

**EFFECTO DE ADITIVOS ALIMENTICIOS PARA POLLO DE ENGORDE A BASE
DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides* SOBRE LAS EMISIONES DE
AMONÍACO EN GALPONES AVÍCOLAS**

YULIANA MARCELA MEDINA SANDOVAL

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUIMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
MAESTRIA EN INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2016

**EFFECTO DE ADITIVOS ALIMENTICIOS PARA POLLO DE ENGORDE A BASE
DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides* SOBRE LAS EMISIONES DE
AMONÍACO EN GALPONES AVÍCOLAS**

YULIANA MARCELA MEDINA SANDOVAL

**Proyecto de grado para optar al título de
Magister en Ingeniería Ambiental**

Director:

VIVIANA SANCHEZ TORRES

Ph.D. en Ingeniería Química

Co-director:

ALVARO JOSE URIBE SERRANO

Médico Veterinario y Zootecnista

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUIMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
MAESTRIA EN INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2016

AGRADECIMIENTOS

A Dios quien fue, es y será mi guía constante, al equipo de Promitec Santander S.A.S por su colaboración y confianza al permitirme realizar mi trabajo de grado como uno de los desarrollos del área de I+D+i de la organización, a la profesora Viviana Sánchez Torres por su paciencia, apoyo y enseñanzas. A mis papas y mis hermanas por su incondicional amor, esfuerzo, sacrificio y por creer en mis capacidades. A Diego por su amor, apoyo y motivación. A toda mi familia y amigos que hicieron posible alcanzar este nuevo logro tan importante en mi vida profesional.

“La posibilidad de realizar un sueño es lo que hace que la vida sea interesante”....Paulo Coelho

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. ESTADO DEL ARTE	18
1.1 PERSPECTIVA INTERNACIONAL	18
1.2 PERSPECTIVA NACIONAL	19
1.3 PRODUCTOS EXISTENTES EN EL MERCADO PARA MITIGACIÓN DE OLORES OFENSIVOS EN EL SECTOR PECUARIO	20
1.4 COMUNIDAD BACTERIANA PRESENTE EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LAS AVES	22
1.5 ACEITES ESENCIALES Y SUS PROPIEDADES	25
1.6 ACEITE ESENCIAL DE <i>Lippia origanoides</i>	26
1.6.1 Aceite esencial como modulador de la función del tracto gastrointestinal de pollos de engorde	28
1.6.2 Aceite esencial como regulador de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos de engorde	28
1.7 IMPACTO AMBIENTAL DEL AMONIACO	29
2. OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GENERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. METODOLOGÍA	32
3.1 POBLACIÓN Y DISEÑO	32
3.2 SUMINISTRO DEL ALIMENTO CON ADITIVOS	32
3.3 RECOLECCIÓN DE HECES PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	33

3.4 MEDICIÓN DE AMONIACO (NH ₃)	33
3.5 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS	34
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1 RECUENTOS MICROBIOLÓGICOS	36
4.2 PRODUCCIÓN DE AMONIACO	42
4.3 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS	45
5. CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS	49
BIBLIOGRAFIA	54
ANEXOS	56

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Niveles máximos permisibles de amoníaco en diferentes instalaciones avícolas durante 15 minutos de exposición.	19
Tabla 2. Aditivos utilizados para disminuir los olores ofensivos para adicionar a la cama de las aves.	20
Tabla 3. Aditivos utilizados para disminuir los olores ofensivos para adicionar en el alimento de las aves.	21
Tabla 4. Composición del aceite esencial de <i>Lippia origanoides</i> quimiotipo timol .	27
Tabla 5. Resultados zootécnicos al cierre del lote	45

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Tracto gastrointestinal de un pollo	23
Figura 2. Géneros bacterianos y su influencia sobre el ave	24
Figura 3. Detector de amoniac GC210, midiendo niveles en los galpones	34
Figura 4. Recuentos microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> en las heces de las aves	37
Figura 5. Recuentos microbiológicos de <i>Clostridium sp.</i> en las heces de las aves	38
Figura 6. Recuentos microbiológicos de <i>Lactobacillus sp.</i> en las heces de las aves	39
Figura 7. Estructura de la pared de las bacterias Gram positivas y Gram negativas	40
Figura 8. Valores de pH a lo largo del TGI de los pollos	41
Figura 9. Promedio de los niveles de producción de amoniac en los diferentes tratamientos a lo largo del estudio	43
Figura 10. Niveles de temperatura y humedad presentados en la granja durante las semanas de medición de amoniac	44

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Diseño de corrales.....	56
Anexo B. Composición de los aditivos experimentales.....	57
Anexo C. Protocolo toma de muestras de heces	58
Anexo D. Protocolo de medición de gas	59
Anexo E. Análisis con la prueba de Tukey para los datos microbiológicos de la semana 3, 4, 5 y 6	61
Anexo F. Análisis con la prueba de Tukey para los datos de producción de amoniacó	62
Anexo G. Resultados zootécnicos del estudio	63
Anexo H. Análisis de los datos con la prueba de Tukey para los resultados zootécnicos de conversión.....	65

RESUMEN

TITULO: EFECTO DE ADITIVOS ALIMENTICIOS PARA POLLO DE ENGORDE A BASE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides* SOBRE LAS EMISIONES DE AMONIACO EN GALPONES AVICOLAS*

AUTOR: YULIANA MARCELA MEDINA SANDOVAL**

PALABRAS CLAVES: ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides* (AEL), ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO (APC), AMONIACO, ADITIVO NATURAL, AVICULTURA.

DESCRIPCIÓN:

Las producciones pecuarias intensivas generan desechos provenientes de las heces, estos son atacados por bacterias descomponedoras que liberan al ambiente compuestos volátiles causantes de los gases efecto invernadero como el amoníaco. Los APC han mejorado de forma eficiente los parámetros zootécnicos de los pollos de engorde, su prohibición tiene consecuencias evidentes en cuanto a las deficientes conversiones en los lotes de pollos y mayores emisiones ambientales. Por esto se recomienda usar aditivos naturales como los AE. El objetivo del trabajo fue determinar como la adición de aditivos alimenticios para pollo de engorde a base del AEL influye en las emisiones de amoníaco y en la comunidad bacteriana presente en las heces. Se realizó un ensayo con 39.512 pollos, divididos en tres grupos: tratamiento A (AEL+MDX+HMS), tratamiento B (AEL+MDX) y control (dieta comercial con APC), cada grupo recibió el tratamiento correspondiente en el alimento durante 42 días. Semanalmente se realizaron recuentos microbiológicos (*Escherichia coli*, *Clostridium sp.*, y *Lactobacillus sp.*) en las heces, se midió la concentración de amoníaco en cada corral y se realizó seguimiento de parámetros zootécnicos (peso, consumo y conversión). Se encontró que la adición de AEL en el alimento de pollo de engorde aumenta los recuentos de la bacteria probiótica *Lactobacillus sp.* en un 96% y disminuye los de la bacteria patógena y formadora de amoníaco *Escherichia coli* en un 99% con respecto al control; los niveles de amoníaco que se formaron en los corrales de las aves que consumieron AEL fueron 32,2% menores comparados con el control. Se concluye que usar un aditivo natural con AEL resulta ser una potencial alternativa como remplazo para los APC, manteniendo en equilibrio benéfico la microbiota intestinal permitiendo que disminuya la formación de amoníaco en los galpones, y adicionalmente los parámetros productivos de las aves no se ven afectados negativamente.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ingenierías fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería química. Maestría en Ingeniería Ambiental. Director: Viviana Sanchez Torres. Codirector: Alvaro Jose Uribe Serrano

SUMMARY

TITLE: EFFECT OF ADDITIVES FOOD FOR BROILER WITH *Lippia organoides* ESSENTIAL OIL ON EMISSIONS OF AMMONIA IN POULTRY SHEDS*.

AUTHOR: YULIANA MARCELA MEDINA SANDOVAL**

KEYWORDS: *Lippia organoides* ESSENTIAL OIL (EO), GROWTH PROMOTING ANTIBIOTICS (GPA), AMMONIA, NATURAL ADDITIVE, POULTRY FARMING.

DESCRIPTION: Intensive poultry production generates waste from feces, which are attacked by decomposing bacteria that release to the environment volatile compounds that cause greenhouse gases such as ammonia. The GPA have efficiently improved the zootechnical parameters of broiler chickens; their prohibition has evident consequences in terms of poor conversion in chicken lots and higher environmental emissions. For this it is recommended to use natural additives such as (EO). The objective of this work was to determine how the addition of feed additives for broilers based on (EO) influences the ammonia emissions and the bacterial community present in the feces. An assay was performed with 39,512 chickens, divided into three groups: treatment A (EO + MDX + HMS), treatment B (EO + MDX) and control (commercial diet with GPA, each group received the corresponding treatment in the food during 42 days. Microbiological counts were performed weekly (*Escherichia coli*, *Clostridium sp.*, *Lactobacillus sp.*) in the feces. Subsequently, the ammonia concentration was measured in each shed and the zootechnical parameters (weight, consumption and conversion) were monitored. It was found that the addition of (EO) in broiler food, increases the counts of the probiotic bacterium (*Lactobacillus sp.*) in a 96% and decreases those of the bacterium and ammonia-forming (*Escherichia coli*) in a 99% with respect to the control; ammonia levels formed in the corrals of the birds that consumed (EO) were 32.2% smaller compared to the control. It is concluded that using a natural additive with (EO) turns out to be a potential alternative as a replacement for the GPA, maintaining the beneficial balance of the intestinal microbiota allowing the formation of ammonia to decrease in poultry sheds. In addition the productive parameters of the birds are not affected negatively.

* Project of grade

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of chemical engineering. Master in Environmental Engineering. Director: Viviana Sanchez Torres. Codirector: Alvaro Jose Uribe Serrano

INTRODUCCIÓN

La avicultura ha sido una de las actividades más dinámicas del sector pecuario de Colombia, pues ha mostrado un continuo crecimiento en los últimos treinta años. Según el reporte presentado en octubre de 2015 por FENAVI y a pesar de la fuerte alza del dólar y la devaluación del peso, que han impactado la economía del país, la producción de carne de pollo y huevo, productos clave en la canasta familiar de los colombianos, tuvo entre enero y septiembre de ese año un crecimiento del 5% en relación con el mismo periodo del año anterior (1).

En lo concerniente a la producción de pollo de engorde, en Santander se encuentran industrias con elevada productividad y grandes volúmenes diarios, con producciones diarias superiores a las 50.000 aves, mientras que la producción de huevo es de 23,90% con respecto a todo el país. Así mismo, los productos avícolas santandereanos tienen alta demanda en regiones de la Zona Centro (Bogotá, Cundinamarca, Huila, Boyacá, Tolima y Meta), de igual manera, la industria avícola del departamento, genera aproximadamente 40.800 empleos directos y 78.000 indirectos. Este gremio agrupa de manera formal a un total de 60 empresas, sin desconocer la existencia de pequeños avicultores, destacándose por su magnitud e importancia, dos empresas pioneras en la región: Incubadora de Santander S.A. y Avidesa McPollo (2).

Gracias al avance tecnológico y el buen manejo nutricional, los ciclos de producción avícola se acortaron. En los años cincuenta un pollo tardaba cinco meses para alcanzar 2 kg de peso y era necesario 5 kg de alimento; hoy un pollo tarda alrededor de un mes y medio en crecer hasta alcanzar el peso indicado para su sacrificio y tiene un consumo a voluntad de 4 kg de alimento. Las producciones pecuarias intensivas producen desechos provenientes de las heces, las cuales

son atacadas por bacterias descomponedoras que liberan al ambiente compuestos volátiles como el amoníaco y otros que cuando se encuentran en concentraciones altas pueden generar patas quemadas y enfermedades respiratorias en los animales, molestias a los operadores de las granjas y a los vecinos de las mismas por su olor desagradable (3).

El amoníaco es un gas producido a partir del ácido úrico y de las proteínas no digeridas del alimento presentes en las excretas, mediante degradación bacteriana en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. La liberación de amoníaco depende de la composición química del alimento, edad, estado clínico del ave y tiempo que permanece el pollo en el galpón, así como de la humedad de la cama (4). El amoníaco presente en el galpón de crianza de las aves de engorde se absorbe en la parte superior de las vías respiratorias a través de las membranas mucosas, y su presencia altera los mecanismos de defensa de los animales quedando el ave más propensa a enfermedades. Cuando la concentración de amoníaco supera las 50 ppm produce en las aves daño ocular, congestión pulmonar, edemas, hemorragias, disminución de consumo de alimento, ascitis y a niveles mayores a 100 ppm puede causar la muerte. La concentración de amoníaco interfiere con la ganancia de peso, la conversión y la reproducción de las aves. Pollos expuestos a concentraciones superiores a 25 ppm de amoníaco experimentan reducción de peso entre 6 y 9%. De igual manera si los seres humanos están expuestos a un máximo del valor de tolerancia (> 50 ppm) se evidencian síntomas de intoxicación por amoníaco como el picor en mucosa de ojos y nariz sumado a estornudos frecuentes e irritación de la piel (5).

En la actualidad el método de tratamiento más eficiente en términos económicos y ambientales para los residuos sólidos orgánicos es el compostaje, el cual es un proceso de estabilización del material para luego aprovecharlo como un acondicionador de suelos. En el proceso de compostaje intervienen diferentes grupos microbiológicos que compiten por el alimento y oxígeno necesario para su

desarrollo metabólico. La gallinaza (cama de los galpones de gallinas ponedoras y reproductoras) y pollinaza (cama de los galpones de pollo de engorde) son materiales que al descomponerse por actividad microbiana emanan gran cantidad de amoníaco, debido a esto llevar a cabo el compostaje de estos residuos trae consigo un impacto ambiental negativo (6).

Los antibióticos promotores de crecimiento (APC) han mejorado durante décadas la ganancia de peso corporal de los pollos de engorde gracias a la combinación de una mejor conversión alimenticia y un aumento del consumo de alimento. Con la prohibición total de su uso en la Unión Europea (UE) desde enero del 2006 (7), es necesaria la búsqueda de aditivos alimenticios alternativos seguros que estimulen el apetito y mantengan la salud y la productividad de la industria animal. Las consecuencias de la remoción de los APC de la dieta de pollos son evidentes en términos de la disminución del consumo de alimento, incremento de la mortalidad, dispersión mayor en los lotes, ganancias de peso más bajas, conversiones alimenticias menos eficientes y mayores emisiones ambientales. En este escenario las estrategias exitosas para mejorarlo incluyen un buen manejo, dietas apropiadamente balanceadas y el uso de aditivos como los aceites esenciales (AEs) y los ácidos orgánicos (8).

Los extractos de plantas, especias y aceites esenciales son probablemente los productos naturales más antiguos utilizados en medicina humana, pero su uso en animales es relativamente nuevo y se desconoce el mecanismo de acción de estos extractos sobre el tracto gastrointestinal de las aves. Los aceites esenciales de orégano (AEO) son recomendados como aditivos naturales para su uso en la alimentación de pollos de engorde y remplazo de los APC. *Lippia origanoides* u orégano de monte es nativo de la región Colombiana del Chicamocha y Alto Patía. Se ha demostrado que el aceite esencial de *Lippia origanoides* (AEL) tiene propiedades antioxidantes y antimicrobianas; además posee propiedades antimicóticas, antivirales, inmunoestimulantes, coccidostáticas (inhiben el

desarrollo del parásito de la coccidia), coccidicidas (causan la muerte al parásito de la coccidia), estimulantes del apetito y controladoras de desórdenes digestivos. Lo que le atribuye un gran potencial como promotor nutricional en pollos de engorde y se presenta como una alternativa natural al uso de APC (9).

Promitec Santander S.A.S es una compañía santandereana cuya propuesta de valor es el diseño, desarrollo, y ejecución de soluciones naturales funcionales para la industria de alimentos y bebidas de consumo pecuario y humano. Desarrolla y fabrica aditivos naturales para alimentos del sector pecuario (principalmente avícola), se caracteriza por el uso de materias primas naturales de plantas aromáticas como sus aceites esenciales, oleorresinas y harinas derivadas de la molienda de sus hojas, raíces y tallos. De igual forma el uso de ácidos orgánicos y enzimas provenientes de procesos biológicos, microorganismos con características probióticas, y sustancias húmicas extraídas de los humatos, los cuales se encuentran en los depósitos minerales de humatos de lignita oxidada (leonardita). El objetivo de PROMITEC S.A.S es remplazar los aditivos sintéticos que actualmente se encuentran en los alimentos concentrados de los animales como los APC, pigmentantes, antioxidantes, entre otros por compuestos naturales.

Promitec Santander S.A.S, al realizar pruebas para hallar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) del AEL frente a diferentes especies bacterianas entre las que se encuentran *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Lactobacillus spp.*; encontró mayor sensibilidad al aceite en las bacterias patógenas (*Escherichia coli* y *Salmonella spp.*), mientras que para la bacteria benéfica (*Lactobacillus spp.*) se necesitó de una mayor concentración de AEL para inhibir su proliferación (10). Por lo tanto sería interesante verificar si este efecto inhibitorio de las bacterias patógenas se podría observar al interior de la microbiota de las aves empleando el AEL como aditivo alimenticio.

Previo al presente estudio a nivel industrial, Promitec Santander realizó 3 ensayos en jaula con una población de 70 pollos machos raza Cobb en donde se evaluaron diferentes concentraciones de AEL para ser utilizado como remplazo de los APC, de los cuales se concluyó que las adiciones óptimas debían ser de 50 ppm de AEL en el alimento iniciador (se suministra al ave del día 1 al 21) y 100 ppm de AEL en el alimento engorde (se suministra al ave a partir del día 22 hasta su sacrificio) (10).

Al ser esta una empresa dedicada a la Innovación, Desarrollo e Investigación (I+D+i) se enfoca en trabajar de la mano con el cliente para brindar soluciones biotecnológicas a sus necesidades. Siendo los impactos ambientales generados por la industria avícola una de las problemáticas más grandes que enfrenta actualmente este sector; principalmente la generación de olores ofensivos en las granjas utilizadas para el levante de pollo de engorde, por la formación de gases como el amoníaco el cual además, de causar daños en la fisiología de las aves también es un gas contaminante de la atmósfera. Teniendo en cuenta que estamos en una época en la que el mercado demanda productos de origen natural, con sellos verdes y propiedades funcionales que garanticen seguridad al consumidor, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un nuevo suplemento alimenticio para aves, de origen natural que incluye AEL en la emisión de amoníaco, la comunidad bacteriana presente en las heces y los parámetros zootécnicos (peso, consumo y conversión).

1. ESTADO DEL ARTE

“El olor ofensivo es el olor generado por sustancias o actividades industriales, comerciales o de servicio, que produce fastidio, aunque no cause daño a la salud humana; la sustancia de olor ofensivo es aquella que por sus propiedades organolépticas, composición y tiempo de exposición pueden causar olores desagradables, y generar contaminaciones que influyen en el impacto ambiental” (11).

1.1 PERSPECTIVA INTERNACIONAL

Los olores generados en los procesos productivos, de manera particular en el sector agropecuario, se han constituido en un factor disociador entre el generador y los receptores en el área de influencia; esta situación se ha venido complicando en las últimas dos décadas debido al desarrollo tecnológico de las industrias de producción animal, que con mayores estándares de calidad y eficiencia (nutrición, genética, sanidad), manejan un número mayor de animales en áreas relativamente pequeñas. Esta situación es un común denominador en todos los países en donde los productores pecuarios representan un renglón importante de la economía, razón por la cual, los sectores productivos se han preocupado por diseñar, implementar y utilizar procesos o productos para la reducción y mitigación de olores, y las autoridades ambientales a su vez por establecer un marco legal que regule las actividades con el fin de proteger los ecosistemas receptores (12).

1.2 PERSPECTIVA NACIONAL

El tema de olores en el país ha sido referenciado en la legislación desde el Decreto 948 de 1995 en relación con la prevención y control de la contaminación atmosférica y la protección de la calidad del aire; este decreto es posteriormente modificado por el 2107 de noviembre 30 de 1995, en este se decreta el reglamento de protección y control de la calidad del aire de alcance general y aplicable en todo el territorio nacional. Para el año 2006 y mediante la Resolución 601 se establece la Norma de Calidad del Aire o Nivel de Inmisión. De manera posterior se hicieron modificaciones a la anterior, mediante la Resolución del Ministerio de Ambiente 610 de 2010. El 12 de noviembre de 2013 se establece la Resolución 1541 de 2013 “por la cual se establece los niveles permisibles de calidad del aire o de inmisión, el procedimiento para la evaluación de actividades que generan olores ofensivos y se dictan otras disposiciones”. En el Capítulo III menciona las sustancias de olores ofensivos según la actividad, siendo considerados olores ofensivos en la actividad de producción pecuaria el amoníaco con un nivel permisible de $1400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y el sulfuro de hidrógeno $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ a una hora de exposición (13).

Según lo estipulado en la guía ambiental para el subsector avícola y el Ministerio de Ambiente, vivienda y Desarrollo Territorial del 2005, los niveles de amoníaco no deben superar los valores presentados en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles máximos permisibles de amoníaco en diferentes instalaciones avícolas durante 15 minutos de exposición.

Punto de medición	Nivel de amoníaco ppm
Interior del galpón	Hasta 25
Núcleo poblacional más cercano	menor o igual a 10
Sistema de tratamiento de gallinaza	Hasta 40

Fuente: (14)

El sector avícola colombiano, con el apoyo de la Federación Nacional de Avicultores FENAVI, Fondo Nacional Avícola FONAV en cabeza del programa técnico, lleva varios años trabajando en el campo ambiental de manera sistemática, con recomendaciones precisas de buenas prácticas ambientales para la mitigación de olores en donde se dictan instrucciones para el manejo de la pollinaza y gallinaza, vertimientos de aguas residuales, control de barreras naturales para olores ofensivo, entro otros (15).

1.3 PRODUCTOS EXISTENTES EN EL MERCADO PARA MITIGACIÓN DE OLORES OFENSIVOS EN EL SECTOR PECUARIO

A continuación en las Tablas 2 y 3 se presenta una clasificación de los aditivos pecuarios usados para agua, alimento y sobre los suelos de los corrales que ayudan a disminuir la formación de los olores ofensivos (16).

Tabla 2. Aditivos utilizados para disminuir los olores ofensivos para adicionar a la cama de las aves.

Agente enmascarador de olor	El extracto de artemisa o el aceite de menta.
Enzimas, microorganismo y extractos de plantas	La sarsaponina, extracto de yuca (<i>Yuca schidigera</i>). La sarsaponina puede reducir el nitrógeno amoniacal, aumentar el nitrógeno orgánico y promover acciones beneficiosas de los microorganismos en la cama. Además aporta enzimas suplementarias que puede reducir los olores en fosas.
Agentes adsorbentes	Pueden adsorber compuestos olorosos. Algunos ejemplos son las bentonitas, las zeolitas y el carbón activado.
Agentes químicos o biológicos	Para bajar el pH se utiliza la aplicación de fermentos lácticos, de ácidos orgánicos (fumárico o cítrico) y de

	carbohidratos muy fermentables.
Modificación de las dietas	Para reducir el contenido de amonio en el alimento, y aumentar la capacidad de digestión.

Fuente: (16)

Tabla 3. Aditivos utilizados para disminuir los olores ofensivos para adicionar en el alimento de las aves.

Agentes enmascaradores	Son compuestos aromáticos (aceites) con un fuerte olor que enmascara el olor de los alimentos o heces.
Agentes bloqueantes	Son mezclas de aceites aromáticos que neutralizan los compuestos volátiles responsables de los malos olores.
Aditivos microbiológicos	Son cultivos bacterianos o preparados enzimáticos o combinaciones de bacterias y enzimas que digieren de manera acelerada la materia orgánica, principalmente las celulosas no digeridas por el animal. También pueden eliminar algunos compuestos olorosos o fijar el nitrógeno amoniacal en forma de nitrógeno orgánico.
Productos adsorbentes	Compuestos de gran área superficial que adsorben compuestos olorosos antes que se volatilicen.
Aditivos químicos	<p>Agentes oxidantes: cloruros (hipoclorito sódico), permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno. Estos productos oxidan sulfuros e inhiben la producción de ácido sulfhídrico.</p> <p>Agentes precipitantes: sales de hierro o zinc que reaccionan con sulfuros y producen compuestos insolubles.</p> <p>Control de pH: sosa o cal, aumentan el pH e inhiben la producción de sulfuros, previenen la volatilización del ácido sulfhídrico y, como contrapartida, se incrementan las emisiones de amoniaco. Con la adición de ácidos baja el pH y disminuyen las emisiones de amoniaco, pero aumentan los problemas de olores por volatilización de compuestos ácidos.</p>

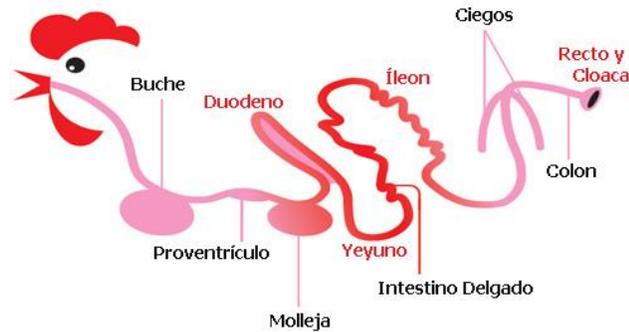
	Aceptores de electrones: evitan la formación de sulfuros a partir del sulfato y disminuyen los olores, como por ejemplo el nitrato sódico.
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: (16)

1.4 COMUNIDAD BACTERIANA PRESENTE EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LAS AVES

En la Figura 1 se muestra el esquema de tracto gastrointestinal de un pollo, el buche alberga una gran población de *Lactobacillus*, estas bacterias fermentan el alimento y producen ácido láctico, el cual reduce el pH del ambiente del buche. Las condiciones dentro del proventrículo son altamente ácidas, lo que crea un ambiente poco apto para la mayoría de las bacterias. La molleja también tiene un ambiente ácido, pero tiene una población significativa de *Lactobacillus* que provienen principalmente del buche. La población bacteriana del intestino delgado se conforma principalmente por *Lactobacillus*, aunque también se pueden encontrar algunas veces *Enterococos*, *Escherichia coli*, *Eubacterias*, *Clostridios*, *Propionibacterias*, y *Fusobacterias*. La población bacteriana del intestino delgado evoluciona a medida que el ave envejece, pero generalmente estará estable hacia las dos semanas de edad. Los ciegos ofrecen un ambiente más estable, el cual permite la colonización de bacterias de crecimiento lento. En el comienzo los ciegos están dominados por *Lactobacillus*, *Coliformes* y *Enterococos*, pero hacia la tercera o cuarta semana de edad la microbiota cecal adulta debe estar bien establecida y consiste en *Bacteroides*, *Eubacterias*, *Bifidobacterias*, *Lactobacillus* y *Clostridios* (17).

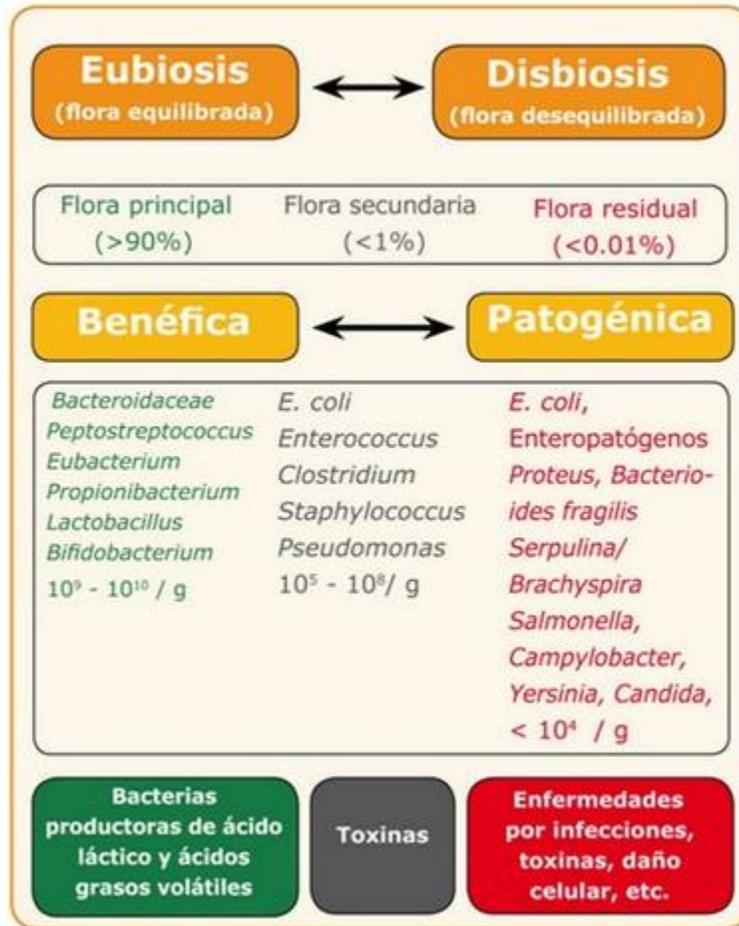
Figura 1. Tracto gastrointestinal de un pollo



Fuente: (17)

El tracto digestivo, inicialmente estéril, es colonizado rápidamente por microorganismos después del nacimiento. La diversidad y el número total de microorganismos aumentan desde el intestino delgado al ciego. La microbiota es dividida en principal, secundaria y residual como se muestra en la Figura 2. La microbiota principal está compuesta de especies anaeróbicas (*Bifidobacteria*, *Lactobacillae*, *Bacteroides* y *Eubacteria*) las cuales producen ácido láctico y otros ácidos grasos de cadena corta. La flora secundaria representa aproximadamente 1% y consiste principalmente de *Enterococco* y *E. coli* y la flora residual está por debajo del 0,01% y está compuesta principalmente por microorganismos patógenos (18).

Figura 2. Géneros bacterianos y su influencia sobre el ave



Fuente: (18)

La salud intestinal se basa en el mantenimiento del delicado equilibrio entre el ave, la microbiota intestinal, el ambiente intestinal y los compuestos dietéticos. Cuando la salud intestinal es la óptima, se da una eficiente digestión y absorción de los compuestos nutricionales del alimento. La mala absorción de nutrientes resulta en que hay más nutrientes disponibles para las bacterias del intestino delgado, lo que puede ocasionar un crecimiento excesivo de la población bacteriana. Adicionalmente, la mala absorción puede resultar en que proteínas, azúcares y grasas pasen a los ciegos, causando un cambio en la población microbiana, alejándola del ideal de bacterias fermentativas. A los cambios en las poblaciones

bacterianas del intestino delgado y los ciegos que ocurren durante un desequilibrio comúnmente se les llama disbacteriosis y, si son prolongados, pueden producir efectos negativos en el ave. La presencia de ciertas bacterias se incrementa durante la disbacteriosis; la acción de estas bacterias afecta aún más la absorción de nutrientes. Cuando se reduce la absorción de nutrientes es común que las aves aumenten su ingesta de alimento intentando satisfacer sus requerimientos nutricionales. Esto resulta en un menor tiempo de tránsito intestinal, paso del alimento con trazas de nitrógeno amoniacal disponible proveniente de los aminoácidos de la dieta, y una cama más mojada lo que genera un ambiente propicio para la formación de gases ofensivos como el amoniaco y ácido sulfhídrico (19).

1.5 ACEITES ESENCIALES Y SUS PROPIEDADES

Los aceites esenciales son sustancias olorosas obtenidas a partir de plantas mediante destilación en corriente de vapor. Proviene principalmente del metabolismo secundario de los vegetales superiores en los que ejercen funciones de defensa y atracción. Tras su producción, los aceites se almacenan en distintos órganos de la planta. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles: hidrocarburos (compuestos terpénicos), alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles. Los componentes mayoritarios de los aceites pueden constituir hasta un 85% del total, mientras que el resto se presentan como trazas; algunos estudios demuestran que los componentes de menor proporción tienen un papel crítico en la actividad antimicrobiana, posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite esencial entero tiene una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios (20). Son muchos los factores que influyen en la composición de un aceite denominada quimiotipo; como la especie, el órgano de la planta, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes,

tierra de cultivo, etc.) así como la destilación y la forma de almacenamiento del aceite.

Generalmente los aceites esenciales poseen notables propiedades antimicrobianas, sin embargo su mecanismo de acción aún no está definido. Normalmente estas pruebas consisten en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) que impide el crecimiento de la bacteria enfrentando un número conocido de unidades formadoras de colonia de la bacteria de interés con el agente antimicrobiano. Los aceites esenciales son en general ligeramente más activos frente a bacterias Gram positivas que frente a las Gram negativas, esto puede deberse a la influencia de la estructura de la pared celular y a la composición de la membrana externa de las bacterias y su interacción con los aceites esenciales de naturaleza lipofílica. En el caso de las bacterias tanto Gram negativas y positivas sensibles, los aceites esenciales se introducen a través de los lípidos de la membrana celular, alterando su estructura y haciéndolas más permeables; como consecuencia tiene lugar una fuga de iones y de otros contenidos celulares que puede ocasionar la muerte celular. Algunas investigaciones sugieren que para obtener un mayor efecto antibacteriano la dosis a aplicar es relativamente reducida, del orden de 100 a 200 ppm, dependiendo del excipiente. Dosis superiores no ejercen necesariamente un mejor efecto (21).

1.6 ACEITE ESENCIAL DE *Lippia origanoides*

La familia *Labiatae* contiene el género *Origanum* al que pertenecen oréganos turcos y griegos. El género *Lippia* pertenece a la familia *Verbenaceae* que es común en América.

El orégano de monte es una hierba que alcanza de 1 – 2 mts de altura, presenta hojas con ápice redondo, flores blancas, pequeñas y muy aromáticas. Se

encuentra en la región del cañón del río Chicamocha, en Santander. Posee en la composición de sus hojas y flores compuestos terpenóicos y fenólicos como carvacrol y timol (Tabla 4). La utilidad de los extractos y aceites esenciales de estos quimiotipos ha sido evaluada con resultados promisorios en microorganismos de importancia agrícola, pecuaria, actividad antioxidante, repelente contra insectos y efecto antiviral, ya que afectan la capa externa de la membrana celular bacteriana y provocan cambios en la composición de los ácidos grasos de esta (22) (23).

Lippia organoides cuenta con una importante variación fitoquímica representada en tres quimiotipos (cimenos, carvacrol, timol), según el compuesto mayoritario presente en sus actividades esenciales. AEL quimiotipo Timol, es el utilizado por Promitec Santander S.A.S para realizar la fabricación de sus productos.

Tabla 4. Composición del aceite esencial de *Lippia organoides* quimiotipo timol

Tiempo de retención, min	Identificación tentativa	Cantidad relativa %
28,21	Terpineno -4-ol	0,1
28,52	ρ -Cimen-8-ol	0,1
28,93	α -Terpineol	0,1
29,08	cis-Dihidrocarvona	<0,1
30,94	Carvona	<0,1
31,66	Isómero timol	0,3
31,82	Isómero carvacrol	0,2
32,25	Timol	40,7
32,66	Carvacrol	29,5
34,72	Propofol (Antioxidante)	<0,1
35,05	2-(1,1-Dimetil-etil)-3-metilfenol	0,1
43,2	Dilapiol	0,1
44,5	N.I (M+234)	0,1
53,76	Alquil timil eter	0,2

Fuente: Registros de Promitec S.A.S. Análisis elaborado por el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander.

A continuación se presentan algunos estudios que se han realizado en diferentes usos de los aceites Esenciales de *Oregano vulgare* y *Lippia organoides*.

1.6.1 Aceite esencial como modulador de la función del tracto gastrointestinal de pollos de engorde. Los principales componentes de los AEO (carvacrol y timol) han demostrado mejorar la digestión. Así mismo, la inclusión del timol en la dieta de pollos de engorde a un nivel de 100 ppm, estimula secreción de enzimas digestivas pancreáticas (i.e. amilasa, lipasa, tripsina y quimiotripsina) (24). En un estudio en donde se comparó el efecto en el crecimiento de las aves entre un APC y algunos quimiotipos de AEO y AEL Kunth 200 ppm se observaron diferencias numéricas que favorecieron en términos de peso corporal 3,6%, ganancia de peso corporal 5% y conversión alimenticia 4,8% al AEL Kunth comparado con el APC. También se comparó el peso corporal a los 24 días entre el grupo APC y los AEO observándose una tendencia que favoreció la suplementación de AEO (+25 g de ganancia de peso) (25).

1.6.2 Aceite esencial como regulador de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos de engorde. La microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI) juega un papel importante en la salud y bienestar del pollo de engorde. Los *Lactobacillus* son las bacterias que predominan en el buche, las cuales producen ácido láctico y reducen el valor de pH evitando el establecimiento de algunos patógenos mediante efectos bacteriostáticos o bactericidas. Las bacterias patógenas como algunas cepas de *Escherichia coli* inciden negativamente en el crecimiento y desarrollo de las aves mediante mecanismos como: la producción de toxinas, la utilización de nutrientes esenciales del huésped, la supresión de microorganismos que sintetizan vitaminas y otros factores importantes para el huésped. La dieta al igual que la organización anatómica y fisiológica del TGI influye la composición y dinámica de las poblaciones microbianas. Los AEO ejercen a través de sus principales componentes un amplio rango de actividades antimicrobianas, los principales

componentes que exhiben esta actividad son las moléculas de timol y carvacrol, que constituyen del 78 al 82% del total del aceite. El carvacrol y el timol afectan la capa externa de la membrana celular bacteriana y provocan cambios en la composición de los ácidos grasos (26).

El efecto antimicrobiano de los AEO es mayor frente a bacterias patógenas (*Escherichia coli* y *Salmonella*) que frente a bacterias benéficas (*Lactobacillus sp* y *Bifidobacterium sp*), donde se requirió mayor concentración de AEO para inhibir su proliferación. Se ha desarrollado una variedad de productos principalmente en la industria avícola. AEO enmarcan un novedoso campo de acción sobre la microbiota intestinal, modificando poblaciones para proveer un mejor desempeño del animal y mejorando la absorción y utilización de nutrientes, por un efecto indirecto de los ácidos grasos volátiles generados por las poblaciones benéficas (estimuladas en su crecimiento por el uso de estos compuestos); estos aceites esenciales actúan sobre las paredes del intestino afectando positivamente la salud y funcionalidad de las vellosidades intestinales (27).

1.7 IMPACTO AMBIENTAL DEL AMONIACO

En el ambiente el amoniaco al oxidarse como gas forma óxidos de nitrógeno, considerado uno de los gases del efecto invernadero, 300 veces más contaminante que el dióxido de carbono. Si en la atmósfera se está produciendo una alteración y el efecto invernadero se está incrementando, entonces la temperatura global asciende y el ciclo hidrológico se altera, generando sequías en unos sitios y lluvias torrenciales en otros, ya que es un fenómeno muy susceptible al efecto de otras actividades humanas. También el amoniaco puede causar acidificación y eutrofización. La acidificación se debe a la deposición del nitrógeno amoniacal en los suelos, las reacciones del amoniaco depositado en suelos implican la liberación de protones que acidifican el medio. Esta acidificación está

estrechamente unida con la pérdida de fertilidad de los suelos. La eutrofización es el proceso de enriquecimiento excesivo de nutrientes (en este caso nitrógeno) en los cuerpos de agua. Este enriquecimiento desequilibra los ecosistemas dando lugar a problemas asociados con el crecimiento excesivo de algas o cianobacterias, esta invasión evita el crecimiento de otras plantas acuáticas ya que compiten por la luz y nutrientes, además causan bajas de oxígeno disuelto en el agua originando mortalidad de peces (Pidwirn, 2006) (4).

Los compuestos de nitrógeno gaseoso, desprendido de la volatilización de las excretas provoca olores desagradables, mientras que los productos sólidos de la excreción son aquellos asociados con ineficiencia digestiva y aquellos de origen metabólico, o sea por la contribución de los dos procesos básicos (digestión y metabolismo) y a cualquier tratamiento al cual ha estado sujeto el balance del producto total de la excreción. El mayor problema es, sin duda, el olor que causa un verdadero perjuicio a las personas que habitan en las proximidades. La sensación de suciedad que acompaña a estos vertidos, así como la aparición de síntomas evidentes de la degradación ambiental en el entorno.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar como la adición de aditivos alimenticios para pollo de engorde a base del Aceite Esencial de *Lippia origanoides* (AEL) influye en las emisiones de amoníaco y en la comunidad bacteriana presente en las heces.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de aditivos alimenticios a base de AEL en la producción de amoníaco en una granja avícola.

Analizar como la adición de AEL en el alimento influye en la composición de algunas especies patógenas y benéficas representativas de la microbiota bacteriana de las heces de los pollos.

Establecer la influencia del uso de aditivos con AEL en los parámetros zootécnicos (peso, conversión y consumo) de los pollos.

3. METODOLOGÍA

3.1 POBLACIÓN Y DISEÑO

El ensayo se llevó a cabo durante seis semanas en una granja avícola ubicada en el municipio de Caldas, Antioquia de propiedad de un cliente de Promitec. La granja contaba con cuatro galpones cada uno dividido en cuatro corrales para un total de 16 grupos experimentales. Se utilizó una población de 39.512 pollos (machos) de raza Ross 308, divididos en tres tratamientos así: control 14.401 (en 6 corrales), tratamiento aditivo A 12.842 (en 5 corrales) y tratamiento aditivo B 12.269 (en 5 corrales). En cada uno de los galpones se distribuyeron los corrales de forma tal que hubiera al menos uno de cada tratamiento, esto con el fin de garantizar que la temperatura, humedad, viento, ruido entre otras al ser variables ambientales que no se podían controlar, todos los grupos experimentales tuvieran las mismas condiciones ya que los cuatro galpones se encontraban distribuidos en diferentes lugares en la granja (Anexo A).

3.2 SUMINISTRO DEL ALIMENTO CON ADITIVOS

El alimento se suministró de acuerdo a la tabla de consumo para pollo de engorde raza Ross 308 (28); se utilizó dieta para inicio (hasta el día 21) y engorde (desde el día 22 al sacrificio). Se fabricó de acuerdo a la formulación de la empresa cliente para cada fase, las diferencias entre los tratamientos fueron los aditivos para APC: tratamiento control (dieta comercial con APC), tratamiento con aditivo A (formulación Promitec AEL+HMS+MDX) y tratamiento con aditivo B (formulación Promitec AEL+MDX) (Anexo B). El tratamiento control fue utilizado como blanco

ya que su formulación cuenta con inclusión de APC como aditivo sintético y es lo que se maneja actualmente en el mercado.

3.3 RECOLECCIÓN DE HECES PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Las muestras se recolectaron una vez a la semana a partir de la tercera semana y se tomaron de acuerdo al protocolo establecido por Promitec Santander (Anexo C). Los análisis se realizaron en el Laboratorio SERVET – Servicios Microbiológicos Veterinario –, en la ciudad de Bogotá. Las muestras fueron transportadas desde la granja en neveras de icopor con suficiente gel refrigerante y se mantuvo la cadena de frío. El tipo de análisis que se realizó fue recuentos de UFC/gr de muestra para *Escherichia coli* (bacteria patógena), *Lactobacillus sp.* (bacteria benéfica) y *Clostridium sp.* (bacteria patógena) para lo cual se utilizaron medios de cultivo selectivo. Cada día de medición se recolectaron 16 muestras (una muestra de cada corral) para un total de 64 muestras durante el estudio.

3.4 MEDICIÓN DE AMONIACO (NH₃)

Se realizaron mediciones de la concentración de amoníaco en el aire, al menos una vez a la semana a partir de la tercera semana. Se empleó el detector de amoníaco GC210 Portable Single Gas Detector (BW Technologies by Honeywell, China) (Figura 3). La medición se realizó a la altura del pico de las aves entre las 11:00 am y 1:00 pm, el punto del muestreo fue en la mitad de cada corral, el equipo se dejó expuesto durante 15 minutos y se tomó el valor en ppm reportado por el detector de acuerdo al protocolo establecido por Promitec Santander (Anexo D). Al momento de la medición también se monitoreó la temperatura (en °C) y la humedad (%humedad relativa) a la que se encontraba la granja.

Figura 3. Detector de amoniaco GC210, midiendo niveles en los galpones



3.5 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

Se realizó seguimiento de parámetros zootécnicos (peso, consumo y conversión) semanales para todos los tratamientos. El peso se midió semanalmente antes de suministrar el alimento del día, para esto se utilizó una báscula de piso y se pesaron 140 aves al azar por cada corral. El consumo del alimento se dio a las aves de acuerdo a la tabla para la línea Ross 308, esta tabla indica la cantidad de alimento que se debía suministrar al ave diariamente (28). Para la conversión, el cuál es un parámetro que indica la relación que existe entre el peso alcanzado por el ave y la cantidad de alimento consumido, se calculó dividiendo el promedio del consumo semanal sobre el promedio del peso de la muestra de aves de cada corral. Se espera que a menor conversión mejor sea el resultado del rendimiento del lote de pollos.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para establecer el tamaño de la muestra de los tratamientos, se aplicó un muestreo aleatorio simple el cual arrojó como resultado que el tamaño de la muestra debía ser de 140 aves por corral. Para comprobar si el efecto galpón incidió sobre los resultados de los recuentos microbiológicos, formación de amoníaco y parámetros zootécnicos en los tres diferentes tratamientos; se ajustaron los datos a un modelo lineal generalizado, y se eligió la prueba *Post-Hock* de *Tukey* para comparar los promedios de cada grupo y así se identificaron las diferencias que existieron entre los tres tratamientos. Se trabajó con un nivel de significancia de 0,05.

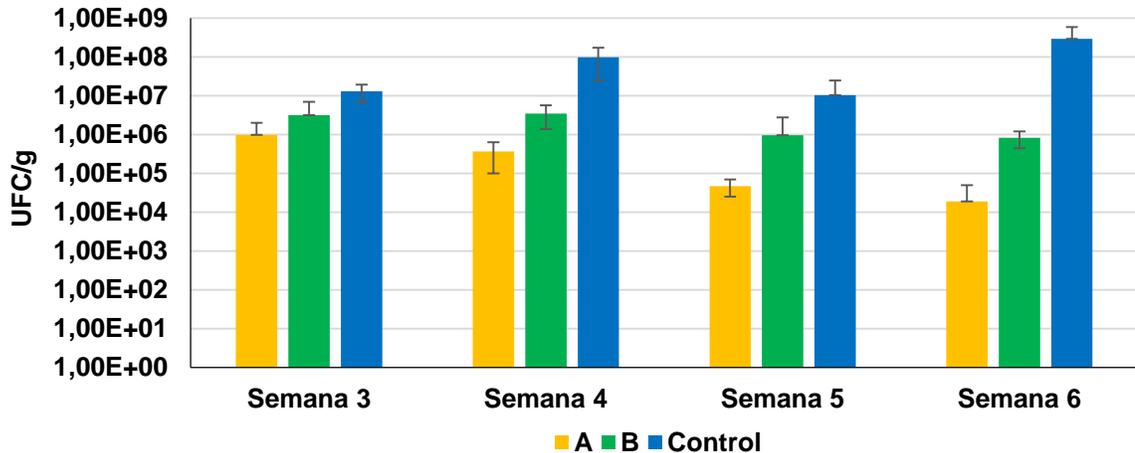
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RECuentos MICROBIOLÓGICOS

Los resultados del recuento microbiológico semanal de las cepas *Escherichia coli*, *Clostridium sp.* y *Lactobacillus sp.* en cada uno de los corrales de los cuatro galpones se presentan a continuación.

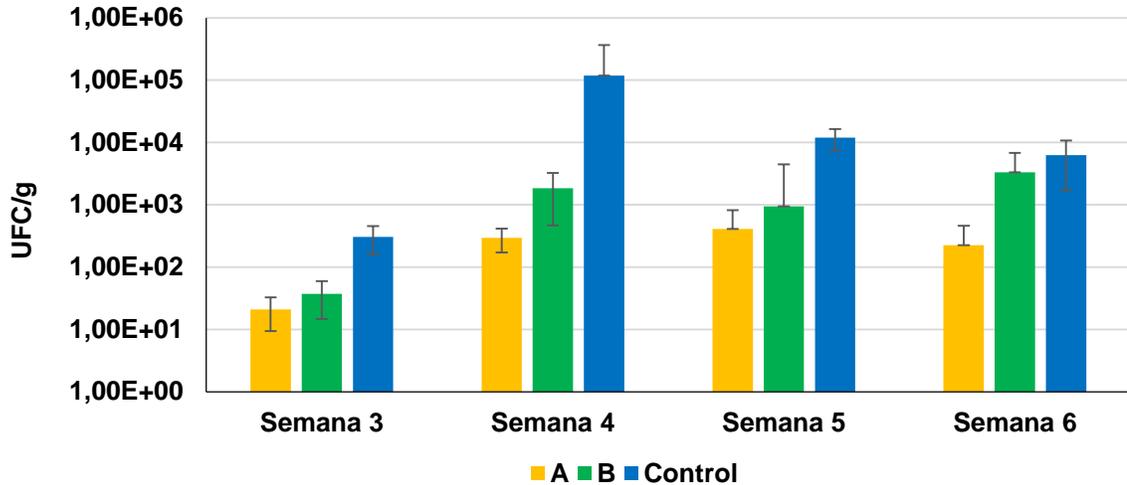
En la Figura 4 se encuentran graficados los promedios de los recuentos en todos los tratamientos para la bacteria patógena Gram negativa *E. coli* durante todo el ensayo. Se observa como para el tratamiento aditivo A los niveles son los más bajos, y a medida que pasan las semanas estos disminuyen progresivamente, seguidos están los recuentos en el aditivo B que también disminuyen aunque no tanto como los anteriores. Finalmente en el tratamiento control es donde se encuentran los recuentos más altos de esta bacteria, y contrario a los otros grupos, los niveles no disminuyen con el tiempo. Lo anterior se confirma con el análisis estadístico (Anexo E) de los valores p en la prueba de *Tukey* muestran que en el recuento de *E. coli* existe una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento aditivo C y los tratamientos aditivos A y B a lo largo del tiempo.

Figura 4. Recuentos microbiológicos de *Escherichia coli* en las heces de las aves



Los promedios de los recuentos de la bacteria patógena Gram positiva *Clostridium sp.* se encuentran graficados en la Figura 5, y muestran como los aditivos A y B que tienen AEL presentan los menores recuentos en comparación con el tratamiento control. Siendo más bajos los niveles de esta bacteria en el tratamiento aditivo A. Para *Clostridium sp.* a diferencia de *E. coli* los niveles no disminuyen durante el ensayo, esto puede presentarse por la composición de la pared celular de este tipo de bacteria ya que al ser Gram positiva tiene una mayor resistencia a la permeabilidad del AEL, sin embargo se mantienen dentro de los niveles recomendados en la literatura (Figura 2). Estadísticamente se tiene que para el recuento de *Clostridium sp.* no existe una diferencia significativa entre los promedios que se muestran a lo largo del tiempo entre el tratamiento aditivo C y los tratamientos aditivos A y B (Anexo E).

Figura 5. Recuentos microbiológicos de *Clostridium sp.* en las heces de las aves

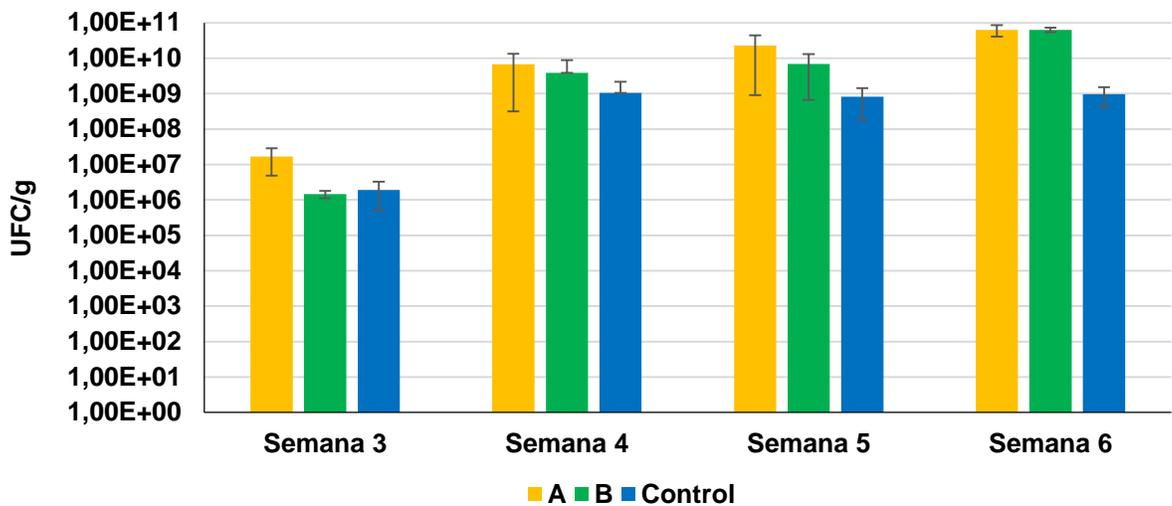


La Figura 6 presenta la gráfica de los promedios de los recuentos de la bacteria Gram positiva probiótica *Lactobacillus sp.*, en los cuales se observa que para el tratamientos con aditivo A los niveles son mayores en comparación con el control durante todo el ensayo y para el tratamiento con aditivo B los niveles son mayores a partir de la tercera semana. Para ambos tratamientos la tendencia que se muestra es la de ir aumentando cada semana. Sin embargo el aditivo A que tiene la mezcla de HMS y AEL muestra mejores resultados. Siendo este el efecto esperado ya que al aumentar la cantidad de *Lactobacillus sp.* estos producen ácidos orgánicos como resultado de su metabolismo, haciendo que el pH del medio descienda y se genere un ambiente ácido hostil para bacterias patógenas como *E. coli* y *Clostridium sp.* ocasionando su inhibición. Lo que va a permitir que exista una mejor integridad intestinal y por ende una buena absorción de nutrientes. Analizando los datos con el método estadístico de *Tukey* para *Lactobacillus sp.* los valores *p* muestran que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las aves que recibieron el tratamiento con

aditivo A, y las aves que recibieron los tratamientos con aditivos B y C a lo largo del estudio (Anexo E).

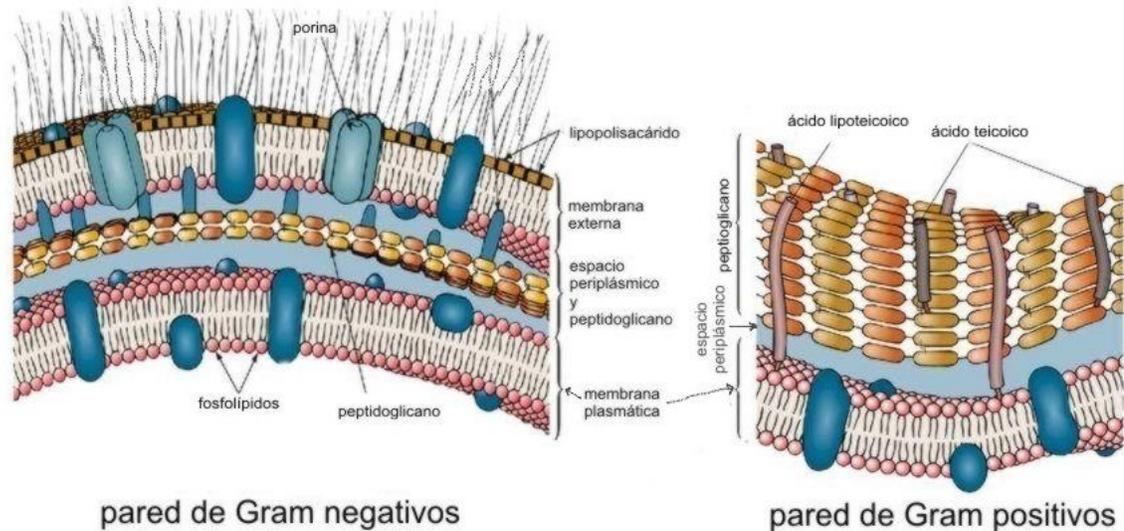
Los anteriores resultados de cada semana muestran como a lo largo del estudio, los tratamientos con aditivos A y B que contienen inclusión de AEL mantuvieron los niveles de la bacteria Gram negativa patógena y perteneciente al grupo de las proteolíticas productoras de amoniaco *Escherichia coli* menores que para los grupos con tratamiento aditivo C; este resultado se debe a las propiedades antimicrobianas que tiene el AEL.

Figura 6. Recuentos microbiológicos de *Lactobacillus sp.* en las heces de las aves



Helander *et al* (1998) indican que el carvacrol y el timol desintegran la membrana celular de las bacterias Gram negativas, ocasionando la liberación de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana (29). Esto se debe a las diferencias que existen en la estructura de la pared de las bacterias Gran negativas y las Gram positivas (Figura 7).

Figura 7. Estructura de la pared de las bacterias Gram positivas y Gram negativas



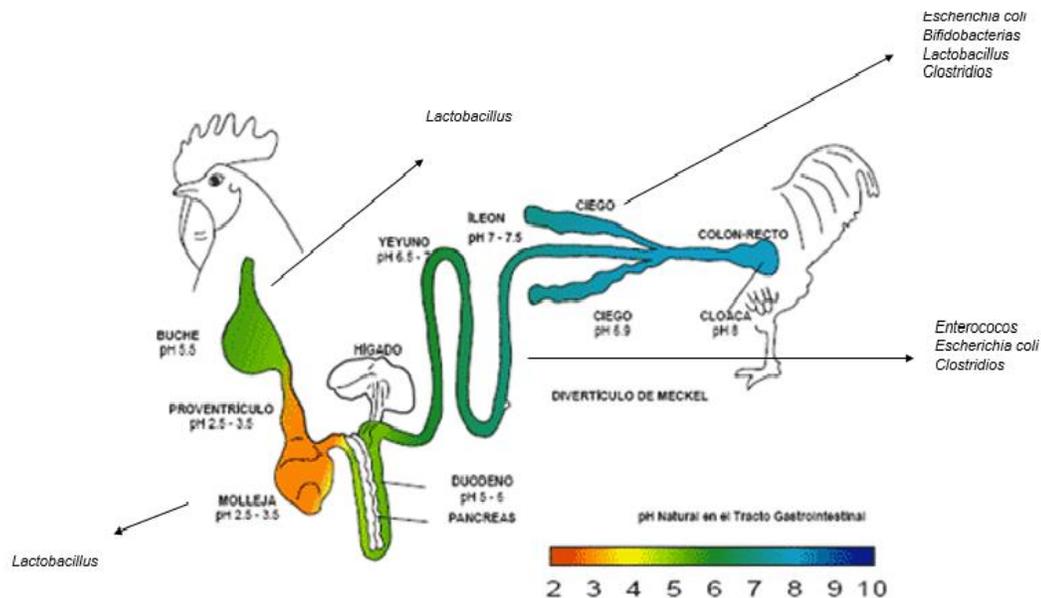
Fuente: MEDIA VIDA Las bacterias [en línea] disponible en: <http://www.mediavida.com/foro/ciencia/las-bacterias-433122>

Las bacterias Gram negativas tienen una membrana interna de fosfolípidos, seguida de una delgada capa de peptidoglicano que le confiere algo de resistencia, y en la parte externa una membrana de lipopolisacáridos y porinas las cuales actúan como poros a través de las cuales las moléculas se pueden difundir fácilmente. En el caso de las bacterias Gram positivas están tienen una membrana interna de fosfolípidos, seguida de una capa gruesa de peptidoglicano la cual le confiere bastante resistencia. Es por este motivo que las moléculas de Timol y Carvacrol resultan más tóxicas para las bacterias Gram negativas, pues pueden ingresar más fácilmente a la célula provocando su desestabilización. Mientras que es necesaria una mayor cantidad de AEL para que pueda actuar sobre la capa gruesa de peptidoglicano de las bacterias Gram positivas como *Lactobacillus sp.*

Por otro lado el hecho de disminuir patógenos hace posible que predominen en mayor cantidad *Lactobacillus sp.* bacterias sacarolíticas las cuales se adhieren al

epitelio del buche y producen ácido láctico como producto de su metabolismo y otros ácidos orgánicos los cuales reducen el valor del pH de órganos como el intestino delgado y el ciego, evitando así el establecimiento de algunos patógenos como *Clostridium sp.* que inciden negativamente en el crecimiento y desarrollo de las aves mediante mecanismos como: la producción de toxinas y la utilización de nutrientes esenciales del huésped; ya que este tipo de bacterias necesita de ambientes con pH cercanos a la neutralidad o de características básicas para su desarrollo (Figura 8) (25).

Figura 8. Valores de pH a lo largo del TGI de los pollos



Fuente: AGRI NEWS El uso de los acidificantes en avicultura [en línea] disponible en: <http://agrinews.es/2014/03/18/el-uso-de-los-acidificantes-en-avicultura/>

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los publicados por Betancourt *et al* (26), quienes al realizar un ensayo en donde adicionaron diferentes tratamiento con inclusiones de AEL y AEO a dietas de pollos de engorde y extrajeron ADN en diferentes porciones del TGI de las aves para caracterizar los perfiles de las comunidades microbianas mediante la técnica de electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE). Para evaluar a

mayor detalle los cambios en las poblaciones bacterianas de *Clostridium sp.* y *Lactobacillus sp.* se realizó una pirosecuenciación, donde se destacó una mayor proporción del genero *Clostridium sp.* en el tejido epitelial a los 22 días de edad en el grupo control (18,9%) comparado con el grupo suplementado con el AE (13,9%), mientras que para el género *Lactobacillus sp.* se presentó en mayor proporción en el grupo suplementado con el AE (5,4%) con respecto al grupo control (2,0%). Lo anterior confirma el efecto antibacterial del AE contra bacterias patogénicas, pero con un bajo efecto antibacterial contra las bacterias benéficas (26).

4.2 PRODUCCIÓN DE AMONIACO

En la Figura 9 se puede observar los niveles de producción de amoniaco para cada tratamiento a lo largo de estudio. Los niveles de amoniaco en los tratamientos con aditivos A y B son menores que con el tratamiento C. De acuerdo al análisis obtenido por la prueba de *Tukey* (Anexo F) existe una diferencia estadísticamente significativa para los valores promedios entre el tratamiento control y los tratamientos con aditivo A y B. Y por otro lado no existe evidencia estadísticamente significativa entre el tratamiento aditivo A y B.

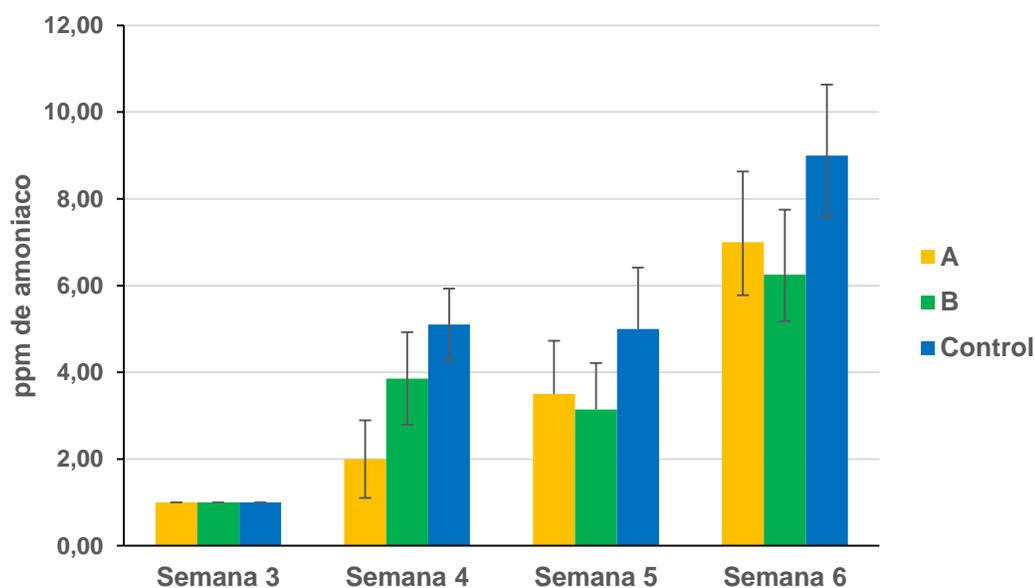
En la semana tres a los 16 días de edad de las aves y antes del cambio de alimento a la etapa de engorde todos los tratamientos marcaron niveles de producción de amoniaco en ppm de 1. Lo que estadísticamente no hizo que existiera ninguna diferencia significativa entre los tres tratamientos.

En la semana cuatro y con 23 días de edad las aves ya se encontraban consumiendo alimento de etapa engorde, los valores de amoniaco se incrementaron en todos los tratamientos (Figura 9). Para los tratamientos con

aditivos A y B los valores fueron menores que para el control. Esta tendencia se mantuvo para las semanas 5 y 6.

En la Figura 9 se observa que en la sexta y última semana del estudio en los tres tratamientos, en especial los que tienen tratamiento con aditivo C los niveles de amoniaco incrementaron considerablemente. Se siguió manteniendo la tendencia existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento con aditivo C y los tratamientos con aditivos A y B (Anexo F).

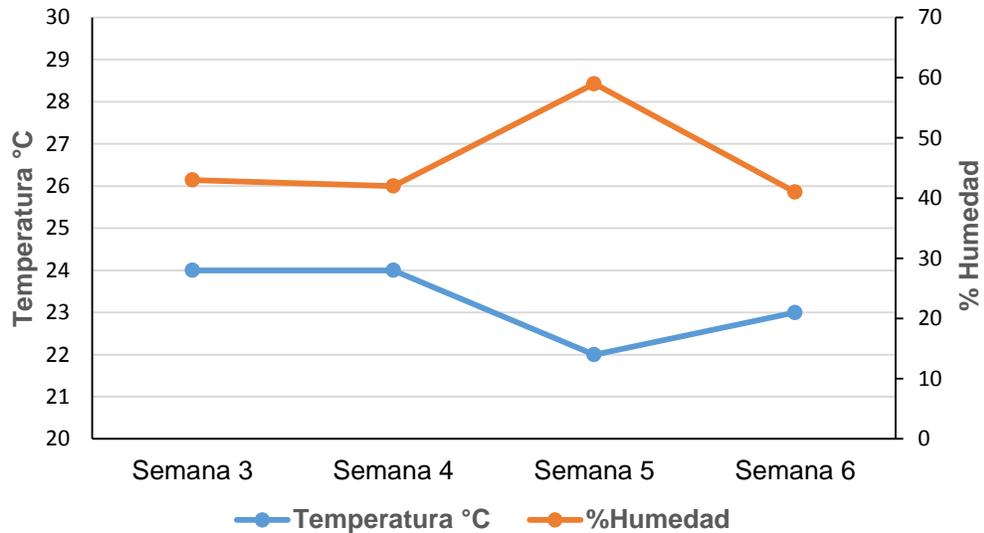
Figura 9. Promedio de los niveles de producción de amoniaco en los diferentes tratamientos a lo largo del estudio



En la Figura 10 se observan la temperatura y humedad promedio en los corrales a lo largo del estudio. Los resultados en la Figura 10 sugieren que las variaciones en la temperatura y humedad no afectaron significativamente las mediciones de amoniaco en este estudio, dado que a lo largo del estudio se mantuvo la tendencia: una producción de amoniaco menor para los tratamientos A y B en

relación al C y un aumento progresivo en la producción de amoniaco con la edad de los pollos para todos los tratamientos.

Figura 10. Niveles de temperatura y humedad presentados en la granja durante las semanas de medición de amoniaco



Al analizar estos resultados con los obtenidos en los recuentos microbiológicos, se puede observar la relación que existe entre el metabolismo de las bacterias proteolíticas y sacarolíticas, y la producción de amoniaco. La volatilización del amoniaco en la pollinaza ha sido atribuida a la acción microbiana sobre los compuestos nitrogenados, especialmente el ácido úrico excretado por la orina. El pH de la cama tiene un papel importante en la volatilización del amoniaco; es ligeramente baja en pH neutro o ligeramente ácido, en tanto que un pH alcalino eleva considerablemente la formación de amoniaco por la presencia de la enzima uricasa, que cataliza la ruptura del ácido úrico. Los *Lactobacillus sp.* al ser bacterias probióticas actúan mejorando las condiciones del tracto gastrointestinal logrando mayor absorción de proteínas y ácidos grasos que son los precursores de los efectos que forman el amoniaco, ya que si no se absorben las proteínas, las bacterias como *E. coli* proteolíticas transforman metabólicamente las proteínas en

amoníaco como producto final de su metabolismo. De igual forma como resultado de su metabolismo los probióticos forman ácidos grasos volátiles que contribuyen con la acidificación del medio en que se encuentran, en este caso la cama o pollinaza lo que hace que la volatilización del amoníaco sea baja (5).

En los grupos tratados con aditivo A y B que utilizaron AEL como remplazo de los APC se obtuvieron los menores niveles de producción de amoníaco. Al lograr disminuir los niveles de bacterias proteolíticas como *Escherichia coli* quienes en su metabolismo final producen amoníaco, los niveles de producción de este gas para los tratamientos A y B son bajos en comparación con el tratamiento control C.

4.3 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

En la Tabla 5 se muestran los resultados promedios obtenidos para consumo, peso y conversión al día 42 al cierre del lote (semana 6); y los resultados históricos de todo el ensayo se encuentran en el Anexo G.

Tabla 5. Resultados zootécnicos al cierre del lote

Tratamiento	Peso Promedio g	Desvest	Consumo Promedio g	Desvest	Conversión Promedio	Desvest
A	2515	87	4316	174	1,71	0,01
B	2477	67	4321	152	1,75	0,1
Control	2570	29	4257	157	1,66	0,01

La conversión es un parámetro muy importante en la industria avícola de pollo de engorde, ya que indica la relación entre el consumo de alimento del ave y el peso alcanzado a lo largo del ciclo de vida. La idea es alcanzar un mayor peso con el menor consumo posible; por este motivo entre menor sea el valor de la conversión mejor será el lote de producción. Aplicando un muestreo aleatorio simple se

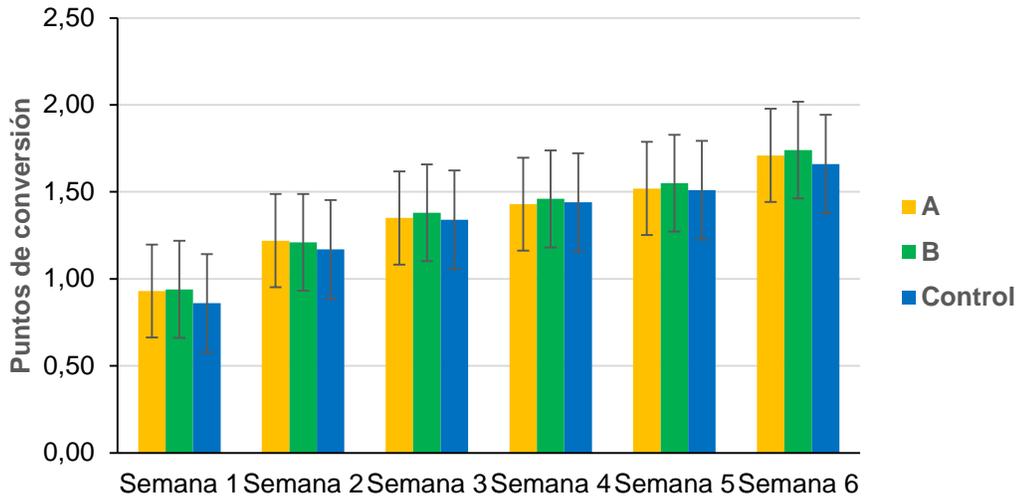
determinó que el tamaño de la muestra para cada tratamiento debía ser de 140 aves, las cuales fueron pesadas en grupos de 5 (Figura 11); con este valor y los datos de consumo (cantidad fija de alimento suministrado a todos los grupos) se calculó la conversión.

Figura 11. Pesaje de los pollos al día 42 para cierre de lote



Los resultados obtenidos en la semana 6 (Figura 12) muestran una mejor conversión para el tratamiento control (1,66) con una diferencia de 0,05 puntos con el aditivo A (1,72). Analizando los resultados con el método de Tukey los valores p muestran que existe una diferencia estadísticamente significativa en las variables peso y conversión entre el tratamiento con aditivo Control y el aditivo B (1,74), mientras que no existe diferencia estadísticamente significativa en estas variables entre los tratamientos control y aditivo A (Anexo H).

Figura12. Valores de conversión durante el ensayo para cada tratamiento



Como se observa en los datos de la Tabla 5, el mayor peso se obtuvo en el tratamiento con aditivo control, seguido del aditivo A; de manera inversa el menor consumo se registró en el tratamiento con aditivo control y nuevamente lo siguió el aditivo A; en el último lugar siempre quedo el aditivo B. Por tal motivo al calcular la relación de estos dos valores el mejor puntaje para la conversión es para el tratamiento control; al demostrar que estadísticamente no existe una diferencia significativa entre el tratamiento control y el aditivo A en cuanto a la conversión, se puede decir que el aditivo A no afecta de forma negativa el desempeño de las aves.

Por lo tanto todos los resultados obtenidos durante el ensayo para el tratamiento aditivo A hace que sea un potencial remplazo para los antibióticos promotores de crecimiento; y adicionalmente tiene como atributo que la *Lippia origanoides* reduce las emisiones de amoniaco en los galpones avícolas. Lo que lo convierte en una alternativa como aditivo funcional natural para ser utilizado en la industria avícola, sin riesgos de crear resistencia bacteriana, ni efectos residuales, ya que el carvacrol y el timol son degradados a metabolitos inactivos y así son excretados en la orina (90%) o expirados por los pulmones (10%) en forma de CO₂ (30).

5. CONCLUSIONES

La adición del AEL como aditivo en el alimento de los pollos de engorde (tratamientos A y B) aumentan los recuentos de la bacteria probiótica *Lactobacillus sp.* y disminuye los de la bacteria patógena y formadora de amoníaco *Escherichia coli*, por lo tanto el AEL actúa como un regulador positivo de la microbiota de los pollos.

El uso de HMS como aditivo en el tratamiento A aumenta significativamente los recuentos de *Lactobacillus sp.* en un 20,23% respecto al aditivo B (sin HMS), confiriéndole al producto características prebióticas favorables para el desempeño de los pollos.

Al utilizar el AEL los niveles de amoníaco que se forman en las granjas de engorde son menores si se comparan con un alimento control que contiene APC.

El tratamiento A no afecta el desarrollo de los pollos y el tratamiento B tuvo un ligero efecto negativo del 6% en la conversión.

Usar un aditivo natural con AEL + Maltodextrina + HMS resulta ser una potencial alternativa como remplazo para los APC, ya que mantienen en equilibrio benéfico la microbiota intestinal permitiendo que la formación de amoníaco en los galpones avícolas disminuya, contribuyendo así a mitigar los olores ofensivo y la contaminación de los suelos y cuerpos de agua que se generan por la volatilización de este gas; adicionalmente los parámetros productivos de las aves no se ven afectados de forma negativa.

REFERENCIAS

1. Aguilera, M. Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: instituciones, organizaciones y tecnología. Cartagena : Banco de la Republica: Centro de estudios Económicos Regionales, 2014.
2. Mojica, A y Paredes, J. Características del sector avícola colombiano y su reciente evolución en el departamento de Santander. Bucaramanga : Centro Regional de estudios Económicos del Banco de la Republica, 2005.
3. Zavala, O. Adición de bacterias biocontroladoras (Oxydol) para el control de amoníaco en cama de pollos. Guayaquil : Universidad de Santiago de Guayaquil, 2014.
4. Zambrano, J. Alternativas para disminuir la emisión de amoníaco en granjas avícolas en el Cantón Balsas. Guayaquil : Tesis para optar al título de Magister en Impactos Ambientales de la Universidad de Guayaquil, 2012.
5. Merchan, I y Quezada, J. Reducción de amoníaco de la pollinaza de pollos broiler mediante adición de zeolita en la ración alimenticia durante el periodo de crianza en la parroquia Paccha del canton Cuenca, provincia del Azuay. Ecuador : Tesis de grado para obtener el título de Ingeniero Ambiental. Universidad Politecnica Salesiana., 2013.
6. Quintero, D. Tratamientos Ambientales con biocatalizadores orgánicos en el sector avícola. Bogota : Revista Plumazos, 2012. págs. 8 - 14.

7. Cepero, R. Retirada de los antibioticos promotores de crecimiento en la unión Europea: causas y consecuencias. Zaragoza : Facultad de Veterinaria. Departamento de producción animal y ciencia de los alimentos. Universidad de Zaragoza, 2006.
8. Roldan, L. Evaluación del uso de los aceites esenciales como alternativa al uso de los antibioticos promotores de crecimiento en pollos de engorde. Bogota : Trabajo de grado para optar al título de Magister en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia, 2010.
9. Shiva, C, y otros. Evaluación del aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) y extracto deshidratado de Jengibre (*Zingiber officinale*) como potenciales promotores de crecimiento en pollo de engorde. Lima : Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2012.
10. Medina, Y y Correa, A. Efecto de Nat Bio Esencial como modulador de la flora intestinal de pollo de engorde. Datos No publicados. Bucaramanga : Promotora de Innovación en Biotecnología S.A.S, 2014.
11. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Resolución 1541. Colombia : s.n., 2013.
12. Duque, C. Guia Ambiental para el subsector avícola. 2° ed. Bogota : Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Federación Nacional de Avicultores y Fondo Nacional de Avicultores, 2014.
13. Hómez, J. Formulación de un plan de Buenas Practicas Ambientales para la prevención, control y seguimiento de la generación de olores ofensivos en el subsector avícola. Bogota. : Trabajo de Grado para optar al título de Master en Ingeniería Ambiental. Unversidad Nacional de Colombia., 2014.

14. Federación Nacional de Avicultores-Fondo Nacional de Avicultores. Guía Ambiental para el subsector avícola. Resolución 1023. Bogota : Ministerio del Medio Ambiente, 2005.
15. Federación Nacional de Avicultores. Manual de Buenas Practicas disponibles para la mitigación de olores en la industria avícola. Colombia : s.n., 2014.
16. Campos, E, y otros. Guía de los tratamientos de las deyecciones ganaderas. Catalunya : Centre UdL- IRTA, Area de Ingeniería Ambiental, 2004.
17. Jaramillo, A. Evaluación de la mezcla de un probiotico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos de pollo de engorde. Ibagué : Trabajo de grado para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, 2011.
18. Mohni, M. Microflora gastrointestinal y su influencia en el hospedante. Austria : Biomin Newsletter, 2011.
19. Barley, Richard. Salud intestinal en aves domesticas - El mundo interno. EEUU : Aviagen, 2013.
20. Ariza, C, y otros. Capitulo 2: Caracterización de los aceites esenciales del cordón del Alto Patía. Bogota : Revista Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, 2011.
21. Zekaira, D. Los aceites esenciales una alternativa a los antimicrobianos. Barcelona, España : Laboratorios Calier, 2012.
22. Vega, N. Estructura poblacional de *Lippia organoides* H.B.K en el cañón del río Chicamocha (Boyaca & Santander, COL). Bogota : Trabajo de grado para optar

al título de Magister en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia., 2011.

23. Acosta, A y Carreño, L. Estudio comparativo de los extractos y aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.Bk., *Zingibero officinale* y *Rosmarinus officinalis* L., como agentes antioxidantes de polvos compactos. Bucaramanga : Tesis de Grado para optar al título de Químico. Universidad Industrial de Santander., 2011.

24. Lee, K, y otros. Effect of dietary essential oils on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Holanda : Departament of Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine. Utrechth University., 2003.

25. Ariza, C, y otros. Capitulo 3: Aceites esenciales de orégano como modulador del tracto gastrointestinal de pollos de Engorde. Bogota. : Revista Corpoica., 2011.

26. Betancourt, I, y otros. Capitulo 4: Aceites esenciales de orégano como reguladores de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos de engorde. Bogota. : Revista Corpoica., 2011.

27. Betancourt, L, y otros. Efecto de diferentes niveles de aceites esenciales de *Lippia origanoides kunth* en pollos de engorde. Bogota : Revista MVZ, 2012.

28. Aviagen. Manual Broiler: objetivos de rendimiento linea Ross 308. Estados Unidos : Ross Aviagen, 2014.

29. Gomez, A y Lopez, A. Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*Oregano vulgatum*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Puebla : Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, 2009.

30. Betancourt, L. Evaluación de aceites esenciales de orégano en la dieta de pollos de engorde. Bogota : Tesis Presentada como requisito para optar al título de Doctor en Ciencias . Universidad Nacional de Colombia, 2012.

BIBLIOGRAFIA

ACOSTA, A y CARREÑO, L. Estudio comparativo de los extractos y aceites esenciales de *Lippia organoides* H.Bk., *Zingibero officinale* y *Rosmarinus officinalis* L., como agentes antioxidantes de polvos compactos. Bucaramanga: Tesis de Grado para optar al título de Químico. Universidad Industrial de Santander. 2011.

AGUILERA, M. Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: instituciones, organizaciones y tecnología. Cartagena: Banco de la Republica: Centro de estudios Económicos Regionales. 2014.

ARIZA, C, y otros. Capítulo 3: Aceites esenciales de Orégano como modulador del tracto gastrointestinal de pollos de Engorde. Bogotá. : Revista Corpoica. 2011.

BARLEY, Richard. Salud intestinal en aves domésticas - El mundo interno. EEUU: Aviagen. 2013.

BETANCOURT, I, y otros. Capítulo 4: Aceites esenciales de orégano como reguladores de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos de engorde. Bogotá. : Revista Corpoica. 2011.

JARAMILLO, A. Evaluación de la mezcla de un probiótico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos de pollo de engorde. Ibagué: Trabajo de grado para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia. 2011.

LEE, K, y otros. Effect of dietary essential oils on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Holanda: Department of Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine. Utrechth University. 2003.

MEDINA, Y y CORREA, A. Efecto de Nat Bio Esencial como modulador de la flora intestinal de pollo de engorde. Datos No publicados. Bucaramanga: Promotora de Innovación en Biotecnología S.A.S. 2014.

MERCHAN, I y QUEZADA, J. Reducción de Amoniaco de la pollinaza de pollos broiler mediante adición de zeolita en la ración alimenticia durante el periodo de crianza en la parroquia Paccha del cantón Cuenca, provincia del Azuay. Ecuador: Tesis de grado para obtener el título de Ingeniero Ambiental. Universidad Politécnica Salesiana. 2013.

MOHNI, M. Microflora gastrointestinal y su influencia en el hospedante. Austria: Biomin Newsletter. 2011.

MOJICA, A y PAREDES, J. Características del sector avícola colombiano y su reciente evolución en el departamento de Santander. Bucaramanga: Centro Regional de estudios Económicos del Banco de la Republica. 2005.

ROLDAN, L. Evaluación del uso de los aceites esenciales como alternativa al uso de los antibióticos promotores de crecimiento en pollos de engorde. Bogotá: Trabajo de grado para optar al título de Magister en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. 2010.

ZAMBRANO, J. Alternativas para disminuir la emisión de Amoniaco en granjas avícolas en el Cantón Balsas. Guayaquil: Tesis para optar al título de Magister en Impactos Ambientales de la Universidad de Guayaquil. 2012.

ANEXOS

Anexo A. Diseño de corrales

GALPON 1	GALPON 2	GALPON 3	GALPON 4
CONTROL 2937 pollos	TRATAMIENTO A 2964 pollos	TRATAMIENTO B 2391 pollos	CONTROL 1586 pollos
TRATAMIENTO B 2937 pollos	CONTROL 2964 pollos	TRATAMIENTO A 2391 pollos	CONTROL 1586 pollos
TRATAMIENTO A 2937 pollos	TRATAMIENTO B 2964 pollos	CONTROL 2391 pollos	TRATAMIENTO B 1586 pollos
CONTROL 2937 pollos	TRATAMIENTO A 2964 pollos	TRATAMIENTO B 2391 pollos	TRATAMIENTO A 1586 pollos

Los tratamientos se identificaron por colores:

Tratamiento Control: azul

Tratamiento A: amarillo

Tratamiento B: verde

El tiempo de duración del ensayo fueron 6 semanas.

Anexo B. Composición de los aditivos experimentales

Tratamiento aditivo A

- Inicio
Aceite Esencial de Lippia 50 ppm
Maltodextrina + HMS
- Engorde
Aceite Esencial de Lippia 100 ppm
Maltodextrina + HMS

Tratamiento Aditivo B

- Inicio
Aceite Esencial de Lippia 50 ppm
Maltodextrina
- Engorde
Aceite Esencial de Lippia 100 ppm
Maltodextrina

Control

- Alimento comercial para pollo de engorde sin ningún aditivo natural. Se utilizará como blanco o testigo para todas las variables.

Anexo C. Protocolo toma de muestras de heces

1. Rotular una bolsa Ziploc de la siguiente manera: fecha de la recolección de las muestras, número del Galpón, y el nombre (Microbiología o Coccidia) dependiendo el análisis que se va hacer.
2. Para análisis de Microbiología se debe tomar una muestra de 20 gr aproximadamente, si es para recuento de ooquistes de *Eimeria sp.* se debe tomar una muestra aproximada de 10 gr.
3. La toma de las muestra debe hacerse de extremo a extremo del salón; se realiza un recorrido en zig-zag a lo largo de este, con el fin de tener una muestra universo la cual debe estar compuesta aproximadamente entre 10 a 15 recolecciones.
4. Utilizando guantes de Latex se toman las muestras con la mano y se depositan en la bolsa Ziploc, una vez recolectadas todas las 15 muestras se deben mezclar para garantizar una muestra homogénea.
5. Las muestras deben colocarse en una cava hermética con gel refrigerante y garantizar la cadena de frio hasta el momento del análisis.

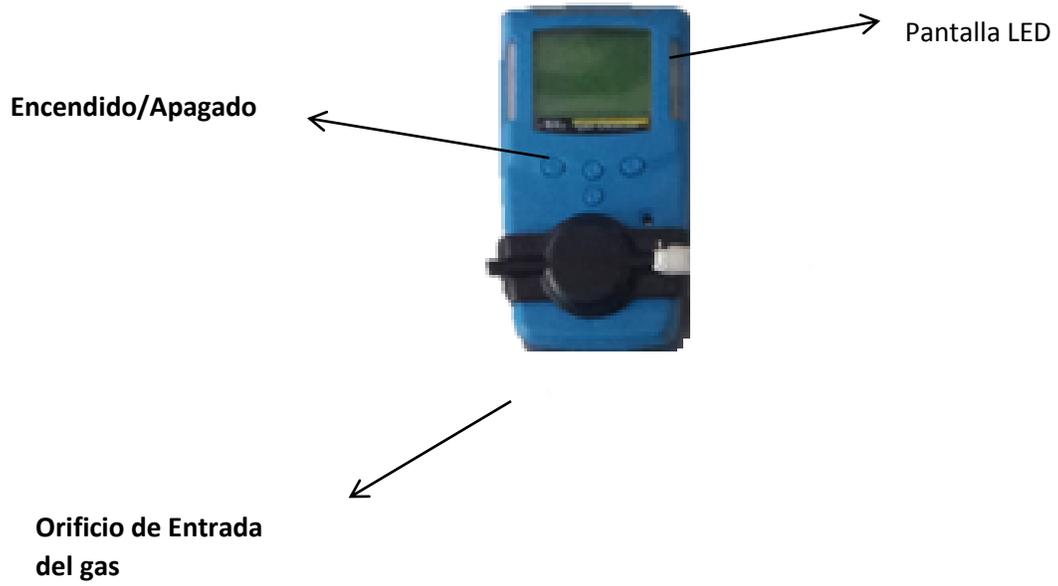

Microbióloga Industrial - PUJ
Coordinadora de Calidad

Anexo D. Protocolo de medición de gas

Las mediciones se realizan con un equipo detector de gas: amoníaco (NH_3). El cual funciona de la siguiente manera:

1. El equipo se debe encender (manteniendo oprimido el botón de encendido/apagado hasta que el equipo vibre y se ilumine la pantalla) en un lugar en donde no haya presencia de este gas (para estos efectos encenderlo dentro de un lugar cerrado: casa de vivientes, oficina, baños, automóvil, etc.).
2. La persona que va a realizar la medición se debe desplazar con el equipo encendido dentro del galpón y elegir un lugar estratégico (puede ser en el centro del galpón).
3. Se coloca el detector a la altura del pico de las aves y se deja expuesto durante 15 minutos. Esperar a que se observe el valor fijo en la pantalla y tomar el dato. Realizar el mismo procedimiento en los otros puntos seleccionados en cada galpón o salón. Estos se reportan en ppm del respectivo gas.
4. Para colocar en cero el equipo una vez tomado el primer valor, se debe oprimir el botón de encendido y esperar a que se vea el 0 en la pantalla, y proceder a realizar la siguiente medición.
5. El equipo se apaga dejando oprimido el botón de encendido/apagado hasta que se ejecute la tarea.
6. Una vez finalizadas las mediciones y apagado el equipo se debe realizar la purga de la manguera. Se retira la manguera y se bombea aire durante 1 minuto en un sitio en donde no haya presencia de este gas (puede ser en el mismo en donde se debe encender el equipo).

Detector de gas (NH₃)



Juliana M. Medina S.

Microbióloga Industrial - PUJ
Coordinadora de Calidad

Anexo E. Análisis con la prueba de Tukey para los datos microbiológicos de la semana 3, 4, 5 y 6

Semana 3	Hipótesis	P(> Z)	Nivel de significancia	Semana 5	Hipótesis	P(> Z)	Nivel de significancia
<i>E. coli</i>	B - A	<2E-16	P<0,05	<i>E. coli</i>	B - A	0,987	P<0,05
	C - A	<2E-16			C - A	0,000191	
	C - B	<2E-16			C - B	0,000448	
<i>Clostridium sp.</i>	B - A	1,01E-05		<i>Clostridium sp.</i>	B - A	1	
	C - A	<1E-05			C - A	0,391	
	C - B	<1E-05			C - B	0,404	
<i>Lactobacillus sp.</i>	B - A	<2E-16		<i>Lactobacillus sp.</i>	B - A	0,04542	
	C - A	<2E-16			C - A	0,00555	
	C - B	<2E-16			C - B	0,60946	
Semana 4	Hipótesis	P(> Z)	Nivel de significancia	Semana 6	Hipótesis	P(> Z)	Nivel de significancia
<i>E. coli</i>	B - A	0,9042	P<0,05	<i>E. coli</i>	B - A	0,99983	P<0,05
	C - A	<0,001			C - A	0,00394	
	C - B	0,00256			C - B	0,00361	
<i>Clostridium sp.</i>	B - A	0,967		<i>Clostridium sp.</i>	B - A	0,998	
	C - A	0,274			C - A	0,355	
	C - B	0,413			C - B	0,386	
<i>Lactobacillus sp.</i>	B - A	0,584		<i>Lactobacillus sp.</i>	B - A	0,000129	
	C - A	0,112			C - A	<1E-04	
	C - B	0,596			C - B	0,672446	

Nota: los resultados que son estadísticamente significativos se encuentran sombreados con gris.

Anexo F. Análisis con la prueba de Tukey para los datos de producción de amoniaco

Semana 3		
Hipótesis	P (> Z)	Nivel de significancia
B - A	1	P<0,05
C - A	0,972	
C - B	0,972	
Semana 4		
Hipótesis	P (> Z)	Nivel de significancia
B - A	0,6088	P<0,05
C - A	0,0057	
C - B	0,0445	
Semana 5		
Hipótesis	P (> Z)	Nivel de significancia
B - A	0,19007	P<0,05
C - A	< 0,001	
C - B	0,00863	
Semana 6		
Hipótesis	P (> Z)	Nivel de significancia
B - A	0,0725	P<0,05
C - A	< 0,001	
C - B	< 0,001	

Nota: los resultados que son estadísticamente significativos se encuentran sombreados con gris.

Anexo G. Resultados zootécnicos del estudio

MODULADOR A							
Aves iniciales	12842	Peso inicial	37g				
Semana	Bultos semana	Bultos acumulado	Consumo ave/semana g	Consumo ave/día g	Consumo acumulado g	Peso g	Conversión
1	39	39	123,50	17,64	123,50	132,3	0,93
2	82	121	262,13	37,45	386,80	315,76	1,22
3	154	275	494,94	70,71	883,82	653,02	1,35
4	218	493	702,83	100,40	1589,43	1110,5	1,43
5	327	820	1057,40	151,06	2651,58	0	1,52
6	0	820	0	0	4329,63	1746,2	1,71
2528							
MODULADOR B							
Aves iniciales	12269	Peso inicial	37g				
Semana	Bultos semana	Bultos acumulado	Consumo ave/semana g	Consumo ave/día g	Consumo acumulado g	Peso g	Conversión
1	37	37	122,64	17,52	122,64	129,98	0,94
2	77	114	259,24	37,03	383,81	314,98	1,22
3	147	261	504,89	72,13	896,45	646,64	1,39
4	199	460	690,43	98,63	1595,98	1086,93	1,47
5	300	760	1048,40	149,77	2655,95	1709,8	1,55
6	0	760	0	0	4334,98	2483	1,75
CONTROL							
Aves iniciales	14401	Peso inicial	37g				

Semana	Bultos semana	Bultos acumulado	Consumo ave/semana g	Consumo ave/día g	Consumo acumulado g	Peso g	Conversión
1	44	44	124,24	17,75	124,24	143,92	0,86
2	91	135	262,80	37,54	389,86	331,95	1,17
3	168	303	501,94	71,71	905,29	673,17	1,34
4	224	527	679,82	97,12	1599,39	1112,22	1,44
5	343	870	1047,09	149,58	2655,88	1763,17	1,51
6		870	0,00	0,00	4271,6	2573,00	1,66

Anexo H. Análisis de los datos con la prueba de Tukey para los resultados zootécnicos de conversión

Hipótesis	P ($> Z$)	Nivel de significancia
B - A	0,711	P<0,05
C - A	0,128	
C - B	0,016	

Nota: los resultados que son estadísticamente significativos se encuentran sombreados con gris.