production-products/production/dairy-animals/en/>

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Statistics database (2018). <http://www.fao.org.pbidi.unam.mx:8080/faostat/en/#data>, Accessed 2nd Feb 2018

Fardet. A Rock. E. In vitro and in vivo antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks, and cheeses: a narrative review of evidence., *Nutr. Res. Rev.*, 31 (2017), pp. 52-70.

Fahmy. M.H, *Sheep Breeds*, Reference Module in Food Science, Elsevier, 2020, ISBN 9780081005965, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00177-X>.

Fernando, S. C., Purvis, H. T., 2nd, Najjar, F. Z., Sukharnikov, L. O., Krehbiel, C. R., Nagaraja, T. G., Roe, B. A., & Desilva, U. (2010). Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied and environmental microbiology*, 76(22), 7482–7490. <https://doi.org/10.1128/AEM.00388-10>

Flamant, J.C. Barillet, F. Adaptation of the principles of selection for milk production to milking ewes: a review. *Livestock Production Science*, 9 (1982), pp. 549-559.

Flamant, J.C. Morand-Fehr, P.C. Milk production in sheep and goats. *World Animal Science*, C.1 I.E. Coop (Ed.), *Sheep and Goat Production*, Elsevier, Amsterdam (1982).15, 275–295.

Fraisse, D. Carnat, A. Viala, D. Pradel, P. Besle, J.M. Coulon, J.B. Felgines, C. Lamaison, J.L. Polyphenolic composition of a permanent pasture: Variations related to the period of harvesting. *J. Sci. Food Agric.*, 87 (2007), pp. 2427-2435

Frutos, P. & Hervás, Gonzalo & Giráldez, F. & Mantecón, Angel. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2. 10.5424/sjar/2004022-73.

Frutos, P. Hervás, G. Ramos, G. Giráldez, F.J. Mantecón, A.R. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value, *Animal Feed Science and Technology*, Volume 95, Issues 3–4, 2002, Pages 215-226, ISSN 0377-8401, [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00323-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00323-6).

Giambra. I. Brandt. H, Erhardt. G, Milk protein variants are highly associated with milk performance traits in East Friesian dairy and Lacaune sheep, *Small Rumin. Res.*, 121 (2-3) (2014), pp. 382-394

Gimeno, E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Revista Offarm*. Vol. 23. Núm. 6. (Junio 2004). páginas 80-84.

Grilli et al., 2016, Analysis of the rumen bacterial diversity of goats during shifts from forage to concentrate diet, *Anaerobe*, 42 (2016), pp. 17-26.

Gómez-Cortés, P. Amigo, L. Sheep Milk, Editor(s): Paul L.H. McSweeney, John P. McNamara, Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition), Academic Press, 2022, Pages 676-687.

Guneser. O, Karagul. Y.Y, Effect of ultraviolet light on water- and fat-soluble vitamins in cow and goat milk, Journal of Dairy Science, 95 (11) (2012), pp. 6230-6241.

Gutteridge, J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic. Res. Com. 19(3): 141-158.

Hadaya, O., Landau, S.Y., Glasser, T.A., Muklada, H., Dvash, L., Mesilati-Stahy, R., & Argov-Argaman, N. Milk composition in Damascus, Mamber and F1 Alpine crossbred goats under grazing or confinement management. Small Ruminant Research, 153, 31-40. (2017).

Hadaya, O. Landau, S.Y. Glasser, T. Muklada, H. Deutch, T. Shemesh, M. Argov-Argaman, N. Producing pasture-like milk from goats in confinement. Livestock Science, 236 (2020).

Haenlein, G.F.W. Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research, J. Dairy Sci., 84 (2001), pp. 2097-2115.

Halliwell, B.; Gutteridge J.M.C. and Cross C.E. (1992). Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J. Lab. Clin. Med. 119(6): 598- 620.

Haminiuk, C. W. I. Maciel, G. M. Plata-Oviedo, M. S. V. and R. M. Peralta, "Phenolic compounds in fruits - an overview," Int. J. Food Sci. Technol., vol. 47, no. 10, pp. 2023–2044, 2012.

Harborne, J.B. The Handbook of Natural Flavonoids. Wiley & Sons, New York, NY (1999)

Haslam. E, Lilley. T.H. Natural astringency in foodstuffs—A molecular interpretation CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 27 (1988), pp. 1-40.

INFOAGRO.COM. (s.f). Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para superar situaciones de estrés abiótico. https://infoagro.com/documentos/los_compuestos_fenolicos_como_antioxidantes_naturales_superar_situaciones_estres_abiotico.asp

Julkunen-Tiito, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 33 No.2, 1985, 213-217.

Kapadiya. D.B. Prajapati. D.B, Jain. A.K. Mehta. B.M, Darji. V.B. Aparnathi. K.D. Comparison of Surti goat milk with cow and buffalo milk for gross composition, nitrogen distribution, and selected minerals content *Vet. World*, 9 (7) (2016), pp. 710-716.

Kaffarnik, S. Kayademir, Y. Heid, C. Vetter, W. Concentrations of volatile 4-Alkyl-Branched FAs in sheep and goat milk and dairy products *J. Food Sci.*, 79 (2014), pp. C2209-C2214, 10.1111/1750-3841.12673

Kelly G.E.a, Nelson C.a, Waring M.A.a, Joannou G.E.b, Reeder A.Y.b, Metabolites of dietary (soya) isoflavones in human urine, *Clinica Chimica Acta* Volume 223, Issue 1-2, Pages 9 - 2231 December 1993.

Leparmarai P. T, Sinz S. Kunz C. Liesegang A. Ortmann S. Kreuzer M. Marquardt S., Transfer of total phenols from a grape seed-supplemented diet to dairy sheep and goat milk, and effects on performance and milk quality. *Journal of Animal Science Open Access* Volume 97, Issue 4, Pages 1840 - 18513 April 2019.

Lindsay, D.R. J. Skerritt, D.R. Improved breeding in dairy goats and milking sheep. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation (2003) Rirdc Publ. No. 02/150.

López-Lluch et al., 2006, La restricción calórica induce la biogénesis mitocondrial y la eficiencia bioenergética. *PNAS*, 103 (de 2006), pp. 1768 – 1773.

Mardalena, L. Warly, E. Nurdin, E. Rusmana, W. S. and Farizal, N. “Milk quality of dairy goat by giving feed supplements as antioxidant source,” *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, vol. 36, pp. 205–211, 2011.

Mariaca, Raúl G. Berger, Thomas F. H. Gauch, Roland. Imhof, Miroslava I. Bernard Jeangros, and Jacques O. Bosset. Occurrence of Volatile Mono and Sesquiterpenoids in Highland and Lowland Plant Species as Possible Precursors for Flavor Compounds in Milk and Dairy Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997. 45 (11), 4423-4434. DOI: 10.1021/jf970216t

Maulik, N., Mcfadden, D., Otan, N Thirunavukkarasu M., Parinandi N.L. (2013). Antioxidants in longevity and medicine. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2013: Article ID 820679. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/820679>.

Mingruo Guo, Chapter 1 - Introduction, Editor(s): Mingruo Guo, In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Functional Foods*, Woodhead Publishing, 2009, Pages 1-8, ISBN 9781845695927, <https://doi.org/10.1533/9781845696078.3>.

Mohapatra, Arpita. Kumar Shinde, Raghvendar Singh. Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Ruminant Research*, Volume 181, 2019, Pages 6-11, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>.

Neveu, V., Perez-Jimenez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut L, Mennen L, Knox C, Eisner R, Cruz J, Wishart D, & Scalbert A. (2010). Phenol-Explorer: An Online Comprehensive Database on Polyphenol Contents in Foods. *Data base* 2010.

Notimex. Producción del sector ovino creció 70%. (2018). *El Economista*. Retrieved from <https://www.eleconomista.com.mx/empresas/Produccion-del-sector-ovino-crecio-70-20181120-0118.html>.

Nudda, A. Atzori, A S. Correddu, F. Battacone, G. Lunesu, M F. Cannas, A. Pulina, G. Effects of nutrition on main components of sheep milk, *Small Ruminant Research*,

Volume 184, 2020, 106015, ISSN 0921-4488,
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.11.001>.

Oh et al., 2017, Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on immune responses in dairy cows intravenously challenged with lipopolysaccharide, *J. Dairy Sci.*, 100 (2017), pp. 1902-191328109601.

Patra and Saxena, 2011, Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A Review. *European Journal of Medical Chemistry* 97: 55-74.

Pérez-Flores, JG.; Jaimez-Ordaz, J.; Contreras-López, E.; (2017). “¿Qué es un alimento funcional?” *Boletín Científico-PÄDI, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Volumen 4-No. 8-ENERO 2017. Recuperado de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n8/titulo.html>*

Peterson, G.L. Review of the Folin protein. quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall, *Analytical biochemistry*, Vol.100 No.2, 1979, 201-220.

Piluzza, G. and Bullitta, S. (2010), The dynamics of phenolic concentration in some pasture species and implications for animal husbandry. *J. Sci. Food Agric.*, 90: 1452-1459. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3963>

Pizzoferrato. L, Manzi. P, Marconi. S, Fedele. V, Claps. S, Rubino. R, Degree of antioxidant protection: A parameter to trace the origin and quality of goat's milk and cheese *Journal of Dairy Science*, 90 (10) (2007), pp. 4569-4574.

PROFECO, Revista del consumidor, Octubre de 2013. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/100444/RC440_Laboratorio_Profeco_Alimentos_Adicionado.pdf

Podetti, MV. Protocolo y toma de muestra para analizar ingredientes de una dieta. Sitio Argentino de Producción Animal (2010). https://produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/25-Protocolo_muestra.pdf

Pulina. G., Milán. M.J. Lavín. M.P, Theodoridis. A, Morin. E, Capote. J, Thomas. D.L, Francesconi. A.H.D, Caja, G. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors, *Journal of Dairy Science*, Volume 101, Issue 8, 2018, Pages 6715-6729, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14015>.

Pulina, G. Nudda, A. Battacone, G. Cannas, A. Effects of the nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds and undesirable substances in sheep milk *Animal Feed Science*, 131 (2006), pp. 255-291.

Quiñones, M., Miguel, M., & Alexandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. Recuperado en 30 de mayo de 2022, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es

Rodríguez, N. G. (2009). Estudio del contenido en antioxidantes (coenzima Q, tocoferol, retinol, ácido ascórbico y ácido úrico) minerales y perfil lipídico en leche humana en distintas etapas de su maduración: diferencias entre leche de madres con parto a término y madres con parto prematuro. 29.11.14, pp. 1–218.

Rothwell. J.A, Medina-Remón. A, Pérez-Jiménez. J., Neveu. V, Knaze. V, Slimani. N., Scalbert. A, Effects of food processing on polyphenol contents: A systematic analysis using Phenol-Explorer data *Molecular Nutrition and Food Research*, 00 (2014), pp. 1-11.

Roy, N.C. Fraser, K. Lane, G.A. Sinclair, B.R. McNabb. W.C. Polyethylene glycol increases intestinal absorption and hepatic uptake of indole and skatole in sheep fed sulla. *Animal Feed Science*, 13 (2004a), pp. 339-342.

Roy, N.C. Fraser, K. Lane, G.A. Reynolds, G.W. Deighton, M.H. Peters, J.S. Sinclair, B.R. Death, A.F. McNabb, W.C. The effects of condensed tannins on the net flux of

skatole and indole across the mammary gland and their secretion in milk of lactating ewe fed fresh sulla (*Hedysarum coronarium*) *Animal Production*, 24 (2004b), pp. 189-192.

Scheline, R.R. Metabolism of oxygen heterocyclic compounds, flavonoids (Ed.), *CRC Handbook of Mammalian Metabolism of Plant Compounds*, CRC Press, Boca Raton, FL (1991), pp. 267-290

Sies, H., 2015, Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine, *Redox Biol.*, 4 (2015), pp. 180-183.

Sies et al., 2005, Nutritional, dietary and post-prandial oxidative stress, *J. Nutr.*, 135 (2005), pp. 969-972.

SIGMAALDRICH. Thin layer Chromatography. (2022).
<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/applications/analytical-chemistry/thin-layer-chromatography#TLC-Process-and-Principles>

Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hraš AR, Simonič M and Knez Ž, Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem* 89: 191– 198 (2005).

Silanikove, N. Gilboa, N. Nir, I. Perevolotsky, v Nitsan. Z. Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Quercus calliprinos*, *Pistacia lentiscus* and *Ceratonia siliqua*) by goats *J. Agric. Food Chem.*, 44 (1996), pp. 199-205.

Singleton, V.L. Naturally occurring food toxicants: Phenolic substances of plant origin common in foods, *Advances in Food Research*, 27 (1981), pp. 149-242

Szczepanka et al., 2003, Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle, *Fertil. Steril.*, 79 (2003), pp. 1288-1293.

Taiz, L. Zeiger, E. "Secondary Metabolites and Plant Defense". In *Plant Physiology*, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 2006. Cap 13.

Toral et al., 2012, Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae, *J. Dairy Sci.*, 95 (2012), pp. 794-806.

Vasta, V., and G. Luciano. 2011. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Rumin. Res.* 101:150– 159.doi: 10.1016/j.smallrumres.2011.09.035.

Vasta, V. Daghighi, M. Cappucci, A. Buccioni, A. Serra, A. Viti, C. Mele, M. 2019. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *Journal of dairy science*, 102 5, 3781-3804. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>.

Vázquez. V, Villa Rojas. M. G, Álvarez R.C, Chávez-Servín. J.L, García-Gasca. T, A. Ferriz Martínez R.A, García O.P, Rosado J.L, López-Sabater C, Castellote A.I, Andrade Montemayor H.M, de la Torre Carbot. K. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method, *Food Chemistry*, Volume 176, 2015, Pages 480-486.

Vorbach, C. Capecchi, MR. Penninger, JM. Evolution of the mammary gland from the innate immune system? *BioEssays*, 28 (6) (2006), págs. 606 – 616.

Ward, R. J., Travers, M. T., Vernon, R. G., Salter, A. M., Buttery, P. J., & Barber, M. C. (1997). 145. The ovine stearyl-CoA desaturase gene: Cloning and determination of gene number within the ovine genome. *Biochemical Society Transactions*, 25 (1997), p. S673.

Zare. K., Movafeghi. A., Mohammadi. S.A., Asnaashari. S., Nazemiyeh.H., New phenolics from *Linum mucronatum* subsp. *Orientalis* *Bioimpacts*, 4 (3) (2014), pp. 117-122.