



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

### **MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**El uso de ácidos orgánicos en dietas para gallinas, efecto en el pH  
intestinal, rendimiento productivo, tiempo de tránsito e integridad  
intestinal.**

#### **TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A:  
BADHÍ MORALES LINARES**

#### **TUTOR:**

**MP. ARTURO CORTÉS CUEVAS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

#### **COMITÉ TUTORAL:**

**MSc. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Dr. MARIANO GONZÁLES ALCORTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**MEXICO, D.F.**

**MARZO 2013**

## **DECLARACIÓN**

Doy mi consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que esta tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

**Atentamente**

---

**Badhí Morales Linares**

## D E D I C A T O R I A

Primeramente quiero dedicar este trabajo a DIOS quien me ha permitido conseguir mis metas, proporcionándome las herramientas necesarias para enfrentar cada uno de los retos que la vida con sus altas y bajas pone en nuestro camino.

Quiero dedicar este trabajo a dos personitas muy importantes en mi vida las cuales le han dado una luz y un camino muy especial a la misma, me han enseñado que todo es posible si se trabaja y se lucha por conseguir los objetivos que uno se traza en la vida. LOS AMO IVANA Y ALAN.

De la misma quiero dedicarle este trabajo a una persona muy especial, la cual ha recorrido una parte muy importante de su vida a mi lado y ha estado en los buenos y malos momentos sin dejar de creer en lo que tenemos y somos. TE AMO DIANA LIZBETH.

De igual forma quiero dedicar este trabajo a la persona que me ha conocido durante 29 años y me ha guiado por este mundo el cual no es nada fácil, pero gracias a ella estoy hoy aquí, logrando un objetivo más en mi vida y sin duda alguna me ha enseñado lo que es el amor de una madre. GRACIAS MAMÁ TE AMO.

A mis hermanas que siempre me han brindado su apoyo para poder seguir logrando los objetivos que me he trazado. LAS AMO FABIOLA Y BELÉN.

## A G R A D E C I M I E N T O S

Quisiera antes que todo agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM por darme todas las herramientas necesarias para ser un profesionalista.

Al Doctor Arturo Cortés Cuevas por su apoyo, ya que forma una parte muy importantes en la realización de este trabajo.

Al Doctor Ernesto Ávila Gonzáles por permitirme trabajar con el y darme todo su apoyo para la realización de este trabajo.

Al Doctor Mariano Gonzáles Alcorta por sus consejos que me ayudan a mejorar como preofesionista.

Al Dr. Carlos López Coello por todos sus consejos y apoyo durante mis estudios de maestría.

A mis sinodales que con sus consejos hicieron de este un mejor trabajo.

A la Dra. Odette Urquiza por su apoyo en mi trabajo de laboratorio.

Al Dr. Jorge Hernández por el apoyo brindado en el laboratorio de Histología.

Al Dr. Daniel Camacho por sus consejos y apoyo para la realización de este trabajo.

A la empresa Novus<sup>®</sup> International, Inc. por donar el producto utilizado en este trabajo y de esta manera hacer posible su realización.

## I N D I C E

	<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>1</b>	<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	Tipos de ácidos orgánicos	<b>9</b>
<b>2.2</b>	Ácidos Grasos de Cadena Media (AGCM)	<b>11</b>
<b>2.3</b>	Ácidos de cadena corta (AGCC) ó ácidos grasos volátiles (AGV)	<b>11</b>
<b>2.4</b>	Calidad de huevo	<b>16</b>
<b>2.5</b>	Integridad intestinal	<b>18</b>
<b>2.6</b>	El uso de acidificantes para el control de Salmonella	<b>20</b>
<b>2.7</b>	Mecanismos de acción de los acidificantes en contra de bacterias patógenas	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>HIPOTESIS</b>	<b>25</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS GENERALES</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>27</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>29</b>
<b>6.1</b>	<b>Obtención de muestras de tejido y fijación</b>	<b>31</b>
<b>6.2</b>	<b>Procesamiento de los tejidos</b>	<b>31</b>
<b>6.3</b>	<b>Histometría</b>	<b>32</b>
<b>6.4</b>	<b>Toma de muestras para aislamiento bacteriológico</b>	<b>32</b>
<b>6.5</b>	<b>Análisis bacteriológico</b>	<b>33</b>
<b>6.6</b>	<b>Calidad de huevo (externa e interna)</b>	<b>33</b>
<b>6.7</b>	<b>Determinación de pH</b>	<b>34</b>
<b>6.8</b>	<b>Tiempo de tránsito intestinal</b>	<b>34</b>

<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>8</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>41</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>47</b>
<b>10</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA CITADA</b>	<b>49</b>
<b>11</b>	<b>CUADROS</b>	<b>60</b>
<b>11.1</b>	<b>Cuadro 1.</b> Efecto de los ácidos orgánicos	<b>13</b>
<b>11.2</b>	<b>Cuadro 2.</b> Composición de la dieta basal empleada para gallinas (Postura 3)	<b>60</b>
<b>11.3</b>	<b>Cuadro 3.</b> Composición de la dieta basal empleada para gallinas (Postura 4)	<b>61</b>
<b>11.4</b>	<b>Cuadro 4.</b> Resultados promedio de % de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día y conversión alimenticia.	<b>61</b>
<b>11.5</b>	<b>Cuadro 5.</b> Resultados promedio de % de huevo roto, fáfara y sucio .	<b>62</b>
<b>11.6</b>	<b>Cuadro 6.</b> Resultados promedio de resistencia de cascarón, grosor de cascarón, pH de duodeno, pH de yeyuno, altura de vellosidades y tiempo de tránsito intestinal.	<b>62</b>
<b>11.7</b>	<b>Cuadro 7.</b> Datos promedios de Unidades Haugh, altura de la albumina y color de la yema.	<b>63</b>
<b>12</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>64</b>
<b>12.1</b>	Figura 1. Datos promedio de porcentaje de huevo roto.	<b>64</b>
<b>12.2</b>	Figura 2. Resultados de porcentaje de huevo sucio.	<b>64</b>
<b>12.3</b>	Figura 3. Resultados de porcentaje de huevo fáfara	<b>65</b>
<b>12.4</b>	Figura 4. Resultados de altura de la albumina	<b>65</b>
<b>12.5</b>	Figura 5. Resultados del color amarillo de la yema	<b>66</b>
<b>12.6</b>	Figura 6. Resultados de pH de yeyuno	<b>66</b>

## MORALES LINARES BADHÍ. El uso de ácidos orgánicos en dietas para gallinas, efecto en el pH intestinal, rendimiento productivo, tiempo de tránsito e integridad intestinal.

### Resumen.

Con el objeto de investigar la adición de diferentes ácidos orgánicos (AO) (ácido fumárico, fórmico, benzoico, sórbico) en la dieta como en el agua de bebida en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White, para evaluar la calidad del huevo (interna y externa), parámetros productivos y observar el efecto en el pH intestinal, tiempo de tránsito intestinal, integridad intestinal y la presencia de *Salmonella spp*, como alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento (bacitracina zinc), se realizó el siguiente experimento. Se utilizaron 432 gallinas adultas de 70 semanas de edad alojadas en jaulas, las cuales se distribuyeron en 6 tratamientos con 6 replicas de 12 aves cada una. Los tratamientos fueron T1.- Dieta testigo negativo sorgo- soya, T2.- Como 1 + antibiótico promotor (bacitracina zinc 30ppm), T3.- Como 1 + 2 Kg/ton de AO A (mezcla de ácido fumárico y ácido benzoico), T4.- Como 1 + 0.6 Litros de AO B (mezcla de ácido fórmico y ácido propiónico)/m<sup>3</sup> T5.- Como 1 + 2 kg/ton de AO C (mezcla de ácidos fórmico, fumárico y sórbico), T6 Como 1 + 0.6 lts. de AO B+ 2 Kg de AO C (mezcla de ácidos propiónico, fórmico, fumárico y sórbico). Se empleó un diseño experimental completamente al azar, se midieron las variables productivas; porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día, conversión alimentaria, pH intestinal (duodeno y yeyuno), tiempo de tránsito intestinal y altura de las vellosidades. Además se midieron los porcentajes de huevo roto, huevo sucio, huevo fáfara, resistencia de cascarón, grosor de cascarón, altura de la albumina, Unidades Haugh y color de la yema, para las cuales se empleó un diseño experimental con parcelas divididas. Los resultados promedios obtenidos en 12 semanas de experimentación, para porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día, conversión alimentaria, resistencia de cascarón, grosor de cascarón, Unidades Haugh, pH de duodeno no mostraron diferencia ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos. Sin embargo, para las variables de porcentaje de huevo roto, huevo fáfara, huevo sucio, altura de la albúmina, color de la yema y pH de yeyuno se encontró diferencia ( $P < 0.01$ ) entre tratamientos; los resultados obtenidos del aislamiento bacteriológico enfocado para la detección de *Salmonella* en diferentes órganos (bazo, hígado, pulmón, corazón e intestino) resultaron negativos para todos los tratamientos. De los resultados obtenidos y bajo las condiciones empleadas en el presente estudio, se puede concluir que el uso de ácidos orgánicos en el alimento y agua de bebida, no afectó el rendimiento productivo y a la vez tuvo un efecto positivo en el porcentaje de huevo roto, huevo sucio, huevo fáfara, altura de la albúmina, color de la yema y pH en yeyuno, por lo que el uso de estos ácidos orgánicos son una buena alternativa como reemplazo a los promotores de crecimiento (bacitracina zinc) en dietas para gallinas de postura de 70 semanas de edad.

## 1. ABSTRACT.

### THE USE OF ORGANIC ACIDS IN DIETS FOR LAYING HENS EFFECT IN THE INTESTINAL PH, PRODUCTIVE PERFORMANCE TIME OF INTESTINAL TRANSIT AND INTESTINAL INTEGRITY

In order to investigate the addition of different organic acids (OA) (propionic acid, fumaric, formic, benzoic, sorbic) not only in the food, but also in the drink water in laying hens to evaluate the quality of egg (internal and external), productive parameters and observe the effect in the intestinal pH, time of intestinal transit, intestinal integrity and the presence of *Salmonella spp*, as an alternative to the use of promoter antibiotic of growing (bacitracin zinc). The following experiment was made with birds of a commercial stock housed in cages. In this experiment were used 432 hens of 70 weeks of age housed in cages of the stock Bovans (3 birds/cages) in which were distributed in 6 treatments with six replicates of 12 birds each one. The treatments were: T<sub>1</sub>- Diet negative witness sorghum-soybean meal, T<sub>2</sub> as 1 + promoter antibiotic (bacitracin zinc 30 ppm), T<sub>3</sub> as 1+2 Kg/Ton of OA A (mixture of fumaric acid and benzoic acid), T<sub>4</sub> as 1+0.6 liters of OA B (mixture of formic acid and propionic acid)/m<sup>3</sup>, T<sub>5</sub> as 1+2 Kg/Ton of OA C (mixture of formic acid, fumaric and sorbic) and T<sub>6</sub> as 1 + 0.6 liters of OA B+2 Kg of OA C (mixture of propionic acid, formic, fumaric and sorbic). An experimental design at randomized was employed. The productive variables were measured: Percentage of stance egg weight, egg mass. consumption/bird/day, food conversion, intestinal pH (duodenum and jejunum) time of intestinal transit and villus height. The percentage of broken egg were also measured, dirty egg, soft shelled egg, eggshell strength, eggshell thickness, height of albumin, units Haugh, and color of yolk, in which a design of divided plots was employed. The average results in 12 weeks of experimentation for percentage , egg weight, egg mass, consumption/bird/day, feed conversion, eggshell strength, eggshell thickness, units Haugh, duodenum pH didn't show difference (P>0.05) among treatments. However, for the variables of percentage of broken egg, soft shelled egg, dirty egg, albumin height, color of yolk an jejunum pH exist difference among treatments (P<0.01); the results from the bacteriological isolation focused on the detection of *Salmonella* in different organs (spleen, liver, lung, heart and intestine) were negative in all treatments. The results of this study and under the conditions employed, the conclusions about the use of organic acids in the food and water drink not affected the productive performance and at the same time it had a positive effect in the percentage of broken egg, dirty egg, soft shelled egg, height of albumin, color's yolk and pH in jejunum, therefore the use of this organic acids are an alternative instead of growing promoters (bacitracin zinc) in laying hens diets from 70 weeks old.



## **2. Introducción.**

En las últimas 5 décadas se han empleado los antibióticos a dosis bajas en el alimento de las aves con fines de promoción del crecimiento, la eficiencia en su conversión alimenticia y para protegerlas de microorganismos patógenos intestinales, aunque actúen también contra los no patógenos, hechos que han llevado a un sinnúmero de investigaciones sobre los efectos benéficos de estas prácticas sobre el crecimiento y flora normal de las aves y las implicaciones que tienen en salud pública, debido a que el uso continuo de estos en niveles subterapéuticos, han creado preocupación por el aumento de residuos de estos mismos y con esto provocando el desarrollo de bacterias resistentes a estos mismos promotores y una reducción de la capacidad de eliminar enfermedades bacterianas en los humanos. Conociendo la problemática del uso no controlado de antibióticos, se han estimulado a buscar nuevas alternativas para la disminución de estos productos en la alimentación animal.<sup>1 y 2</sup>

En la búsqueda de sustitutos de antibióticos como promotores de crecimiento en la alimentación de los animales, se ha encontrado que una buena opción son los ácidos orgánicos. Estos han sido utilizados como aditivos alimenticios y preservadores para darles a los alimentos una vida más duradera en anaquel. Otra de sus propiedades es el control de la contaminación y difusión microbiana de patógenos<sup>3</sup>.

Distintos ácidos orgánicos, en especial aquellos de cadena corta tienen propiedades antimicrobianas similares a los antibióticos, con diferencias de que dependen de un pH ácido para ejercer su máxima acción<sup>4</sup>

Los acidificantes pueden tener una influencia positiva en la producción ganadera, ya que pueden limitar la proliferación de bacterias y otros microorganismos

patógenos o nocivos. Al mismo tiempo, es muy difícil prever las complejas interacciones que pueden darse entre ácidos orgánicos y otros componentes del alimento, así como la influencia de éstos en el metabolismo del animal y la microflora saprófita.<sup>5</sup>

Los ácidos orgánicos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza como constituyentes habituales en los tejidos vegetales o animales. También se producen a partir de la fermentación microbiana de los hidratos de carbono, principalmente en el intestino grueso. Estos ácidos orgánicos deben de estar en su forma no disociada (no-ionizada) para ejercer su efecto bactericida. De esta forma el ácido penetra hacia la célula a través de la pared celular disminuyendo el pH interno causando la lisis de la bacteria.<sup>7</sup>

El efecto que pueden ocasionar los ácidos orgánicos en la reducción del pH y la actividad antimicrobiana varia considerablemente dependiendo del estado de disociación de cada uno de ellos.

## **2.1 Tipos de ácidos orgánicos:**

Ácidos grasos de cadena media

Ácidos grasos de cadena corta

## **2.2 Ácidos Grasos de Cadena Media (AGCM)**

Este tipo de ácidos orgánicos que se están utilizando en la actualidad son los AGCM. Resultados in vitro, han demostrado que los AGCM (caproico, caprílico y cáprico) son efectivos en la inhibición de ciertas bacterias patógenas, como E. coli, y C. perfringens, por lo que podrían ejercer un efecto positivo sobre la población microbiana. Estos ácidos orgánicos, tienen la capacidad de interaccionar con la membrana celular, por sus mayores propiedades lipofílicas que los AGCC, y así aumentar la polaridad de esta región de la membrana celular que permite el reflujo de protones al interior de la célula. Este aumento de la polaridad dificulta la absorción de nutrientes y contribuye a alterar el metabolismo y a la ruptura celular<sup>8</sup>. También funcionan como intermediarios en el ciclo de Krebs (cítrico, málico, fumárico) pueden servir como fuentes de energía para el animal en dosis relativamente elevadas, y aporta beneficios adicionales en la nutrición aviar (mejoran la digestión de la proteína, estimulan las secreciones del páncreas, además forman quelatos con minerales).<sup>9</sup>

## **2.3 Ácidos grasos de cadena corta (AGCC) o ácidos grasos volátiles (AGV)**

Los ácidos grasos volátiles constituyen los principales productos de la fermentación animal, principalmente de los hidratos de carbono. Los AGV primarios son el acético, propiónico y butírico. Con frecuencia los AGV son denominados como sus iones disociados, acetato, propionato y butirato. Otros AGV cuantitativamente menores pero metabólicamente importantes son: el valérico, isovalérico, isobutírico y el 2 metil butírico<sup>10</sup>. Hasta hace poco el uso de

ácidos grasos de cadena corta y mediana fue basado en gran parte sobre sus características antimicrobianas y antifúngicas fuera del TD. <sup>11</sup>

Las concentraciones de estos y de la microflora son altos en el ciego y el pH es bajo en esta zona <sup>12</sup>. Recordando que el ácido úrico es el desecho final del metabolismo proteico en las aves. Este producto es empaquetado por medio de pequeñas esferas que pueden pasar con facilidad a través del riñón, después de entrar en la cloaca, estas esferas son movilizadas con la orina por antiperístasis hacia el recto y los ciegos, el ácido úrico se expone a la población de bacterias que pueden usar este producto como sustrato metabólico, y así estas bacterias lo degradan a los ácidos grasos volátiles y amoníaco. En este mecanismo la degradación subsecuente por las mismas bacterias proporciona un mecanismo eficaz en la recuperación del carbono y del nitrógeno de la orina. Los AGV son absorbidos por el tejido fino del ciego y el amoníaco se incorpora en la producción de glutamina. Son los productos finales del metabolismo de la propia flora anaerobia intestinal y su producción se puede incrementar añadiendo prebióticos y probióticos al alimento <sup>13</sup>. Los ácidos grasos de cadena corta se absorben rápidamente en más del 90% por el colonocito (en su forma protonada) por lo que también se acompaña de una importante absorción de sodio y agua, lo que disminuye la diarrea que se asocia a la mala absorción de carbohidratos <sup>14</sup>. El orden de utilización de los AGCC por el enterocito es butirato > acetato > propionato. <sup>15</sup>

En nutrición animal, los acidificantes y sus sales tienen la propiedad de ejercer su acción para un mejor rendimiento a través de tres diferentes vías, como se puede apreciar en el siguiente cuadro:

Cuadro 1: Efecto de los agentes acidificantes y sus sales sobre el alimento, tracto intestinal y metabolismo.

	Forma efectiva	Efecto
Alimento	H+	-Reducción de pH -Reducción de la capacidad de unión del ácido
	H+ y Anión	-Reducción de la carga bacteriana -Efecto antibacterial
Tracto intestinal	H+	-Reducción de pH en estómago y duodeno -Mejora la actividad de la pepsina
	Anión	-Agentes formadores de cationes (Ca <sup>++</sup> , Mg <sup>++</sup> , Fe <sup>++</sup> , Cu <sup>++</sup> , Zn <sup>++</sup> ) -Cambio en la Concentración microbiana.
	H y Anión	-Efecto antibacterial
Metabolismo		-Suministro de energía

Kirchgessner y Roth, 1988 <sup>16</sup>

Sánchez *et al.* 2011, realizaron un experimento durante 24 semanas con gallinas de la estirpe ISA-Babcock B-380 de 32 semanas de edad alojadas en piso, en

donde encontraron que la sustitución de antibiótico promotor de crecimiento (bacitracina cinc 30 ppm) por butirato de sodio a razón de 300g/ton tuvo un efecto similar ( $P>0.05$ ) entre tratamientos en algunos parámetros productivos como fueron porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día, conversión alimenticia, calidad de la albumina del huevo, color de la yema con el abanico DSM, grosor y peso del cascarón.<sup>17</sup>

Por otro lado Sánchez *et al.* 2009, obtuvieron resultados significativos ( $P<0.05$ ) en 10 semanas de experimentación con la adición de 500 ppm de butirato de sodio en la dieta para gallinas de la estirpe Bovans de 63 semanas de edad en comparación con los otros tratamientos (0 y 300 ppm de butirato de sodio) en porcentaje de postura, peso del huevo, consumo/ave/día, conversión alimenticia, porcentaje de microfracturas y de huevos rotos, longitud y ancho de vellosidades.<sup>18</sup>

Park KW *et al.* 2009, realizaron un estudio en gallinas de la estirpe Hy-Line Brown con la adición de 0.2% de Ácidos Orgánicos (AO) y observaron una diferencia estadísticamente significativa ( $P<0.01$ ) para la conversión alimenticia y el porcentaje de huevo roto con respecto a la dieta sin ácidos orgánicos; además de un aumento en la producción de huevo y la coloración del huevo.<sup>19</sup>

En un estudio realizado por Garcéz *et al.* 2010, evaluaron la adición de AO y mannanoligosacáridos (MOS) solos o en combinación con antibióticos en gallinas de postura Isa Brown de la semana 32 a la semana 52 de edad; y observaron que el uso de estos aditivos no tuvieron efecto ( $P>0.05$ ) entre tratamientos en las variables estudiadas como fueron peso corporal de la gallina, porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, conversión alimenticia

por docenera y por masa de huevo, calidad interna del huevo (color de la yema, altura de la albumina, Unidades Haugh), calidad externa del huevo (gravedad específica, y porcentaje de cascarón). Aunque cabe mencionar que se observó un efecto positivo ( $P < 0.05$ ) a la variable consumo de alimento, disminuyendo en los tratamientos adicionados con AO y MOS sin antibiótico con respecto a los otros tratamientos, sin observarse una alteración en el desarrollo y producción de las aves.<sup>20</sup>

Sengor *et al.* 2007, estudiaron el efecto de una mezcla de ácidos grasos de cadena corta, conformada principalmente por butirato de calcio, en dietas para gallinas reproductoras Bovans White de 66 semanas de edad a dosis de 1 Kg por tonelada en donde observaron que en las diferentes variables estudiadas (resistencia de huevo, porcentaje de postura, porcentaje de huevo sucio, porcentaje de huevo roto, porcentaje de huevo deforme y porcentaje de eclosión) mostró un efecto positivo ( $P < 0.05$ ) en relación al tratamiento testigo.<sup>21</sup>

En un estudio realizado por Światkiewicz *et al.* 2010<sup>22</sup>, investigaron la adición de diferentes aditivos en la dieta como Inulina, Oligofructosa, ácidos grasos volátiles (AGV) y ácidos grasos de cadena media (AGCM) y la combinación de estos, en 168 gallinas de la estirpe Bovans Brown de la semana 26 a la semana 70 de edad, en donde observaron que el uso de AGCM tuvo un efecto positivo ( $P < 0.05$ ) en las semanas 46, 58 y 70 de edad aumentando el porcentaje de cascarón, densidad y resistencia a la ruptura, mientras que para el grosor de cascarón, porcentaje de postura, masa de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia no mostró efecto alguno ( $P > 0.05$ ).<sup>22</sup>

## 2.4 Calidad de huevo

A causa de la selección genética, las diferentes estirpes de gallinas ponedoras varían significativamente en la calidad de cascarón, tamaño y producción del huevo. La selección de una característica ya sea de producción o peso de huevo puede afectar otras características como la calidad del cascarón. Por otra parte, las gallinas en la última etapa de producción (gallinas viejas) al producir huevo de mayor tamaño afectan directamente el grosor del cascarón lo que repercute en pérdidas económicas al incrementarse el porcentaje de huevos rotos durante el empaque y almacenamiento del huevo .<sup>23, 24</sup>

Las pérdidas por rotura de huevo en granjas comerciales oscila entre el 5 - 7% del total de la producción.<sup>20</sup>

Uno de los principales problemas en gallinas de postura adultas es la disminución de la calidad del cascarón.<sup>25</sup> Esto concuerda con diferentes estudios realizados en donde se ha demostrado que la calidad del cascarón disminuye cuando la gallina se encuentra en la última etapa del ciclo de producción.<sup>26-29</sup>

Se ha observado la incapacidad que la gallina adulta no sintetiza suficiente energía para producir un mejor cascaron de huevo y esto se ha relacionado con la actividad de 25-hidroxi-colecalciferol-1-hidroxilasa, una enzima implicada en la homeostasis del calcio.<sup>30</sup>

La modificación de la dieta puede reducir el tamaño del huevo, pero esto a su vez puede favorecer a la calidad del cascarón en gallinas adultas; por lo tanto el uso de algún suplemento puede mejorar la calidad del cascarón.<sup>31</sup>



Calcio y fósforo son importantes, seguidos de la vitamina D3, en el balance de electrolitos y de otros minerales en las aves de postura, por que se requieren para la formación de los huesos, del huevo y en especial del cascarón.<sup>32</sup>

Para gallinas jóvenes (22 a 40 semanas de edad), se recomiendan 3.4 g de calcio por ave día cuando están en el pico de producción y para gallinas viejas 3.7 g por ave día. Este mayor requerimiento con la edad aparentemente radica en una menor utilización de calcio, ya que en gallinas viejas donde se presenta principalmente los problemas de mala calidad de cascarón.<sup>32</sup>

Al-Batshan observó que el porcentaje en el contenido de cascarón disminuyó de 9.8 a 8.9% y el grosor decreció de 0.403 a 0.373 mm de la semana 22 a la semana 57 de edad.<sup>31</sup> Este problema se presenta principalmente en gallinas adultas, ya que la gallina es menos eficiente en la absorción de calcio debido a que se disminuye la activación de la 1,25 dehidroxicolecalciferol (calcitrol) a partir de vitamina D.<sup>25</sup>

Existen algunas formas de contrarrestar los problemas de calidad de cascarón en gallinas adultas, entre ellas determinar el nivel óptimo de calcio en la dieta; se ha demostrado que un nivel mayor al 4.0% se quiere para maximizar la calidad del cascarón.<sup>32, 33</sup>

Por otro lado, el asegurar un adecuado suministro de calcio al intestino durante las horas de la noche, cuando la gallina no consume alimento y el suministro de calcio al cascarón es el máximo, esto se puede lograr con el uso de fuentes de calcio menos solubles o de mayor tamaño de partícula.<sup>34-37</sup>

Cuca *et al.* 2007<sup>25</sup>, encontraron que con un consumo de calcio de 3.8 g día<sup>-1</sup> mejora la calidad de cascarón en aves de segundo ciclo. Es conveniente usar parte del carbonato de calcio granulado para mejorar la calidad del cascarón en gallinas pelechadas.

Por otro lado, se ha demostrado que el empleo de ácidos orgánicos en dietas para gallinas adultas mejora la absorción de calcio y fósforo a nivel intestinal, lo que conlleva a una mejor deposición de estos minerales para la formación del cascarón, esto debido a la disminución del pH en la parte superior del tracto intestinal y el efecto estimulante que presentan en la altura de las vellosidades intestinales.<sup>22, 38</sup>

## **2.5 Integridad intestinal.**

El tracto gastrointestinal es uno de los órganos más extenso y expuesto del cuerpo del animal, se ha estudiado el uso de diferentes aditivos en las dietas tales como los ácidos orgánicos para mejorar su funcionalidad y su integridad.<sup>39</sup>

La función del sistema digestivo es degradar los ingredientes de la dieta en compuestos que puedan ser absorbidos y usados por las aves. Como resultado de esta acción, los pollos de engorda son capaces de crecer y las gallinas pueden madurar sexualmente y producir huevos.<sup>30</sup>

La salud intestinal del pollo de engorda o gallina de postura, conocida también como integridad intestinal, es primordial en la crianza de pollos de engorda y gallina de postura y les permite alcanzar el peso y la producción de huevo esperada respectivamente para la línea genética en cuestión, favoreciendo la conversión alimenticia.<sup>40</sup>

Las aves son vulnerables a microorganismos potencialmente patógenos como *Sallmonella spp*, *E. Coli* y *Campylobacter spp* las cuales pueden producir problemas de diarrea. Además compiten por los nutrientes como por ejemplo el nitrógeno endógeno en el intestino delgado provocando una disminución en la función zootécnica del ave y una reducción en la digestión de nutrientes, por lo que se ha observado que una buena alternativa para el control de estas bacterias son los ácidos orgánicos.<sup>41 y 42</sup>

Los efectos de los ácidos orgánicos en el tracto intestinal son de dos tipos; el primero es la reducción del pH en el estómago y en el intestino delgado<sup>43 y 44</sup>; incrementa la actividad de enzimas en el estómago, acelerando el proceso de la conversión de pepsinógeno a pepsina lo que se ha visto que mejora la velocidad y tasa de absorción de proteínas, fibra, aminoácidos, calcio, fósforo, magnesio y zinc en cerdos y pollo de engorda, por otro lado el ácido al disociarse en la célula bacteriana y por la acumulación de los aniones de las sales inhibe el crecimiento microbiano y evitan el daño de las células epiteliales,  
16,45-52

En un estudio realizado con 315 pollos de un día de edad de la estirpe Cobb y 7 tratamientos con diferentes niveles y tipo de ácidos orgánicos se pudo observar que el tamaño de la vellosidades del duodeno, yeyuno e íleon aumentaron, aunque cabe mencionar que el tamaño de las vellosidades para el duodeno y yeyuno tuvo un efecto significativo ( $P < 0.05$ ), no así para el íleon; en comparación con el grupo control. El aumento de las vellosidades del duodeno, yeyuno e íleon se dieron cuando las aves fueron alimentadas con una dieta

suplementada con una mezcla de 3% de ácido butírico, 3% de ácido fumárico, y 2% de ácido fumárico.<sup>52</sup>

## **2.6 El uso de acidificantes para el control de Salmonella.**

En 1885 el Veterinario Daniel E. Salmon, descubrió la primera cepa de Salmonella proveniente del intestino de un cerdo, la cual nombro *Salmonella cholerasuis*. La Salmonella es un bacilo gram negativo móvil que no forma esporas además de ser un anaerobio facultativo.<sup>53</sup>

Cuando la infección se da por microorganismos como *Salmonella* en el tracto digestivo puede producir diarrea, septicemia y finalmente la muerte. La infección por vías respiratorias puede ocasionar neumonía, septicemia y eventualmente la muerte.<sup>54</sup>

En aves, *Salmonella typhimurium* daña la mucosa intestinal de los animales y causa pericarditis y perihepatitis. *Salmonella enteritidis* resulta en la necrosis del hígado y produce daño en los ciegos.<sup>53</sup>

Debido a que muchas cepas de *Salmonella spp.*, han generado resistencia a los antibióticos que tradicionalmente se utilizan en granjas, es necesario tomar otras estrategias como el monitoreo de animales, visitantes, equipo, agua de consumo y que el alimento este cumpliendo con las condiciones sanitarias adecuadas para tener una mínima exposición a los patógenos.<sup>53</sup> La vacunación es una medida viable, y el uso de los antibióticos está en discusión debido a la resistencia que causan y a la reciente legislación en algunos países.<sup>54</sup>

Se han propuesto diferentes estrategias para el control de la Salmonella en el alimento. Tratamientos con calor por arriba de los 70° C como por ejemplo en el

peletizado, reduce el riesgo en comparación con las harinas ya que estas facilitan que la bacteria prevalezca en los granos que han sido molidos finamente y se proporcionan de esta manera a los animales.<sup>55</sup>

Por lo tanto, el uso de acidificantes en la alimentación animal es una alternativa eficaz para el control de microorganismos patógenos.

## **2.7 Mecanismos de acción de los acidificantes en contra de bacterias patógenas.**

Los acidificantes usados en la alimentación tienen diferentes mecanismos de acción; uno de ellos como se mencionó anteriormente consiste en la reducción del pH en el tracto digestivo; esto sucede en el momento en el que el ácido pasa al tracto digestivo y se disocia en el líquido del medio donde se encuentra y esto provoca la liberación de protones (H<sup>+</sup>). Gracias a que los ácidos inorgánicos se disocian en su totalidad favorecen una fuerte disminución del pH en el medio y esto a su vez favorece el mejor funcionamiento de los ácidos orgánicos. El efecto bactericida se da cuando hay una mayor concentración de ácidos orgánicos de cadena larga.<sup>53</sup>

Las bacterias Gram negativa no toleran fácilmente a los ácidos de cadena larga y mediana.<sup>56</sup>

Salmonella spp., sobrevive dentro de un rango de pH de entre 4 a 9, siendo un rango óptimo para su crecimiento de 6.5 a 7.5, por lo que el aumento o disminución del pH del medio, inhibe el crecimiento de los agentes patógenos.<sup>53</sup>

Algunos autores han encontrado que *Salmonella spp* puede desarrollar resistencia a los ácidos si ésta se mantiene en pH bajos por tiempos prolongados.<sup>57 y 58</sup>

Waldroup *et al.* 1995<sup>59</sup>, estudiaron el efecto de la inclusión del 1% de ácido cítrico en el alimento de pollos, observaron que el número de animales contaminados con *Salmonella spp.* se incrementó comparado con el grupo control. En otras investigaciones encontraron que la inclusión de ácido fórmico (0.5, 1.0 y 2.0%) en dietas para pollos no fue suficiente para controlar la colonización cecal de *Salmonella typhimurium* o la contaminación de la canal, esto mismo lo realizaron con ácido láctico (0.25, 0.5, 1.0 y 2.0) obteniendo resultados similares.

Jorgensen *et al.* 2001<sup>60</sup>, indican que la inclusión de 2.8% de ácido láctico en la dieta reduce positivamente el número de *Salmonella* en muestras fecales en lechones recién destetados.

En estudios donde se incluía ácido láctico en 0.45-0.5% en el agua de bebida antes del sacrificio se vió un efecto positivo reduciendo el número de *Salmonella* en los pollos.<sup>61</sup>

Izat *et al.* 1990<sup>62</sup>, evaluaron la adición de ácido fórmico y formatato de calcio en el alimento para pollo de engorda y observaron que con 0.36% y 0.25% de formatato de calcio y ácido fórmico respectivamente redujeron significativamente los niveles de *Salmonella typhimurium* en las canales. El conteo de *Salmonella* cecal se redujo con la adición de 0.36% de formato de calcio y 0.5 % de ácido fórmico agregado a la dieta.

Kovarik y Lojda (2000), reportaron que el ácido fórmico a razón de un 0.5% en dietas para pollos puede ser utilizado con excelentes resultados en granjas comerciales para reducir la contaminación de *Salmonella* en la alimentación, de excretas y evitar la reinfección en la población aviar.<sup>63</sup>

En el 2001, evaluaron la adición de ácidos orgánicos en el contenido estomacal *in vitro* a pH de 4 y reportaron que tenían una eficacia relativa contra *Salmonella typhimurium* en el siguiente orden:

Ácido acético> ácido fórmico> ácido propiónico> ácido láctico> ácido sórbico y ácido benzoico.<sup>56</sup>

Se ha observado que los ácidos orgánicos tienen un mejor funcionamiento en conjunto, a que si se utilizan individualmente; este sinergismo fue demostrado por Thompson y Hinton en 1997, quienes utilizaron una combinación de ácido propiónico y de ácido fórmico obteniendo una mejor eficacia comparado con la adición de ácidos individualmente.<sup>64</sup>

En 2003, se reportó que una combinación de ácidos orgánicos (fórmico y propiónico) en una concentración del 2% o más en la dieta para pollita de remplazo disminuyó significativamente la infección, la población cecal de *Salmonella pullorum* y redujo la mortalidad.<sup>65</sup>

Con estos antecedentes, se planteó el presente estudio con el objetivo de evaluar el efecto de la inclusión de diferentes ácidos orgánicos en el alimento y en el agua de bebida en gallinas adultas Bovans White sobre el comportamiento productivo, integridad intestinal, tiempo de tránsito intestinal, pH de duodeno y

yeyuno y calidad de huevo externa (grosor, resistencia) e interna de huevo (color de la yema, altura de la albúmina y Unidades Haugh).



### **3. HIPÓTESIS:**

1. La sustitución de diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico), como alternativa al uso de un promotor de crecimiento (bacitracina cinc) en el alimento y el agua de bebida, incrementan los parámetros productivos, la calidad interna y externa del huevo así como la integridad intestinal en gallinas de postura adultas Bovans White de 70 semanas de edad.

#### **4. OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar el comportamiento productivo, calidad del huevo (interna y externa), pH intestinal e integridad intestinal y ausencia de *Salmonella sp.* en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad, adicionando diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en alimento y agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.

## 5. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Evaluar las siguientes variables productivas (porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia) de gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad, empleando diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta o en el agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.
2. Medir la calidad interna (color, altura de la albumina y unidades Haugh) y externa (grosor de cascarón y resistencia de cascarón) del huevo en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad, empleando diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta o en el agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.
3. Evaluar la integridad de las vellosidades intestinales en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad al emplear diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta o en el agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.
4. Medir el pH intestinal a nivel de duodeno y en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad al emplear diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta o en el agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.
5. Evaluar la presencia de *Salmonella* spp. en diferentes órganos (corazón, intestino, pulmón, hígado y bazo) en gallinas de postura adultas de la

estirpe Bovans White de 70 semanas de edad al emplear diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta o en el agua de bebida como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS:

La investigación se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.Av.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle de Salvador Díaz Mirón 89 en la Colonia Santiago Zapotitlán de la Delegación Tláhuac, Distrito Federal a una altura de 2250 msnm, entre los paralelos 19°15' latitud Oeste. Bajo condiciones de clima templado húmedo Cw, siendo Enero el mes más frío y Mayo el más caluroso, su temperatura promedio anual es de 16°C y una precipitación pluvial anual media de 747 mm.

66

Se realizó un experimento con 432 gallinas adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad, alojadas en jaulas para gallinas.

Las aves se alimentaron con una dieta sorgo-soya durante las dos fases de postura (III y IV) (Cuadro 2), Cabe señalar que el ingrediente carbonato de calcio se incremento en 10 kg/ton alimento durante la fase IV.<sup>67</sup>

Los tratamientos experimentales, consistieron como se señala a continuación:

- T1.- Dieta testigo negativo. Sin APC y sin AO.
- T2.- Como 1 + antibiótico promotor (bacitracina cinc 10%) a razón de 30ppm por ton de alimento.
- T3.- Como 1 + 2 Kg de ácidos orgánicos A (mezcla de ácido fumárico 39.8% y ácido benzoico 19% por kilo de producto) por tonelada de alimento.
- T4.- Como 1 + 0.6 Litros de ácidos orgánicos B (mezcla de ácido fórmico 50% y ácido propiónico 24% por litro de producto) por m<sup>3</sup> de agua.

- T5.- Como 1 + 2 kg de ácidos orgánicos C (mezcla de ácidos fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19%) por tonelada de alimento.
- T6 Como 1 + 0.6 lts. de AO B (mezcla de ácido fórmico 50% y ácido propiónico 24% por litro de producto) por m<sup>3</sup> de agua + 2 Kg de AO C (mezcla de ácidos fórmico, fumárico y sórbico por kilo de producto) por tonelada de alimento.

En los tratamientos que se adicionaron ácidos orgánicos en el agua de bebida se preparó de la siguiente manera: se empleó un tanque de agua de 100 litros, al cual se le agregó 60 ml de dichos ácidos orgánicos según el tratamiento. Cabe señalar que el agua de bebida en los tratamientos (1, 2, 3 y 5) sin la adición de los ácidos orgánicos el pH fue de 7.2 y para el caso de los tratamientos (4 y 6) con agua de bebida en los cuales se incluyeron los ácidos orgánicos el pH fue de 4.0.

Se empleó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos cada uno con 6 repeticiones de 12 gallinas; las aves, se alojaron en jaulas convencionales. A las aves se les proporcionó un fotoperiodo de 16 hrs luz x día. La alimentación se restringió conforme el manual de la estirpe y a la edad de las aves quedando este en 103 gramos por ave/día y el agua se proporcionó *ad libitum* durante todo el experimento.<sup>68</sup>

Se llevaron registros semanales durante 12 semanas de experimentación para porcentaje de postura, peso promedio de huevo, masa del huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia.

## **6.1 Obtención de muestras de tejido y fijación.**

Para la medición de las vellosidades intestinales al finalizar el experimento se utilizaron 6 aves por tratamiento, 1 ave por replica de la estirpe Bovans White de 82 semanas de edad. Los animales se sacrificaron humanitariamente como lo marca la NOM-033-ZOO-1995. El acceso a la cavidad fue a 2 cm en dirección caudal se obtuvieron los tejidos y se tomó una muestra a partir del asa duodenal con el empleo de bisturí, tijeras y pinzas. Los fragmentos de tejido obtenidos fueron de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup> y después se fijaron en formol al 10% amortiguado, la técnica de fijación utilizada fue por perfusión intraluminal y posteriormente mediante inmersión en frascos de vidrio, limpios y con tapa ancha. El tiempo total de fijación fue de 72 horas a temperatura ambiente.<sup>69</sup>

## **6.2 Procesamiento de los tejidos.**

En el laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, los tejidos fueron procesados mediante la técnica de inclusión en parafina. Para ello se utilizó un procesador de tejidos automático (Histoquinette), para deshidratar, aclarar e impregnar las muestras, los reactivos utilizados fueron alcohol, xilol (Baker®) y parafina (Paraplast®) posteriormente; con un micrótopo marca Leica® modelo RM2125RT, se obtuvieron cortes de tejidos de 6 µm de grosor a partir de los bloques de parafina. Los cortes se montaron en laminillas portaobjetos de 25X75 mm y cubreobjetos de 0.8 – 1.1 mm marca Corning®, finalmente se tiñeron con la técnica de hematoxilina y eosina.

Al finalizar el experimento se tomaron 6 aves de cada tratamiento con el fin de evaluar el tamaño de las vellosidades, pH intestinal y evaluar la presencia de *Salmonella spp* en diferentes órganos (bazo, intestino, pulmón, corazón e hígado).

### **6.3 Histometría.**

Se analizaron 10 campos microscópicos por corte histológico (n= 2 cortes por réplica, 12 por tratamiento)). Las observaciones se realizaron a un aumento total de 40X, con un microscopio fotónico (Motic BA310®) adaptado a una cámara para microscopía digital (Moticam 2300®), y conectado a una IMac de 21.5 pulgadas y mediante el software (Motic Images Plus, versión 2.0®) analizador de imágenes, se midieron las vellosidades intestinales en una orientación longitudinal desde la punta a la base (Cripta). Los valores de las mediciones fueron expresados en  $\mu\text{m}$ .

Durante el experimento se realizaron 4 evaluaciones (3, 6, 9 y 12 semanas de experimentación) para observar la calidad interna y externa de huevo.

### **6.4 Toma de muestra para aislamiento bacteriológico**

Un ave de cada replica por tratamiento fue sacrificado humanitariamente (NOM-033-ZOO-1995) a las 12 semanas de experimentación y 82 semanas de edad, para los análisis bacteriológicos se tomaron muestras asépticamente muestras de bazo, hígado, pulmón, intestino y corazón. Cada muestra se dividió en tres porciones.



## **6.5 Análisis bacteriológico**

Las muestras de órganos para el aislamiento de *Salmonella* sp se depositaron en bolsas de plástico asépticas y se maceraron en un mortero. Se realizó análisis bacteriológico cualitativo, que consistió en sembrar cada una de las muestras en agar soya tripticasa (TSA, por sus siglas en inglés), agar verde brillante (AVB) y en Chromagar (CHR), luego se incubaron a 37°C (18 horas) para permitir el desarrollo bacteriano.<sup>70 y 71</sup>

## **6.6 Calidad de huevo (externa e interna)**

En las semanas 3, 6, 9 y 12 se llevó a cabo la medición de los parámetros para la calidad de huevo (interna y externa), para esto se tomaron 6 huevos al azar por replica para un total de 36 huevos por tratamiento y un total de 216 huevos en cada una de las mediciones; se pesaron los huevos individualmente y posteriormente se determinó la resistencia a la ruptura del cascaron ( $\text{kg/m}^2$ ); a continuación se puso el contenido del huevo en una bandeja de superficie plana para medir la altura de la albúmina, con un trípodo micrométrico se midió lo más cerca de la yema sin tocarla y alejado de las chalazas. Con la altura y el peso del huevo se calcularon las Unidades Haugh con una regla especial para este fin. Posteriormente se evaluó el color de la yema con un abanico colorímetro de DSM 2011.

Al cascarón se le midió el grosor con un micrómetro tomando una muestra de la zona ecuatorial del huevo, previa separación de las membranas *coquiliarias*.

### **6.7 Determinación de pH.**

En el último día de experimentación se determinó el pH de duodeno y yeyuno tomando 1 ave por réplica (6 aves por tratamiento), el pH se determinó insertando un electrodo de vidrio estéril (Modelo Hanna HI 99163), a través de una incisión hecha en la pared intestinal a la altura de duodeno y yeyuno, asegurando que el electrodo estuviera en contacto con el contenido intestinal en cada una de las áreas de interés.

### **6.8 Tiempo de tránsito intestinal**

Para medir el tiempo de tránsito intestinal se seleccionaron al azar 6 aves por tratamiento (1 por cada réplica). Las aves se sometieron a un ayuno previo de 8 horas, posteriormente se les proporcionaron 50 gramos de alimento por ave y al término de esto se introdujo por vía oral una cápsula de óxido Férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) como indicador (color rojo oscuro) y por último se les volvieron a suministrar 50 gramos de alimento por ave. El tiempo de tránsito se midió con un reloj con cronómetro a partir del momento en que se le proporcionó la cápsula de óxido férrico hasta que el ave mostró su primer excreta de color rojo oscuro (color del indicador).

## 7. RESULTADOS

Los resultados promedio obtenidos en 12 semanas de experimentación para porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día y conversión alimenticia se muestran en el Cuadro 4. Se observa que en estos parámetros no se existió diferencia estadísticamente significativa ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. A pesar de que no se mostró diferencia significativa para la variable de porcentaje de postura el tratamiento empleando ácidos orgánicos en el agua de bebida y el alimento tuvo un efecto positivo (78.6%) versus la dieta basal negativa (75.9%); aumentando numéricamente 3.5% el porcentaje de postura. Por otro lado, el tratamiento 6 (78.6%) aumentó 6.6% el porcentaje de postura versus el tratamiento con bacitracina cinc (73.7%) y en 5.5% en comparación al tratamiento 3 adicionado con ácidos orgánicos en la dieta (74.7%).

Para la variable peso de huevo y consumo/ave/día no se encontró efecto significativo al uso de ácidos orgánicos. Para conversión alimenticia el tratamiento 3, obtuvo la peor conversión (2.20) con un aumento del 2.8% comparado con el tratamiento 1 (2.14), 4.2% mayor a los tratamientos 4 y 6 (2.11) y 3.7% mayor respecto al tratamiento 5 (2.12).

En el Cuadro 5, se pueden observar los resultados de porcentaje de huevo roto, huevo fáfara y huevo sucio, donde se encontraron diferencias entre tratamientos ( $P<0.01$ ), observándose el menor porcentaje de huevo roto en el tratamiento 6 (2.3% vs 5.2%, 4.2% y 3.7%) respecto a los tratamientos 1, 2 y 3.

En relación al porcentaje de huevo sucio, se detectaron diferencias ( $P<0.01$ ) entre tratamientos donde el tratamiento 4 (2.4%) obtuvo de manera considerable

el porcentaje de huevo sucio más bajo en comparación con los tratamientos restantes, además en el tratamiento 4 disminuyó 36.8% el porcentaje de huevo sucio vs el tratamiento 1 (3.8%), 44.1% vs tratamiento 2 (4.3%), 48.9% vs el tratamiento 3 (4.7%), 51% vs tratamiento 5 (4.9%) y 31.4% menos comparado con el tratamiento 6 (3.5%).

En lo que respecta a la variable de huevo en fáfara, se observó que los tratamientos 5, 6, 2 y 4 tuvieron un comportamiento (0.4%, 0.5%, 0.5% y 0.6%) estadísticamente similar al tratamiento 3 (1.2%); sin embargo, dicho tratamiento presentó mayor porcentaje de huevo en fáfara (66.3%) en comparación con el tratamiento con ácidos orgánicos fórmico, fumárico y sórbico, (58.3%) vs tratamiento con antibiótico promotor de crecimiento y el tratamiento 6 con la combinación de ácidos orgánicos en agua de bebida y en alimento. Por último, el tratamiento 3, presentó un aumento del 50% en comparación con el tratamiento con la mezcla B de ácidos orgánicos (fórmico y propiónico) en el agua de bebida. Para la dieta testigo (1.6%) el aumento en el porcentaje de huevo en fáfara fue de 68.7% en relación con los tratamientos 2 y 6, para el tratamiento 4 un 62.5%, y un 75% en el tratamiento 5, cabe mencionar que los tratamientos 1 y 3 se comportaron de manera similar ente sí.

Para los datos de las variables de resistencia de cascarón, grosor de cascarón, se pueden apreciar en el Cuadro 5. Se puede apreciar que no se detectaron diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ). Es importante mencionar que en resistencia de cascarón a pesar de no detectarse diferencias estadísticas significativas ( $P>0.05$ ), se observó un incremento importante en la resistencia

(1.35 kg/m<sup>2</sup>) del tratamiento 3, en comparación con el tratamiento testigo y tratamiento 4 (1.26 kg/m<sup>2</sup>), lo cual representó 7.1% más de resistencia del cascarón en dicho tratamiento. Con relación a los tratamientos 2, 5 y 6 (1.22 kg/m<sup>2</sup>, 1.27 kg/m<sup>2</sup> y 1.25 kg/m<sup>2</sup> respectivamente), se encontró un aumento de 10%, 6.3% y 8% respectivamente.

De igual manera, los resultados promedios obtenidos en grosor de cascarón el tratamiento 3 (0.314 mm) obtuvo los mejores datos en relación a los demás tratamientos y esto se puede ver reflejado en un aumento de 2.9% vs tratamiento 1 (0.305 mm), 3.6% vs el tratamiento 2 y 6 (0.303), 2.2 % vs el tratamiento 4 (0.307 mm) y 3.3% vs el tratamiento 5 (0.304 mm).

En el cuadro 6 se pueden observar los resultados promedios de pH de duodeno, pH de yeyuno, tamaño de las vellosidades intestinales y tiempo de tránsito intestinal. Para la variable pH intestinal del yeyuno se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre tratamientos, con un mayor pH 6.56 en el tratamiento 6 seguidos por los tratamientos 3, 5, 2 y 1. Cabe señalar que el tratamiento 4 obtuvo el menor pH con 5.90, lo que significó una disminución de 0.08 en relación al tratamiento testigo y 0.27 con respecto al tratamiento con bacitracina.

En lo que se refiere a pH de duodeno, el tratamiento que obtuvo el menor pH promedio fue el tratamiento con promotor de crecimiento (pH 5.88), pero similar al tratamiento 4 (pH 5.91), lo cual sólo representó una diferencia de 0.5% entre

estos tratamientos, cabe señalar que entre los tratamientos 4 y 6 existió la misma diferencia de 0.5%.

En lo que se refiere a la altura de las vellosidades intestinales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. Los tratamientos 3, 4 y 5 mostraron una disminución de la altura de las vellosidades del 2.67%, 1.33%, y 4.60% respecto al tratamiento testigo; sin embargo los tratamientos restantes fueron muy similares entre sí.

En la variable de tiempo de tránsito intestinal, los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre los tratamientos, sin embargo el tratamiento 1 obtuvo el menor tiempo (2:50 hrs) lo que significó 28 minutos menos respecto al tratamiento 6 (3:18 hrs); así como 7, 15 y 25 minutos menos en relación a los tratamientos 5, 3 y 4 respectivamente; aunque cabe mencionar que el tratamiento 2 se comportó de una manera muy similar al tratamiento 1 (2:53 hrs).

En los resultados de pH en yeyuno, se encontraron diferencias significativas ( $P<0.01$ ) entre tratamientos, observándose que el pH del tratamiento 4 (5.90) y el tratamiento 1 (5.98) fueron similares estadísticamente entre sí y obtuvieron los resultados más bajos. Por otro lado, los tratamientos 2, 3, 5 y 6 tuvieron un pH (6.17, 6.32, 6.18 y 6.56 respectivamente).

Los resultados promedio obtenidos a partir de la medición de la calidad interna del huevo (Unidades Haugh, altura de la albúmina y color) en la semana 3, 6, 9 y

12 de experimentación se describen en el Cuadro 7. Se puede observar que no se detectaron diferencias ( $P>0.05$ ) en Unidades Haugh, mientras que para las variables altura de la albúmina y color de la yema se observaron diferencias significativas ( $P<0.01$ ) entre tratamientos al emplear los diferentes ácidos orgánicos versus la dieta basal testigo y la adicionada con bacitracina cinc 30.

Las Unidades Haugh muestran un comportamiento muy parecido en todos los tratamientos; aunque el tratamiento que mostró una disminución en la medición de estas unidades fue el tratamiento 6, en el cual se adicionaron ácidos orgánicos tanto en el agua de bebida como en el alimento (80.42) en relación a los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 5; (83.75, 82.85, 83.53, 83.37 y 82.59 respectivamente) lo que representó una disminución del 4.1%, 3.0%, 3.8, 3.6 y 2.6% respectivamente.

Los resultados obtenidos en la altura de la albúmina, indican que el tratamiento 3 (8.7mm) obtuvo el mejor resultado en la medición ( $P<0.01$ ) en comparación al tratamiento 1 (7.9mm) lo que representó 17.2% más en la altura de la albúmina. Cabe señalar que los tratamientos 2, 4, 5 y 6 estuvieron por debajo del valor más alto (7.6 mm, 7.8 mm, 8.1 mm y 7.7 mm respectivamente), lo que se vio reflejado en una disminución de 12.64%, 10.3%, 6.9% y 11.5% respectivamente.

En lo que respecta al color de la yema, los resultados indicaron diferencia ( $P<0.01$ ) entre tratamientos, se puede apreciar que el tratamiento 4 obtuvo el mayor valor de pigmentación en comparación a los tratamientos 1, 2, 3, 5 y 6 (10.0 versus 9.6, 9.7, 9.7, 9.8 y 9.7) lo que representó una disminución de 4.0%,

3.0%, 3.0%, 2.0% y 3.0% en los valores de pigmentación respecto al tratamiento 4.

Los resultados obtenidos del aislamiento bacteriológico enfocado para la detección de *Salmonella spp.* en diferentes órganos (bazo, hígado, pulmón, corazón e intestino) resultaron negativos en todas las dietas empleadas en el presente estudio.

Los ácidos orgánicos empleados en este estudio, no tuvieron ningún problema para poderlos adicionar a la dieta o al agua de bebida.



## 8. DISCUSIÓN.

En el presente estudio y bajo las condiciones de investigación, se pudo observar que el uso de los diferentes ácidos orgánicos, como sustituto del promotor de crecimiento (Bacitracina de cinc) durante 12 semanas, tuvieron un efecto similar, en las variables productivas, este efecto coincide con lo encontrado por Sánchez *et al.* (2011)<sup>17</sup>, quienes observaron que la sustitución de butirato de sodio a razón de 300g/ton por un antibiótico promotor de crecimiento (bacitracina cinc 30 ppm) en gallinas de la estirpe ISA-Babcock B-380 de 32 semanas de edad alojadas en piso, tuvo un efecto similar ( $P>0.05$ ) entre tratamientos para porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo/ave/día, conversión alimenticia y grosor de cascarón; Garcez *et al.* (2010)<sup>20</sup> evaluaron la adición de ácidos orgánicos (AO) y mannanoligosacáridos (MOS) solos o en combinación con antibióticos en gallinas Isa Brown de la semana 32 a la semana 52 de edad; y observaron que el uso de estos aditivos no tuvieron efecto ( $P>0.05$ ) entre tratamientos en las variables de porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, conversión alimenticia por docena y por masa de huevo, y calidad interna del huevo (Unidades Haugh). Swiatkiewicz *et al.* (2010)<sup>22</sup> investigaron la adición de diferentes aditivos en la dieta como Inulina, Oligofructosa, Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y Ácidos Grasos de Cadena Media (AGCM) y la combinación de estos, para 168 gallinas de la estirpe Bovans Brown de la semana 26 a la semana 70 de edad, en donde observaron que el uso de AGCM no tuvo efecto ( $P>0.05$ ) sobre el grosor de cascarón, porcentaje de postura, masa de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia.

Otros autores Park *et al.* (2009)<sup>19</sup> realizaron un estudio en gallinas de la estirpe Hy-Line Brown con la adición de 0.2% de AO y observaron efecto ( $P < 0.01$ ) en conversión alimenticia y un aumento numérico en la producción de huevo con respecto a los otros tratamientos.

Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo no coinciden con lo informado por otros autores como Sánchez *et al.* (2009)<sup>18</sup> quienes encontraron efecto ( $P < 0.05$ ) con la adición de 500 ppm de butirato de sodio en dietas para gallinas de la estirpe Bovans de 63 semanas de edad durante 10 semanas de experimentación, en comparación con los otros tratamientos (0 y 300 ppm de butirato de sodio) en porcentaje de postura, peso del huevo, consumo/ave/día, y conversión alimentaria. Sergon *et al.* (2007)<sup>21</sup>, estudiaron el efecto de una mezcla de ácidos grasos de cadena corta, conformada principalmente por butirato de calcio, en dietas para gallinas reproductoras Bovans White de 66 semanas de edad a dosis de 1 Kg por tonelada y observaron que las variables estudiadas (resistencia de huevo, porcentaje de postura, porcentaje de huevo deforme y como un dato adicional el porcentaje de eclosión) mostraron efecto positivo ( $P < 0.05$ ) en relación al tratamiento testigo.

Para la variable porcentaje de huevo roto los resultados de este trabajo, coinciden con lo estudiado por otros autores quienes obtuvieron un efecto significativo al adicionar 500 ppm de butirato de sodio en dietas sorgo-soya para gallinas adultas de la estirpe Bovans de 63 semanas de edad en comparación con los tratamientos (0 y 300 ppm de butirato de sodio) para esta variable.<sup>18</sup> Por otro lado, Park *et al.* (2009)<sup>19</sup> observaron una diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) en porcentaje de huevo roto con la adición de 0.2% de AO; en esta investigación se

observó una disminución de 55.7% y 45.2% con la combinación de ácidos orgánicos (propiónico, fórmico, fumárico y sórbico), con respecto al tratamiento testigo y al tratamiento con promotor de crecimiento respectivamente. Sergon *et al.* (2009)<sup>21</sup> obtuvieron efecto ( $P < 0.05$ ) al uso de una mezcla de ácidos grasos de cadena corta, conformada principalmente por butirato de calcio en esta misma variable en gallinas blancas reproductoras.

En la variable de porcentaje de huevo fárfara, Park *et al.* (2009)<sup>19</sup>, encontraron una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) al adicionar 0.2% de AO en la dieta respecto a una dieta sin AO; observando una disminución del 50% en este parámetro, por lo que estos resultados coinciden en parte con lo encontrado en esta investigación, donde el porcentaje de huevo fárfara muestra una disminución mayor al 50% respecto al tratamiento testigo<sup>19</sup>.

Para el color de la yema del huevo, Sánchez *et al.* en 2011<sup>17</sup> emplearon gallinas ISA-Babcock B-380 y no encontraron diferencia significativa en el color de la yema resultados que no coinciden con los obtenidos en este trabajo ( $P < 0.05$ ), donde se obtuvo una mayor pigmentación de la yema en el tratamiento con ácidos orgánicos en el agua de bebida respecto a los demás tratamientos; mientras tanto Park KW *et al.* (2009)<sup>19</sup>, observaron un aumento en el color de la yema. Por otro lado, Sánchez *et al.* 2009<sup>18</sup> tampoco encontraron diferencia en esta variable con gallinas Bovans de 63 semanas de edad<sup>18</sup> y Garcez *et al.* (2010)<sup>20</sup> evaluaron la adición de ácidos orgánicos (AO) y mannanoligosacáridos (MOS) solos o en combinación con antibióticos en dietas para gallinas de postura Isa Brown sin encontrar un efecto positivo a esta variable ( $P > 0.05$ ).

En el presente estudio, el uso de una mezcla de ácido fumárico y ácido benzoico tuvo un efecto positivo ( $P < 0.01$ ) en la altura de la albumina, lo que no concuerda con lo encontrado por Sánchez *et al.* (2011)<sup>17</sup> quienes evaluaron en gallinas de la estirpe ISA-Babcock B-380 de 32 semanas de edad alojadas en piso, donde encontraron que la sustitución de butirato de sodio a razón de 300g/ton por un antibiótico promotor de crecimiento (bacitracina cinc 30 ppm) no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) en calidad de la albumina del huevo, y Garcez *et al.*<sup>20</sup> en 2010, evaluaron la adición de ácidos orgánicos (AO) y mannanoligosacaridos (MOS) solos o en combinación con antibióticos en gallinas de postura Isa Brown de la semana 32 a la semana 52 de edad y no observaron diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en la altura de la albumina.

Estos resultados se pueden deber a lo estudiado por diferentes autores, quienes indican que los ácidos orgánicos al provocar una disminución del pH en el estómago glandular, acelera el proceso de la conversión de pepsinógeno a pepsina lo cual acelera la absorción de proteínas, aminoácidos y minerales<sup>43 y 44</sup> y esto se ve reflejado en un mejor aprovechamiento de estos nutrimentos. Además el ácido orgánico al disociarse en la célula bacteriana y por la acumulación de aniones de las sales inhibe el crecimiento microbiano con lo que evita el daño de las células epiteliales y disminuye la competitividad por el transporte de nutrientes. Con esto se mejora la tasa de absorción de proteínas, calcio, fósforo, magnesio y zinc, además de servir como sustratos del metabolismo intermediario.<sup>16,45-52</sup>

En este trabajo, se encontró un efecto positivo ( $P < 0.01$ ) al uso de ácidos orgánicos adicionados en el agua de bebida, a la variable de porcentaje de

huevo sucio, observándose una reducción por encima del 30% respecto a los demás tratamientos, lo que concuerda con lo encontrado por Sengor *et al.* (2007)<sup>21</sup>, quienes pudieron encontrar una disminución de 59% ( $P < 0.05$ ) empleando una combinación de ácidos orgánicos en su mayor parte butirato de calcio en gallinas reproductoras adultas Bovans White de 66 semanas de edad a dosis de 1 Kg por tonelada; cabe mencionar que los resultados obtenidos pudieron deberse a que algunas bacterias patógenas causantes de diarreas en aves como *Salmonella spp*, *E. Coli*, y *Campylobacter spp*<sup>41 y 42</sup> no toleran fácilmente a los ácidos de cadena larga y media<sup>56</sup> lo que ayuda a reducir el número de bacterias como lo mencionan diversos autores<sup>60-63 y 65</sup> y lo que permite a su vez disminuir la incidencia de diarreas, lo cual se vio reflejado en el menor porcentaje de huevo sucio con el uso de ácidos orgánicos.

En la variable de medición de pH en el yeyuno se observó efecto ( $P < 0.01$ ) al uso de ácidos orgánicos (mezcla de ácido fórmico y ácido propiónico), sin embargo la dieta testigo se comportó de una manera similar, cabe mencionar que en el pH de duodeno no se detectó efecto al uso de ácidos orgánicos; la disminución en el pH intestinal a la altura del yeyuno se puede deber a que el uso de ácidos orgánicos presentan diferentes mecanismos de acción; uno de ellos consiste en la reducción del pH en el tracto digestivo; esto sucede en el momento en el que el ácido pasa al tracto digestivo y se disocia en el líquido del medio donde se encuentra y esto provoca la liberación de protones ( $H^+$ ) disminuyendo el pH.<sup>43, 44</sup>  
y 53

En la presente investigación el uso de ácidos orgánicos no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) en el largo de las vellosidades intestinales, lo que no coincide con Adil *et al.*

(2010)<sup>52</sup> quienes utilizaron 315 pollos de la estirpe Cobb y 7 tratamientos con diferentes niveles y tipo de ácidos orgánicos en donde observaron que el tamaño de la vellosidades del duodeno y yeyuno mostraron un efecto significativo ( $P<0.05$ ); en relación al grupo control. El aumento en las alturas de la vellosidades del duodeno y yeyuno se dieron cuando las aves fueron alimentadas con una dieta suplementada con 3% de ácido butírico y 3% de ácido fumárico, respectivamente y por Sánchez *et al.* (2009)<sup>18</sup>, con el uso de butirato de sodio a razón de 500 ppm encontraron diferencias ( $P<0.05$ ) en el largo y ancho de las vellosidades respecto a los demás tratamientos.

## **9. CONCLUSIONES.**

De los resultados obtenidos en el presente estudio en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad se puede concluir:

1.- El uso de diferentes ácidos orgánicos (fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en la dieta y agua de bebida, no tuvo efecto negativo o benéfico en los parámetros productivos (porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia)

2.- El empleo de una mezcla de ácidos orgánicos (ácidos propiónico, fórmico, fumárico y sórbico) en el agua de bebida y alimento disminuyó el porcentaje de huevo roto.

3.- La adición de ácidos orgánicos (ácido fórmico, fumárico y sórbico) en el alimento, redujo el porcentaje de huevo fáfara.

4.- La inclusión de ácidos orgánicos (ácidos fumárico y propiónico) en el agua de bebida, redujo el porcentaje de huevo sucio.

5.- La utilización de ácidos orgánicos (ácidos fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en las dietas y agua de bebida, no tuvieron efecto negativo en la calidad externa del huevo (resistencia y grosor de cascarón)

6.-El empleo de diferentes ácidos orgánicos (ácidos fumárico, benzoico, fórmico, propiónico y sórbico) en las dietas y agua de bebida, no tuvo efecto en el tamaño de las vellosidades intestinales, tiempo de tránsito intestinal, pH de duodeno y Unidades Haugh.

7.- La adición de una mezcla de ácidos orgánicos (ácido fórmico y propiónico) en el agua de bebida, disminuyó el pH de yeyuno.

8.- El uso de ácidos orgánicos (ácidos fumárico y benzoico) en el alimento, tuvo un efecto positivo en la altura de la albumina en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad.

9.- La inclusión de una mezcla de ácidos orgánicos (ácido fórmico y propiónico) en el agua de bebida, tuvo un efecto positivo en la coloración de la yema en gallinas de postura adultas de la estirpe Bovans White de 70 semanas de edad.

10.- Se requieren más investigaciones de la aplicación de los ácidos orgánicos en gallinas de postura adultas comerciales para ser considerados como una alternativa potencial en el último tercio del ciclo productivo para mejorar la calidad externa del huevo.



## 10. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Sumano LH, Gutiérrez OL. Farmacología clínica de las aves. ed. FMVZ UNAM. México DF, 2005.
2. Murry Jr AC, Hinton Jr A, Buhr RJ. Effect of Botanical Probiotic Containing Lactobacilli on Growth Performance and Populations of Bacteria in the Ceca, Cloaca, and Carcass Rinse of Broiler Chickens. Int Jour of Poult Sci 5 (4): 344-350, 2006.
3. Ricke<sup>1</sup> SC. Perspectives on the Use of Organic Acids and Short Chain Fatty Acids as Antimicrobials. 2003 Poult Sci 82:632–639.
4. [www.wpsaaeca.com](http://www.wpsaaeca.com). Asociación Española de Ciencia Avícola. Citado en el 2003, disponible en:  
[http://www.wpsaaeca.com/img/informacion/13\\_07\\_21\\_Mitos\\_y\\_realidades\\_del\\_sistema\\_digestivo.pdf](http://www.wpsaaeca.com/img/informacion/13_07_21_Mitos_y_realidades_del_sistema_digestivo.pdf). López CC, Arce MJ, Ávila GE. Mitos y Realidades del Sistema Digestivo y sus Implicaciones sobre la Productividad.
5. Los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos. P. Rodríguez – Palenzuela. Departamento de Biotecnología Universidad Politécnica de Madrid. XVI Curso de Especialización FEDNA.
6. Quiroz M.A., Dibner J.J., Knight C.D. y González-Esquerra R. Uso de ácidos orgánicos como alternativa para el control de la enteritis necrótica. Seminario Internacional Novus–Nra, Santiago De Querétaro, México, Abril 8, 2005.
7. [www.Agqsl.com](http://www.Agqsl.com). España. AGQ Nutrición. Ácidos Grasos Volátiles y sus Precursores, Citado el 16 de mayo del

2007.Disponible desde:[http://www.agqsl.com/productos/vfappetite/vfappetite\\_dosis.htm](http://www.agqsl.com/productos/vfappetite/vfappetite_dosis.htm)

8. Van HH; Van GB. "How to get the best out of phytase". Fedmix 2002; 10:27-29.
9. García, V.; Catalá, P.; Hernández, F.; Madrid, J.; Orengo, J.; Megías, M.D. Effect of formic acid on ileal apparent digestibility and carcass yield in broilers at level of farm. J Appl Poult Res 2007. 16: 555-562.
10. [www.biopsicologia.net](http://www.biopsicologia.net). Ciclo de la urea - N3: Participación Funcional Registro General de Propiedad Intelectual. Núm. 2000/28/28429 (ESP); disponible:[http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_681.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_681.html) )
11. Ricke SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poult Sci 2003; 82:632-639.
12. Rodríguez P, García J, Blas C. Fibra Soluble y su Aplicación en Nutrición Animal: Enzimas y Prebióticos. XIV Curso de Especialización. Avances en la Nutrición y Alimentación Animal. Año 1998. XIV Curso de Especialización FEDNA: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Eds.: P.G<sup>a</sup>. Rebollar, C. de Blas y G.G. Mateos. Fira de Barcelona, España.
13. Braun EJ, Campbell CE, Uric acid decomposition in the lower gastrointestinal tract. Expl zool suppl. 1983, 3:70-74.
14. Musch MW, Bookstein C, Xie Y: SCFA increase interfinal Na absorption by induction of NHE3 in rat colon and human intestinal C2/bbe cells. Am J Physiol 2001; 280: 687-693.

15. Kasper H, Goebell H. The effect of bacterial metabolites on nutrition and function of the colonic mucosa symbiosis between man and bacteria. Kasper H, Goebell H. Colon and Nutrition. Lancaster: Lancaster Press. Falk Symposium, 1981.32.11-25.
16. Kirchgessner M. and Roth FX. Nutritive effects of organic acids in piglet rearing and pig fattening *Ubersichten zur Tierernahrung* 1988 16: 93-108
17. Sánchez HI, Posadas HE, Sánchez RE, Fuente MB, Hernandez EJ, Laparra VJL, et al Efecto del butirato de sodio sobre algunos parámetros productivos de gallinas de postura en semilibertad. *Vet. Méx.* 2011; 42: 227-232.
18. Sánchez HI, Posadas HE, Sánchez RE, Fuente MB, Hernandez EJ, Laparra VJL, *et al.* Efecto del butirato de sodio en dietas para gallinas sobre el comportamiento productivo, calidad de huevo y vellosidades intestinales. *Vet. Méx* 2009; 40:397-403
19. Park KW, Rhee AR, Um JS y Paik IK. Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens. *J. Appl. Poult. Res.* 2009; 18: 598-604
20. Garcez RC, Rutz F, Dallmann PR, Franz ZN, Dias da Silveira H, Silva GR *et al.* Effect of mannanoligosacharides (MOS) and acid organic/ MOS (AOM) alone or in combination with antibiotics in Brown –egg laying hens diets. *Ci. Anim. Bras., Goiána*, 2010; V 11, N 2: 292-300.
21. Sengor E, Yardimci M, Centigul S, Bayram I, Sahin H y Dogan I.

- Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. South Afri J of Ani Sci 2007; 37: 158-163
22. Swiatkiewicz S, Koreleski J y Arczewska A. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed supplemented with prebiotics and organic acids. Czech. J. Anim. Sci. 2010; 7: 294-306
23. Roland DA, Research note, Eggshell problems: Estimates of incidence and economic impact. Poult Sci 1988; 67:1801-1803
24. Safaa HM, Serrano MP, Valencia DG, Frikha M, Jimenez ME, Mateos GG. Productive performance and egg quality of Brown egg- laying hens in the late phase of production as influenced by level and source of calcium in the diet. Poult Sci 2008; 87:2043-2051
25. Cuca M, Valdés V, Pro A, Suárez M, Figueroa J, Gonzáles M. Nivel de calcio y relación carbonato de calcio pulverizado: granulado y su efecto en producción de huevo y calidad del cascarón en gallinas pelechadas. PPA- ALPA- Cusco Perú, 2007
26. Poggenpoel DG, Ferreira GF, Hayes JP y Preez JJD. Response to long –term selection for egg production in laying hens. Brit Poult Sci 1996; 37: 743-756
27. Butcher GD y Miles RD. Factors causing poor pigmentation of brown shelled eggs. University of Florida. [http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles NMNMO4700.pdf](http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/NMNMO4700.pdf).

28. Rajikumar D, Sharma RP, Rajaravindra KS, Niranjana M, Reddy BLN, Bhattacharya TK *et al.* Effect of genotype and age on egg quality traits in naked neck chicken under tropical climate from India. *Int. Poult Sci* 2009; 8:115-1155
29. Roland DA, Factors influencing shell quality of aging hens. *Poult Sci* 1979; 58: 774-777
30. Cuca GM, Ávila GE, Pro MA. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma de Chapingo. 2009: 160-161
31. Al- Batshan HA, Scheideler SE, Black BL, Garlich JD y Anderson AK. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poult Sci* 1994; 73:1590-1596
32. Bar A, Razzaphkovsky y Vax E. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements in aged laying hens. *Br. Poult Sci* 2002; 43:261-269
33. Castillo CM, Cuca GM, Pro MA, Gonzáles AM y Morales E. Biological and economic optimum level of calcium in White Leghorn hens. *Poult Sci* 2004; 83: 868-872.
34. Roland DA. Egg shell quality IV: Oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. *World Poult Sci Jou* 1986; 42:165-166
35. Rao KS y Roland DA. Influence of dietary calcium level and particle size of calcium source on in vivo calcium solubilization by commercial

Leghons. Poult Sci 1989; 68: 1499-1505

36. Cheng TK y Coon CN. Effect of calcium source, particle size, limestone solubility in vitro, and calcium intake level on layer bone status and performance. Poult Sci 1990; 69: 2214-2219
37. Zhang B. y Conn CN. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro and vivo, and gizzard limestone retention in laying hens. Poult Sci 1997; 76: 1702-1706
38. Swiatkiewicz S y Arczewska-Wlosek A. Prebiotic fructans and organic acids as additives improving mineral availability. World Poult Sci Assoc 2012; 68: 273-279
39. Yegani M y Korver DR. Factors Affecting Intestinal Health in Poultry. Poult Sci 2008; 87 :2052-2063
40. Garcia V, Catala-Gregori P, Hernández F, Megias MD, and Madrid J. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broiler. J of Appl Poult Res 2007;16:555-562.
41. Hassan HMA, Mohamed MA, Amani W, Youssef y Hassan ER. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. Asian-Aust J Anim Sci 2010; 23:10: 1348-1353
42. Dibner JJ y Buttin P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. J Appl Poult Res

2002; 11:453-463

43. Ravindran V y Kornegay ET. Acidification of weaner pigs diets. A review. *J Sci Food Agric* 1993; 62: 313-322
44. Garrido MN, Skjervheim m, Oppegaard H y Sorum H. Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens. *Appl Environ Microbio* 2004; 70:5208-5213
45. Jongbloed AW, Kemme PA, Morz Z y Van Diepen HTM. Efficacy, use and application of microbial phytase in pig production. A review Paginas 111-129 in *Biotechnology in the Feed Industry, Proc. Altech's 16<sup>th</sup> annu. Symp. T.P. Lyonns and K.A. Jacques, ed Nottingham Univ. Press, Nottingham, UK.*
46. Omogbenigun FO, Nyachoti M y Slominski BA. The effects of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. *J Anim Sci* 2003; 81:1806-1813
47. Youn BS, Nam TK, Chang KM, Hwang SG y Choe IS. Effects of wood vinegar addition for meat quality improvement of old layer. *Kor. J Poult Sci* 2005; 32: 101-106
48. Overland M, Granli T, Kjos NP, Fjetland O, Stein SH y Stokstad M. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. *J of Anim Sci* 2000; 78: 1875-1884
49. Kluge H, Broz J y Eder K. Studies on the influence of benzoic acid a

feed additive on growth performance, digestibility of nutrients, nitrogen balance, microflora and parameters of the microbial metabolism in the gastrointestinal tract of weaned piglets. Tagung für Schweine und Geflügelnährung Halle (Saale) Germany 2004; 8: 42-45

50. Atapattu NSBM y Nelligaswatta CJ. Effect of citric acid on the performance and utilization of phosphorous and crude protein in broiler chickens fed rice by products based diets. *Int Jour of Poult Sci* 2005; 4: 990-993

51. Abdel-Fattah SA, Ei-Sanhoury MH, Ei-Mednay NM y Abdul-Azee F. Thyroid activity of broiler chicks fed supplemental organic acid. *Int Jour of Poult Sci* 2008; 7:215-222

52. Adil S, Banday T, Bhat GA, Mir MS y Rehman M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Vet Med Int* 2010; 10:4061-4067

53. Lückstädt C. Acidifiers in Animal Nutrition. A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance. 1<sup>ST</sup> Nottingham University Press, 2009.

54. Hoszowski, A. and Waysl, D. (2002) Salmonella serovars found in animals and feeding stuffs in 2001 and their antimicrobial resistance. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 46: 165-178.

55. Wray C. Review of research into Salmonella infections in pigs. *Review commissioned by the Meat and Livestock Commission, UK, 2001*



56. Canibe JA, Engberg RM y Jensen BB. An overview of the organic acids on gut flora and gut health. In: *Proceedings of the workshop on alternatives to feed antibiotics and anticoccidials in the pig and poultry meat production, gut environment and feed additives*. October 13-16 2001:230, Oslo Norway.
57. Foster JW. Salmonella acid shock proteins are required for the adaptative acid tolerance response. *J of Bact* 1991; 73: 6896-6902.
58. Bearson BL, Wilson L y Foster JW. A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress. *J of Bact* 1998; 180 (9):2409-2417.
59. Waldroup A, Kaniawato S y Mauromoustakos A. Performance characteristics and microbiological aspects of broiler fed diets supplemented with organic acids. *J of Food Prot* 1995; 58:482-489
60. Jorgensen L, Kjaersgaard HD, Wachmann H, Jensen BB y Bach Knudsen KE. Effect of pelleting and use of lactic acid in feed on *Salmonella* prevalence and productivity in weaners. In: *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella and other Food Borne Pathogens in Pork*. Leipzig, Germany, September 2 to 5, 2001:109-112
61. Byrd JA, Hargis BM, Caldwell DJ, Bailey RH, Herron KL, McReynolds JL *et al.* Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. *Poult Sci* 2001; 80:278-283

62. Izat AL, Tidwell NM, Thomas RA, Reiber MA, Adams MH, Colberg M *et al* . Effect of formic acid or calcium formate in feed on performance and microbiological characteristics of broilers. *Poult Sci.* 1990a; 69:1876-1882
63. Kovarik K y Lojda L. (2000) WVPA news. ([www.wvpa.net/newsletter/reports\\_czech\\_republ.html](http://www.wvpa.net/newsletter/reports_czech_republ.html)). Fecha de acceso 22 de julio de 2012.
64. Thompson JL y Hilton M. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on salmonella in the crop. *Brit Poult Scie* 1997; 38: 59
65. Al Tarazi YH y Alshawabkeh K. Effect of dietary formic acid and propionic acid on *Salmonella pullorum* shedding and mortality in layer chicks after experimental infection. *Jour of Vet Med* 2003; Series B. 50: 112-117
66. INEGI. Tláhuac: Cuaderno de información básica delegacional. INEGI, México 1992.
67. National. Research Council 1994 Nutrient Requirements of poultry National academy press. 1994
68. Quintana JA. Avitecna. Manejo de las Aves Domesticas más comunes. 4ª ed. México (DF). Trillas 2011:157-159
69. Manual de Técnicas Histológicas. Elvira Estrada Flores, Leonor Peralta Zamora, Patricia Rivas Manzano. AGT Editor, Sa, 1982, México.

70. Pérez JM, Vázquez MJR, Rodríguez SMC, Miranda MRE, Romo GAL, Nader GE. Procedimientos de laboratorio para bacteriología y micología. México (D.F.) UNAM 1987.
71. Urquiza BO. Purificación y caracterización parcial de proteínas con actividad enterotóxica tipo CT de *Salmonella gallinarium* (Tesis de Maestría). México (D.F.) México, UNAM 1995.

## 11. CUADROS

**Cuadro 2.** Composición de la dieta basal empleada para gallinas (Postura 3 y 4).

Ingredientes	kg	kg
Sorgo	564.622	554.622
Pasta de soya	269.096	269.096
Carbonato de calcio ****	99.593	109.593
Aceite de vegetal	38.212	38.212
Fosfato de calcio	16.490	16.490
Sal	4.649	4.649
DI-metionina	1.768	1.768
Premezclas de Vitaminas *	1.000	1.000
Premezclas de Minerales **	0.500	0.500
Secuestrante de micotoxinas	1.000	1.000
Pigmento Tagetes amarillo	1.000	1.000
L-lisina HCl	0.870	0.870
Cloruro de colina 60%	0.500	0.500
Pigmento rojo Capsicum	0.250	0.250
Bacitracina de cinc ***	0.300	0.300
Antioxidante	0.150	0.150
Total	1000	1000

### Análisis calculado de nutrientes

Proteína cruda %	17.9
E.M aves (Kcal/kg)	2,850
Lisina %	1.00
Met-Cistina %	0.75
Treonina %	0.71
Calcio total	4.00
Fosforo (disp)	0.44

\*Vitamina A 10,000,000 UI; Vitamina D3 2,500,000, UI; Vitamina E 6,000 UI; Vitamina K 2.5g; Tiamina 1.6g; Riboflavina 5g; Cianocobalamina 0.010g, Ácido Fólico 0.50g; Piridoxina 1.5g; Pantotenato de calcio 10g; Niacina 30g; Cloruro de colina 60% 200g;

\*\*Proporciona, Hierro 40g; Manganeso 80g; Cobre 10g; Yodo 2g; Zinc 60g; Selenio 0.30g; Antioxidante 125g; Vehículo c.b.p 500g.

\*\*\*Se reemplazo en el tratamiento 3 con 2kg de ácidos orgánicos (fumárico y benzóico) por tonelada de alimento, tratamiento 4 con 600 ml de ácidos orgánicos (fórmico y propiónico) en el agua de bebida por 1000 l de agua, 5 con 2kg de ácidos orgánicos (fórmico, fumárico, sórbico) por tonelada de alimento, y 6 con 2kg de ácidos orgánicos (fórmico, fumárico, sórbico) por tonelada de alimento y 600 ml de ácidos orgánicos (fórmico y propiónico) en el agua de bebida por cada 1000 l de agua; mientras tanto para el tratamiento 1 se eliminó de la dieta.

\*\*\*\*La cantidad de carbonato de calcio se incrementó en 10 kg para la fase de Postura 4

**Cuadro 3.** Parámetros productivos en gallinas alimentadas con dietas adicionadas con ácidos orgánicos como promotor de crecimiento.

Variables	Tratamientos						EEM
	1	2	3	4	5	6	
Porcentaje de postura	75.9	73.7	74.7	77.4	77.4	78.6	1.70
Peso de huevo (g)	63.0	63.0	62.5	62.6	62.7	63.0	0.40
Masa de huevo (g)	47.8	46.4	46.7	48.5	48.5	48.1	1.00
Consumo/ave/día (g)	101	101	102	102	102	101	0.50
Conversión (kg/kg)	2.14	2.18	2.20	2.11	2.12	2.11	0.03

Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ )

EEM Error Estándar de la Media

Tratamiento

1 Testigo

2 Bacitracina cinc 10%

3 Ac. Fumárico 39.8 y benzoico 19%

4 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24%

5 Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19%

6 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24% (agua de bebida) y Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19% (dieta)

**Cuadro 4.** Calidad del huevo de gallinas alimentadas con dietas adicionadas de ácidos orgánicos como promotor de crecimiento.

Variables	Tratamientos						EEM
	1	2	3	4	5	6	
% Huevo Roto	5.2a	4.2ab	3.7bc	2.5bc	2.7bc	2.3c	0.40
% Huevo Fáfara	1.6a	0.5b	1.2ab	0.6b	0.4b	0.5b	0.27
% Huevo Sucio	3.8ab	4.3a	4.7a	2.4b	4.9a	3.5ab	0.46

Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

EEM Error Estándar de la Media

Tratamiento

1 Testigo

2 Bacitracina cinc 10%

3 Ac. Fumárico 39.8 y benzoico 19%

4 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24%

5 Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19%

6 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24% (agua de bebida) y Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19% (dieta)

**Cuadro 5.** Calidad del cascarón del huevo de gallinas alimentadas con dietas adicionadas con ácidos orgánicos como promotor de crecimiento.

Variables	Tratamientos						EEM
	1	2	3	4	5	6	
Resistencia de cascaron (kg/m <sup>2</sup> )	1.26	1.22	1.35	1.26	1.27	1.25	0.10
Grosor de cascarón (mm)	0.305	0.303	0.314	0.307	0.304	0.303	0.02

Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.01)

EEM Error Estándar de la Media

Tratamiento

1 Testigo

2 Bacitracina cinc 10%

3 Ac. Fumárico 39.8 y benzoico 19%

4 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24%

5 Ac. Fórmico 28%, fumárico 19%y sórbico 19%

6 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24% (agua de bebida) y Ac. Fórmico 28%, fumárico 19%y sórbico 19% (dieta)

**Cuadro 6.** Integridad intestinal de gallinas alimentadas con dietas adicionadas con ácidos orgánicos como promotor de crecimiento.

Variables	Tratamientos						EEM
	1	2	3	4	5	6	
pH duodeno	6.02	5.88	5.98	5.91	6.00	5.94	0.04
pH yeyuno	5.98c	6.17bc	6.32ab	5.90c	6.18b	6.56a	0.08
Altura de vellosidades (µm)	673	667	655	664	642	670	66.18
Tiempo de tránsito intestinal (hrs)	2:50	2:53	3:05	3:15	2:57	3:18	3.16

Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.01)

EEM Error Estándar de la Media

Tratamiento

1 Testigo

2 Bacitracina cinc 10%

3 Ac. Fumárico 39.8 y benzoico 19%

4 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24%

5 Ac. Fórmico 28%, fumárico 19%y sórbico 19%

6 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24% (agua de bebida) y Ac. Fórmico 28%, fumárico 19%y sórbico 19% (dieta)

**Cuadro 7.** Calidad interna de huevos de gallinas alimentadas con dietas adicionadas de ácidos orgánicos como promotor de crecimiento.

Variables	Tratamientos						EEM
	1	2	3	4	5	6	
Unidades Haugh	83.7	82.8	83.5	83.3	82.5	80.4	7.95
Altura de la albumina (mm)	7.9b	7.6ab	8.7a	7.8ab	8.1ab	7.7ab	0.75
Color de la yema	9.6b	9.7ab	9.7ab	10.0a	9.8ab	9.7ab	0.93

Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

EEM Error Estándar de la Media

Tratamiento

1 Testigo

2 Bacitracina cinc 10%

3 Ac. Fumárico 39.8 y benzoico 19%

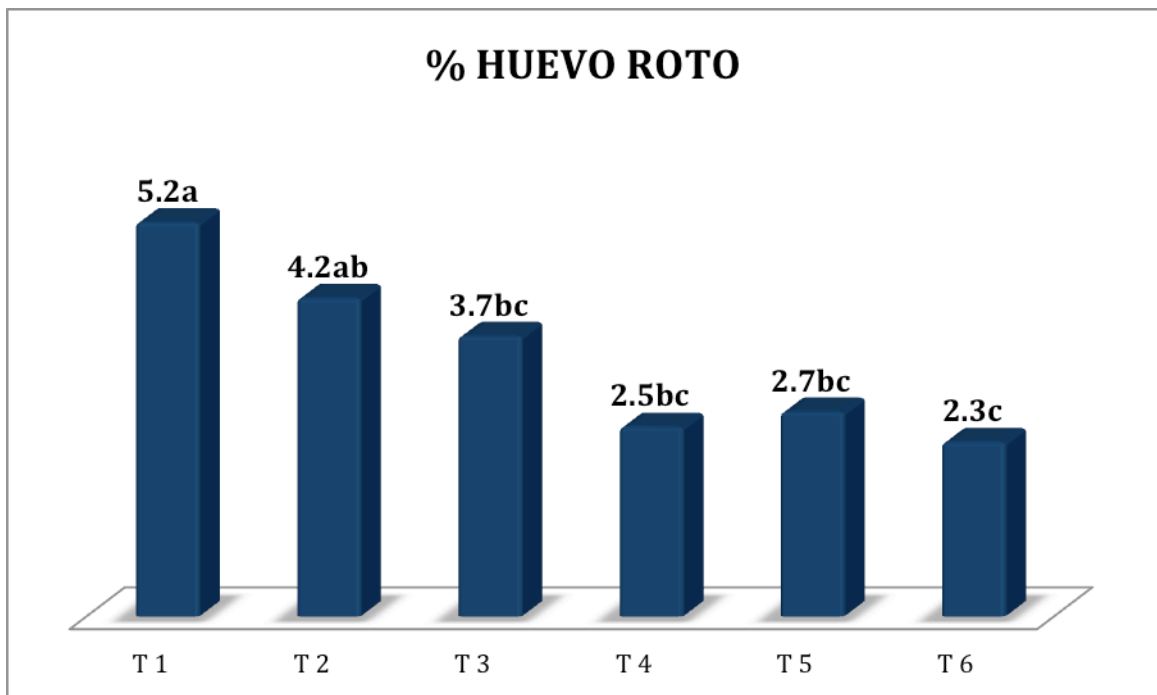
4 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24%

5 Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19%

6 Ac. Fórmico 50% y propiónico 24% (agua de bebida) y Ac. Fórmico 28%, fumárico 19% y sórbico 19% (dieta)

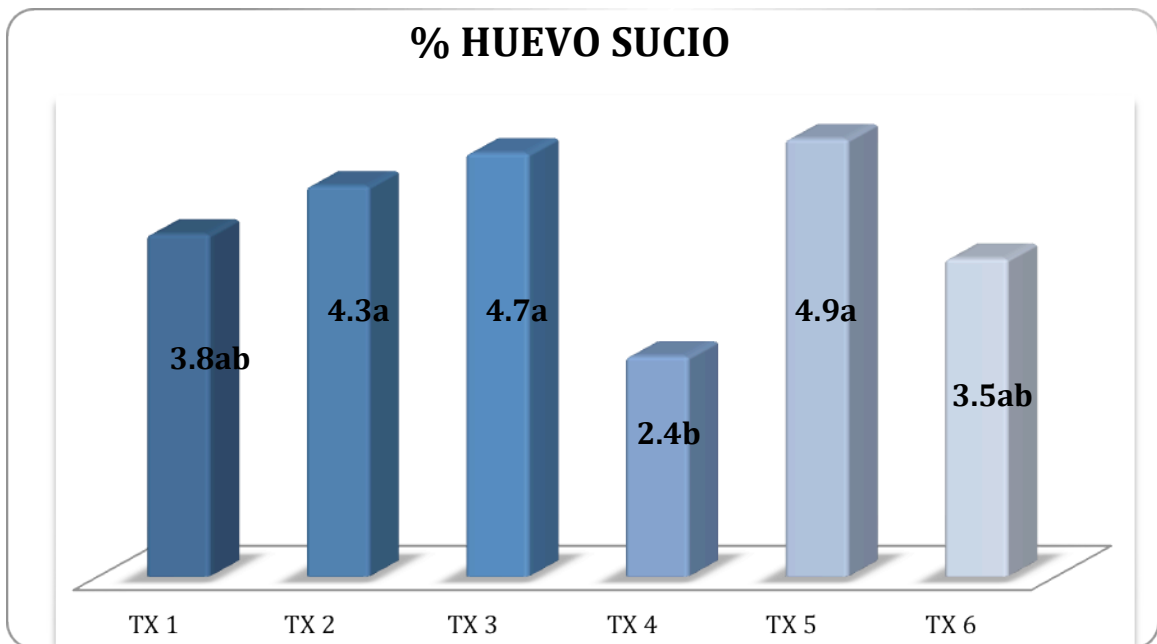
## 12. ANEXOS

**GRÁFICA 1.** Datos promedio de porcentaje de huevo roto.



Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

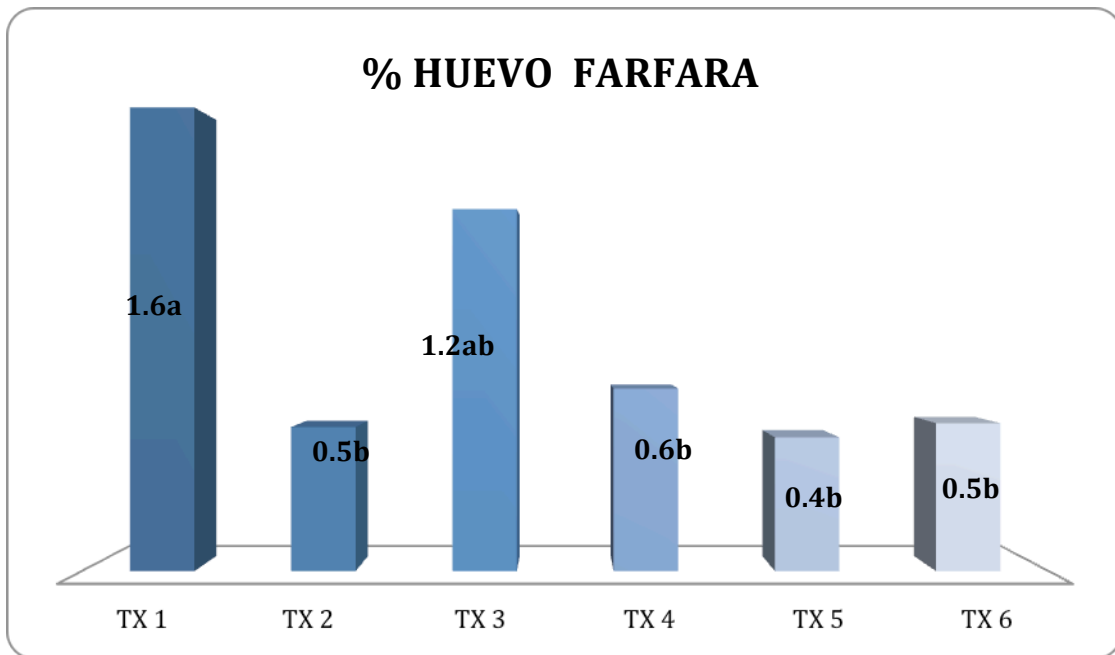
**GRÁFICA 2.** Resultados de porcentaje de huevo sucio



Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

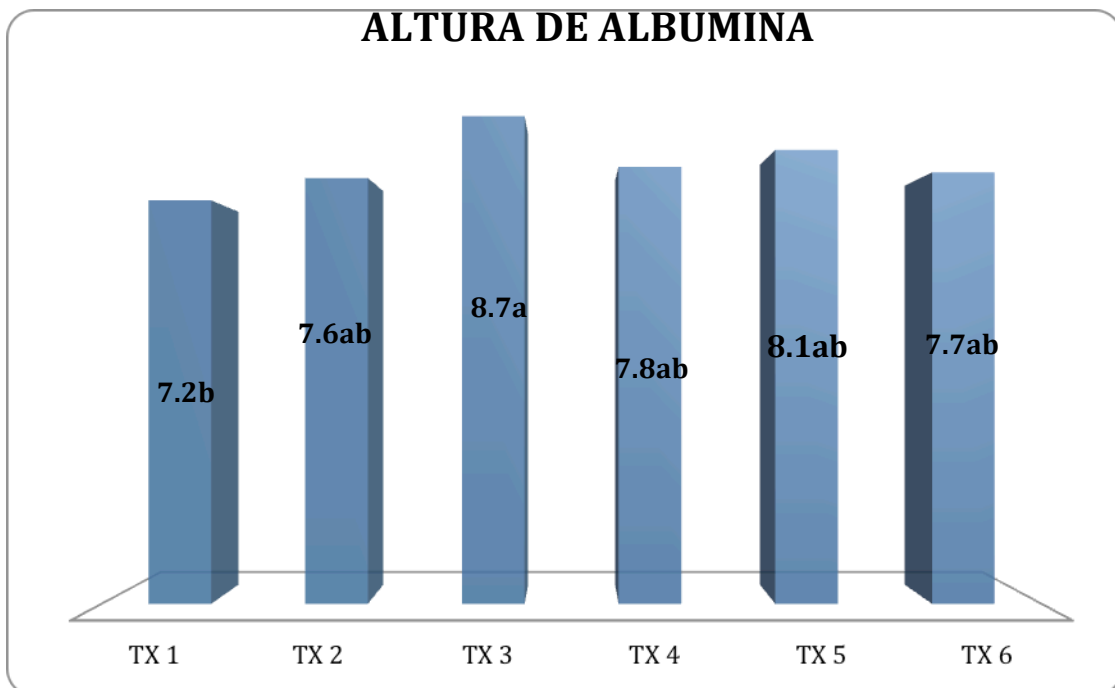


**GRÁFICA 3.** Resultados de porcentaje de huevo fárfara



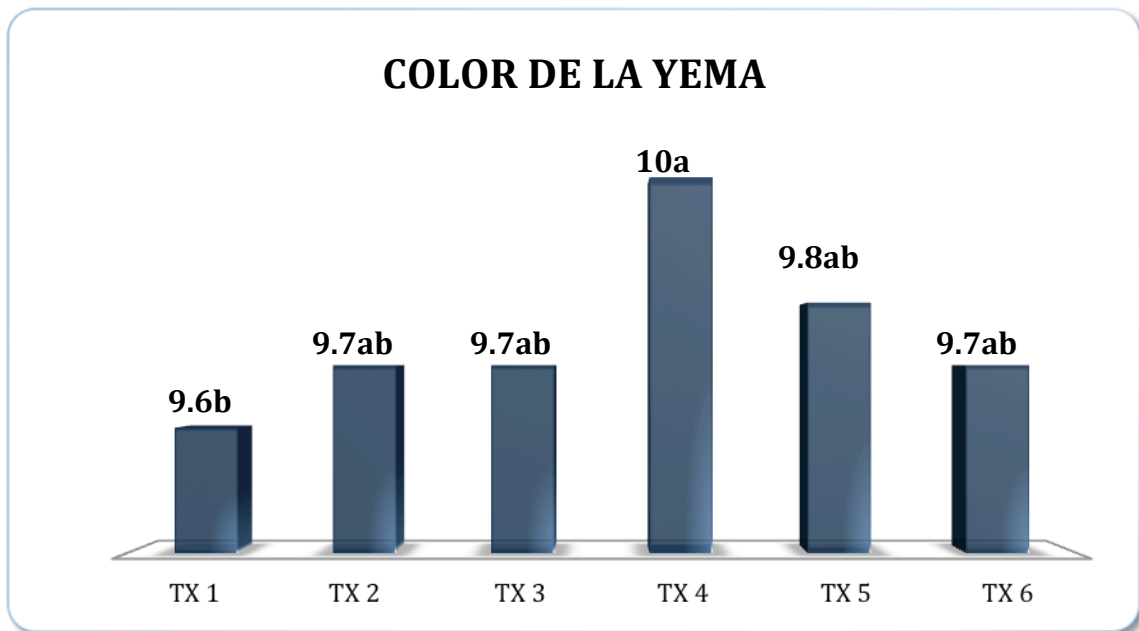
Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

**GRÁFICA 4.** Resultados de altura de la albúmina (mm)



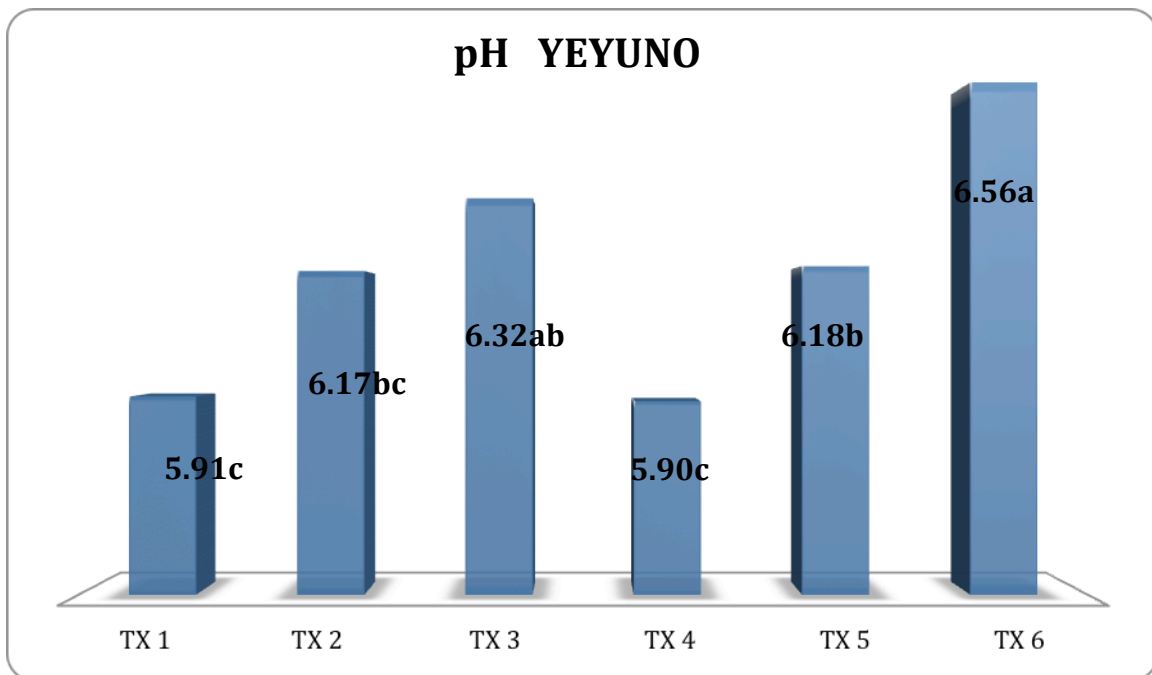
Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

**GRÁFICA 5.** Resultados del color amarillo de la yema



Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.01$ )

**GRÁFICA 6.** Resultados de pH en yeyuno



Valores con distinta letra son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ )