

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

---



**MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y BACTERIOLÓGICA DE  
POLLINAZA BAJO LA INFLUENCIA DE NITROCOMPUESTOS**

**POR:**

**M.V.Z. MARINA ONTIVEROS MAGADAN**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**ÁREA MAYOR: NUTRICIÓN ANIMAL**



Mejoramiento de la calidad nutrimental y bacteriológica de pollinaza bajo la influencia de nitrocompuestos. Tesis presentada por Marina Ontiveros Magadan como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, ha sido aprobada y aceptada por:

---

Ph. D. Carlos Ortega Ochoa  
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

---

Ph. D. Felipe Alonso Rodríguez Almeida  
Encargado del Despacho de la Secretaría de Investigación y Posgrado

---

D. Ph. Agustín Corral Luna  
Coordinador Académico

---

Ph. D. Oscar Ruíz Barrera  
Presidente

---

29 octubre 2018

Fecha

Comité:

Ph. D. Oscar Ruíz Barrera  
D. Ph. Yamicela Castillo Castillo  
M. P. E. A. Francisco Javier Camarillo Acosta  
D. Ph. Agustín Corral Luna

© Derechos Reservados  
MARINA ONTIVEROS MAGADAN  
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO FRANCISCO  
R. ALMADA KM. 1, CHIHUAHUA, CHIH.,  
MÉXICO C.P. 31453

OCTUBRE, 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por siempre darme oportunidades para progresar, apoyo y amor incondicional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por apoyarme al otorgarme la beca para poder realizar mis estudios de maestría en esta institución.

Al personal administrativo y docente de la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua por aceptarme dentro del programa de la Maestría en Ciencias en Producción Animal y Recursos Naturales.

Al personal administrativo y docente de la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por aceptarme dentro del programa de la Maestría en Ciencias y cursar la materia de su plan de estudios.

Al Ph. D. Robin Anderson por su esmero, hospitalidad y siempre estar en disposición para realizar experimentos brindado todo lo que este a su alcance para realizar investigación.

Al Ph. D. Oscar Ruiz por su apoyo incondicional durante mi estancia en la Maestría abriéndome de la manera más eficaz las puertas de la ciencia y potencializar mi formación académica.

A la D. Ph. Yamicela Castillo por su incansable motivación, consejos y dedicación. Gracias por estar a lo largo de mi ascenso profesional y personal.

Al Ph. D. Claudio Arzola por su amistad y atención en las dificultades, éxitos y ayuda a lo largo de mi estancia de la maestría.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, J. Martin Ontiveros y Juanny Magadan, que han sido una ayuda idónea para alcanzar la superación profesionalmente. Gracias por todo su apoyo incondicional, por su amor y por creer siempre en mí, este logro es de ellos.

A mi hija, Maritza Ontiveros Magadan, por la paciencia que día a día mostro ayudándome a terminar mis estudios de maestría. Gracias por las fuerzas y motivación.

A mis hermanos, Mariana y Martin Ontiveros, por contar con su hombro de apoyo y ayudarme día a día de una manera extraordinaria.

A mis abuelitas, Gracias por su motivación para seguir adelante elogiando cada logro en el transcurso de mi vida tanto profesional como personal.

A mi familia, que han sido siempre dignos de una grande admiración, ya que siempre cuento con ellos siempre a pesar de mis decisiones. Gracias por su motivación y apoyo sin igual.

A mis amigos, por estar conmigo en las buenas y en las malas a pesar de las circunstancias.

## **CURRICULUM VITAE**

La autora nació el 9 de Marzo de 1991 en la Ciudad de Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, México.

2010-2015	Estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez
2016	Obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista
2016 – 2018	Estudiante de Maestría en Ciencias en Producción Animal y Recursos Naturales de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.
2017 – 2018	Docente en las asignaturas de investigación en enfermería, ecología y salud, microbiología y bioquímica en el Programa de Enfermería de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez División Multidisciplinaria en Nuevo Casas Grandes

## RESUMEN

### MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y BACTERIOLÓGICA DE POLLINAZA BAJO LA INFLUENCIA DE NITROCOMPUESTOS

POR:

M. V. Z. MARINA ONTIVEROS MAGADAN

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D. Oscar Ruíz Barrera

El objetivo fue evaluar la acción bactericida de cuatro nitrocompuestos para eliminar patógenos en pollinaza. El compostaje es eficaz para eliminar patógenos nocivos, pero existe el riesgo de pérdida de nitrógeno como amoníaco, lo cual limita su utilización como alimento para rumiantes. Etilo de nitroacetato (ENA), 3-nitropropionato (3NPA), etilo 2-nitropropionato (E2NPA) y nitroetano (NE) fueron utilizados para tratar pollinaza de un año de aves no tratadas con antibióticos. La pollinaza se distribuyó en tubos, los cuales se inocularon con  $3.0 \log_{10}$  CFU  $g^{-1}$  de *Salmonella thyphimurium* (ST<sub>NN</sub>) resistente a novobiacina y ácido naladíxico y se incubaron a 37 °C por 6 días y subsecuentemente a 50 °C por 3 días. Al control sólo se añadió buffer. Muestras colectadas a las 3, 6 y 9 horas se sembraron en Petri-film 3M para el conteo de *Escherichia coli*/coliformes

totales y en cajas Petri con agar verde brillante para enumeración de ST<sub>NN</sub>. Amoníaco, ácido úrico y urea se midieron colorimétricamente. Se utilizó un análisis estadístico completamente al azar. Existió un efecto principal debido a los días de incubación, reflejando un efecto del compostaje, tanto en ST<sub>NN</sub> como en *E. coli*. Las poblaciones disminuyeron a niveles no detectables para el día 9. No se observaron interacciones entre el tratamiento y el día de incubación para ST<sub>NN</sub> o *E. coli*. Los efectos principales del tratamiento se observaron en el acúmulo de amoníaco y la degradación del ácido úrico ( $P < 0.05$ ). Los resultados sugieren que los nitro-compuestos ayudan a preservar el ácido úrico en la pollinaza, sin efecto en los conteos de *E. coli*.

## ABSTRACT

### NUTRIMENTAL AND BACTERIOLOGICAL IMPROVEMENT OF POULTRY MANURE UNDER NITROCOMPOUNDS INFLUENCE

BY:

MARINA ONTIVEROS MAGADAN

The objective was to evaluate the bactericidal action of several nitro compounds to eliminate pathogens in poultry litter. Composting is effective to eliminate harmful pathogens, but there is a risk of nitrogen loss such as ammonia, which limits its use as a feed for ruminants. Ethyl nitroacetate (ENA), 3-nitropropionate (3NPA), ethyl 2-nitropropionate (E2NPA) and nitroethane (NE) were used to treat one-year-old poultry litter not treated with antibiotics. The poultry litter was distributed in tubes and inoculated with  $3.0 \log_{10}$  CFU  $g^{-1}$  *Salmonella thyphimurium* (ST<sub>NN</sub>) resistant to novobiacin and naladixic acid and incubated at 37 ° C for 6 days and subsequently at 50 °C for 3 days. Only buffer was added to the control. Samples collected at 3, 6 and 9 hours were seeded in 3M Petri-film for the count of *Escherichia coli* / total coliforms and in Petri dishes with brilliant green agar for enumeration of ST<sub>NN</sub>. Ammonia, uric acid and urea were measured colorimetrically. A random statistical analysis was used. A main effect existed due to the days of incubation, which reflects an effect of composting, both in ST<sub>NN</sub> and in *E. coli*. The populations decreased to undetectable levels by day 9. No interactions were observed between the treatment and the incubation day for ST<sub>NN</sub> or *E. coli*. The main effects of the treatment were observed in the

accumulations of ammonia and the degradation of uric acid ( $P < 0.05$ ). Results suggest that nitro-treatment can help to preserve uric acid in the composted poultry litter, without effect on *E. coli* counts.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE GRÁFICAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
La Pollinaza Como Fuente de Nutrientes para los Rumiantes.....	3
Composición química.....	4
Valor energético para rumiantes.....	5
Contenido de nitrógeno como fuente de proteína para rumiantes.....	5
Formas de utilización de la pollinaza en la alimentación del rumiante.....	6
Salud Pública y su Relación con la Utilización de Pollinaza en la Alimentación de Rumiantes.....	7
<i>Salmonella</i> .....	7
<i>Escherichia coli</i> .....	9
Tratamientos para la Eliminación de Patógenos en la Pollinaza.....	10
Apilamiento profundo.....	10
Calentamiento y secado.....	12

Compostaje.....	12
Nitrocompuestos para la Conservación de Nitrógeno.....	15
Aplicación de los nitrocompuestos en la alimentación animal.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
Diseño del Experimento.....	21
Determinación de los conteos de <i>S. typhimurium</i> (ST <sub>NN</sub> ) y <i>E. coli</i> .....	23
Determinación de la Concentración de Amoníaco, Ácido Úrico y Urea.....	23
Análisis Estadísticos .....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
Efecto de los nitrocompuestos en la Población de <i>Salmonella typhimurium</i> (ST <sub>NN</sub> ) y <i>Escherichia coli</i> .....	24
Efecto de los nitrocompuestos en las Concentraciones de Amoníaco, Ácido Úrico y Urea de la gallinaza .....	31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	40
LITERATURA CITADA.....	41

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en las poblaciones de <i>Salmonella typhimurium</i> en pollinaza durante 3 días de incubación...	26
2	Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en las poblaciones de <i>Escherichia coli</i> (B) en pollinaza durante 3 días de incubación.....	27
3	Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en las poblaciones de <i>Salmonella typhimurium</i> en la pollinaza composteada...	29
4	Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en las poblaciones de <i>Escherichia coli</i> en la pollinaza composteada.....	30
5	Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la producción de ácido úrico en pollinaza durante 3 días de incubación.....	32
6	Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la acumulación de urea en pollinaza durante 3 días de incubación.....	33
7	Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la acumulación amoníaco en pollinaza durante 3 días de incubación.....	34
8	Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en el contenido de ácido úrico de pollinaza composteada. ....	36
9	Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en la acumulación de urea de pollinaza composteada.....	38
10	Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en la acumulación de urea y amoníaco de pollinaza composteada.....	39

## INTRODUCCIÓN

Es de sabios utilizar los recursos disponibles de cualquier fuente de nutrientes en cualquier parte donde se encuentre el productor ganadero. La pollinaza provee energía y minerales (Chaudhry *et al.*, 1996) y sobre todo es una fuente de nitrógeno no proteico, ideal para los rumiantes (Calderón y Elías, 2006). Contiene cantidades considerables de ácido úrico por lo que la hace una buena fuente de proteína cruda para la suplementación de rumiantes (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2017; Bakshi y Fontenot, 1998).

Sin embargo, existe polémica en cuanto a su utilización en la alimentación del ganado, debido a la inocuidad en lo que respecta al ser humano (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2017; Fuente y Barboza, 2010) ya que contiene bacterias patógenas indeseables y resistentes, razón por la cual necesita ser tratada antes de ofrecerla como alimento (Diario Oficial de la Federación, 1996). Entre las alternativas de tratamiento está el tratamiento por fermentación, que consiste en someter la pollinaza a altas temperaturas (al menos 60°C) por al menos 48 horas y así reducir el número de patógenos como en el compostaje; además es un método económico (Anderson *et al.*, 2009; Bakshi y Fontenot, 1998). Lamentablemente con esta práctica se reduce su valor nutricional (Castellanos *et al.*, 2000) debido a la degradación de ácido úrico a urea que conduce a la producción de amoníaco, el cual se volatiliza durante el almacenamiento aeróbico o anaeróbico (Bakshi y Fontenot, 1998; Kirchmann y Witter, 1989), lo cual demerita su valor proteico. Los inconvenientes mencionados con anterioridad llevan a la búsqueda de mejores técnicas de procesamiento de la pollinaza para

poder incluirla en la alimentación de los rumiantes, ya que lo deseable para cualquier tratamiento de este subproducto es aminorar la producción de amoníaco y así evitar su volatilización (Ortiz y Valdivié, 2009; Kim *et al.*, 2006; Kelleher *et al.*, 2002).

Los nitrocompuestos de cadena corta inhiben a las bacterias degradadoras de ácido úrico presente en la pollinaza, evitándose así las pérdidas de nitrógeno en forma de amoníaco, lo cual representa una alternativa viable para mantener el valor nutrimental de la pollinaza, (Kim *et al.*, 2009). Además, se ha demostrado que estos compuestos inhiben a bacterias productoras de metano y patógenas (Anderson *et al.*, 2009). Sin embargo, existen pocos estudios del impacto de éstos sobre el composteo de la pollinaza. Por lo que el objetivo de la presente investigación fue evaluar el valor nutrimental y bacteriológico de la pollinaza al añadirle diferentes nitrocompuestos bajo un tratamiento de compostaje corto. El beneficio de esta investigación ayudara en la preservación del nitrógeno no proteico presente en la pollinaza por el tratamiento del compostaje asegurando su inocuidad.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### La Pollinaza Como Fuente de Nutrientes para los Rumiantes

En la actualidad se utilizan diferentes estrategias para alimentar al rumiante buscando aprovechar los recursos disponibles de la mejor manera. Estos pueden ser desde los más cotidianos como los forrajes, pastos, granos hasta los menos convencionales según la disponibilidad del producto en la región. Debido al aumento en la población existe un aumento directamente proporcional en lo que a demanda de materias primas se refiere, lo que deriva en un aumento de la competitividad por la utilización de estos recursos para obtener nutrientes esenciales para el ganado para que así produzca carne o leche según su funcionalidad zootécnica. Se ha buscado la implementación de estrategias como el reciclaje de nutrientes como una buena alternativa para el cuidado al medio ambiente y además para el aprovechamiento de nutrientes por otros individuos (Reyes *et al.*, 2003). Desde hace muchos años se han utilizado los desechos de las granjas avícolas para alimentar al rumiante, y este es el caso de la pollinaza (Bush *et al.*, 2007; Kelleher *et al.*, 2002; Jeffrey *et al.*, 1998; Chaudhry *et al.*, 1995; Bhattacharva y Fontenot, 1965). La pollinaza es un subproducto pecuario que está constituida por las excretas de pollos en engorda mezclada con el material que se utiliza para estos animales como la cama y por lo general puede haber plumas o hasta restos de alimentos, lo que lo hace muy variable en cuanto a su composición nutricional (Mahmud *et al.*, 2015; Kelleher *et al.*, 2002; Tobía *et al.*, 2001; Terzichi *et al.*, 2000). Este es un recurso abundante y potencialmente contaminante, pero al darle una utilidad se aminora la

contaminación que estos producen al medio ambiente (Mahmud *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2006; Kelleher *et al.*, 2002). La pollinaza es ampliamente utilizada en la preparación de alimentos para rumiante; ya sea ovinos, caprinos o bovinos, debido a que es una fuente económica de energía y nitrógeno (Estrada, 2005). Chaudhry *et al.* (1995) reportan que se puede suministrar hasta un 50% de la ración de pollinaza tratada sin tener ningún efecto adverso en la salud del bovino siempre y cuando se tengan en cuenta el cobre presente al formular la ración y más si es suministrada a bovinos productores de leche, ya que estos son más susceptibles a este mineral (SAGARPA, 2012). Baluch-Gharaei *et al.* (2015) reportan que se puede ofrecer 450 g Kg<sup>-1</sup> de alimento en la dieta sin hacer daño en las dietas para borregos. Se ha observado que no hay diferencias significativas en la ganancia de peso por día en ganado bovino para engorda al ser alimentados con pollinaza en comparación con una dieta de engorda convencional, en cuanto a la producción de leche los resultados reportados por la literatura muestran que se mantiene la producción en animales alimentados con este subproducto (Bhattacharya y Taylor, 1975). Azizi-Shotorkhoft *et al.* (2013) indican que no existen variaciones en el pH del líquido ruminal al implementarse pollinaza en las raciones de los rumiantes.

**Composición química.** Esta depende del manejo de la cama de los pollos, ya sea que se utilice una cama de aserrín, de cascarillas de arroz o cacahuete entre otros tipos de camas (Kelleher *et al.*, 2002; Terzichi *et al.*, 2000). La pollinaza por lo general tiene en promedio un pH de 8 (Terzichi *et al.*, 2000). Frecuentemente no tiene más del 10% de humedad y tiene aproximadamente 30% de proteína cruda de la cual entre un 60-80% es nitrógeno no proteico

(Mahmud *et al.*, 2015), un 15% de fibra cruda y un 15% de cenizas, destacándose la cantidad de calcio con un 8.8% y fósforo con un 2.5% en base seca (Bush *et al.*, 2007; Bhattacharya y Fontenot, 1965). También se encuentran cantidades de magnesio, sodio, manganeso, cobre, hierro, zinc y en ocasiones arsénico (Mahmud *et al.*, 2015; Scott y McCann, 1998).

**Valor energético para rumiantes.** La pollinaza tiene aproximadamente 2,440 kcal.kg<sup>-1</sup> de energía bruta para bovinos y ovinos haciendo similar su valor energético a un buen forraje, pero de esta cantidad el aserrín aporta 2,000 kcal.kg<sup>-1</sup>. (Bhattacharya y Taylor, 1975), lo cual la sitúa en desventaja.

**Contenido de nitrógeno como fuente de proteína para rumiantes.** Este subproducto es altamente estimado por su valor de nitrógeno para los rumiantes (Scott y McCann, 1998). Tiene alrededor del 30% de proteína cruda en base de materia seca y dependiendo del tipo de cama puede aumentar hasta un 32% (Bhattacharya y Fontenot, 1965). El ácido úrico representa por lo general un poco más de la mitad haciéndolo una buena fuente de proteína cruda para la alimentación de rumiantes (Kelleher *et al.*, 2002; Bakshi y Fontenot, 1998; Scott y McCann, 1998). Los rumiantes pueden utilizar el ácido úrico presente en la pollinaza para satisfacer sus requerimientos de nitrógeno de igual manera que lo aportaría la soya (Bhattacharya y Fontenot, 1965). El ácido úrico es producido mediante la descomposición de los nucleótidos como lo son guanina y adenina con un compuesto intermediario en común que es la xantina (xanthine) (Mowrer *et al.*, 2016). El ácido úrico es una importante fuente de nitrógeno no proteico ya que se degrada más lentamente en el rumen que la urea, por lo tanto, existe más absorción de amoníaco en el rumen por los microorganismos (Azizi-Shotorkhoft *et*

*al.*, 2013) y puede incrementarse de esta manera la síntesis de proteína microbiana agregando azúcares altamente fermentables como la melaza (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2012).

En cuanto a la otra porción de la proteína bruta, la proteína verdadera, se encuentra en menor concentración (Bhattacharya y Taylor, 1975). Los aminoácidos presentes en ella son glicina, cisteína (1.2-1.7%), arginina (3-3.5%), treonina (1.9-2.2%), leucina (3.5-4.1%), Valina (2.8-3.3%), lisina (1.9-2.2%) y en ocasiones metionina (0.5-0.7%) (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2017; Kelleher *et al.*, 2002). La glicina puede variar con el tipo de cama utilizada, ya que con una cama de cáscaras de cacahuete puede aumentar hasta dos unidades más que con la cama de aserrín (Bhattacharya y Fontenot, 1966). Estos mismos autores indican que existe un coeficiente de digestibilidad de proteína cruda de la pollinaza de alrededor del 70% cuando se agrega hasta un 25% de la ración.

#### **Formas de utilización de la pollinaza en la alimentación del rumiante.**

La pollinaza se ofrece de formas distintas y es utilizada principalmente como suplemento tanto para animales en pastoreo como para animales en estabulación. Para la suplementación de animales en pastoreo o como parte de la dieta del ganado en estabulación se puede ofrecer al rumiante en una mezcla que contenga alimento concentrado, ya sea granos (sorgo, triticale, maíz y avena) junto con melaza para darle la palatabilidad adecuada además de disminuir el mal olor. También puede ser mezclada la pollinaza con una porción de forraje de alta calidad después del pastoreo (INIFAP, 2007).

Ofrecer la pollinaza en bloques nutricionales puede ser otra alternativa de suministrarla ya que al mezclarla con ingredientes de alta calidad le proporciona

una mejor aceptación por los rumiantes (INIFAP, 2007), incluso son una opción en época de sequía en donde los pastos son de baja disponibilidad y digestibilidad, características que dificultan la obtención de nutrientes tanto proteicos como energéticos (INIFAP, 2003).

### **Salud Pública y su Relación con la Utilización de Pollinaza en la Alimentación de Rumiantes**

La pollinaza es un subproducto económico de alto valor nutricional para los rumiantes, pero contiene diversas cantidades de microorganismos patógenos que pueden infectar a los rumiantes y por el consumo de derivados de estos a los humanos (Solimanm *et al.*, 2009; Bush *et al.*, 2007; Himathongkham y Riemann 1999; Jeffrey *et al.*, 1998; Scott y McCann, 1998). En cuanto a la salud humana Haapapuro *et al.* (1997) indican que existe un aumento en la intoxicación alimentaria debido a incrementos en las tasas de resistencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en los humanos debido a la contaminación de los alimentos. Estas bacterias se encuentran normalmente en las excretas de los pollos (Suárez y Mantilla, 2000; Scott y McCann, 1998). Las bacterias sobrevivientes de este subproducto pasan al animal hospedero y crean resistencia a antibióticos (Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016). Éstas mismas cepas resistentes a antibióticos que afectaron primero al animal aparecen después en humano afectando su salud (Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016; Haapapuro *et al.*, 1997).

**Salmonella.** Son un género de bacterias gram negativo, anaerobios facultativos que reducen los compuestos nitratos a nitritos (Chávez *et al.*, 2016; Parra *et al.*, 2002). Pertenecen a la familia enterobacteriácea responsables de causar infección en los humanos como lo es la fiebre tifoidea, salmonelosis y la

gastroenteritis (Chávez *et al.*, 2016; Solimanm *et al.*, 2009; Parra *et al.*, 2002) con importante impacto en la morbilidad en niños y ancianos (Parra *et al.*, 2002), la mortalidad no es muy común (Parra *et al.*, 2002). La infección por *Salmonella* es común en animales de todo el mundo, donde la infección es adquirida vía oral por consumir alimentos derivados o que tengan contacto con aves como lo es la pollinaza (Solimanm *et al.*, 2009; Liljebjelke *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2002). Estas bacterias pueden contaminar las canales de animales después del sacrificio. Es la principal causa de intoxicación alimentaria en el Reino Unido, Estados Unidos, y en el Nordeste de Colombia (Koochmaraie *et al.*, 2012; Parra *et al.*, 2002; Terzichi *et al.*, 2000). La infección se lleva a cabo en el intestino delgado y en el colon, penetrando en las microvellosidades de los enterocitos para después entrar al torrente sanguíneo e introducirse en las células efectoras que secretan proteínas y a consecuencia desequilibran la función celular. El uso de antibióticos para obtener mayor producción en la medicina veterinaria ha aumentado el desarrollo de cepas resistentes a los tratamientos en humanos (Solimanm *et al.*, 2009; Parra *et al.*, 2002). Es necesario vigilar la cadena alimentaria desde los alimentos hasta la producción de alimentos cárnicos para así evitar la zoonosis (Peña *et al.*, 2011). En estudios se ha comprobado que existe la presencia de *Salmonella* en cárnicos (Bello *et al.*, 1990). Torres *et al.* (2013) y Corrales *et al.* (2008) reportan que han identificado *Salmonella* en guantes de los manipuladores de carne de bovinos. Nayarit-Ballesteros *et al.* (2016), Gragg *et al.* (2013) y Koochmaraie *et al.* (2012) sugieren que la contaminación con cortes y carne molida de res se debe a que la *Salmonella* se encuentra en los nódulos linfáticos en la carne cruda. Gragg *et al.* (2013) indican que en un estudio

realizado en México en las ciudades de Monterrey, Guadalajara y Ciudad de México en un total de 262 muestras se detectó la bacteria de *Salmonella* en 8% de las carnes compradas, ya sea en supermercados, vendedores y carnicerías. La sobrevivencia de la *Salmonella* en la pollinaza ha sido reportada que se debe tanto a factores químicos como físicos dentro de los que se encuentran la humedad, la temperatura y el pH. Se ha encontrado que crecen en un rango de pH que va desde 3.6 a 9.5, siendo el pH óptimo para su crecimiento cerca del neutral (Solimanm *et al.*, 2009) y puede ser eliminada a 90°C con 15% de humedad (Bush *et al.*, 2007; Parra *et al.*, 2002). Solimanm *et al.* (2009) encontró que los factores más significativos para evitar la sobrevivencia de *Salmonella* son el pH de la pollinaza y la humedad relativa.

***Escherichia coli.*** Es una bacteria anaerobia facultativa de la flora normal del intestino tanto de animales como de humanos, comúnmente causan diarreas en niños menores de dos años reportándose elevadas tasas de mortalidad en niños menores de seis meses en México (Ballmer *et al.*, 2007; Vidal *et al.*, 2007; Winfield y Groisman, 2003; Flisser *et al.*, 2002). La enfermedad empieza cuando las personas han adquirido poblaciones de *E. coli* por la ingestión de comida contaminada provocando un desequilibrio poblacional en el nicho de bacterias en el intestino (Winfield y Groisman, 2003). La *E. coli* fue reconocida como patógeno asociado en el consumo de carne de res en 1982 (Riley *et al.*, 1983.). y en la actualidad se han identificaron poblaciones de *Escherichia coli* en guantes de los manipuladores de canales de res (Corrales *et al.*, 2008). Es necesario poner vigilancia para disminuir las poblaciones de *E. coli* contaminantes de alimentos de origen animal para humanos y aumentar las buenas prácticas en la

elaboración de alimentos ya que se encuentra en los nódulos linfáticos y estos fueron infectados debido al mal manejo de heces de otros animales que se les administran como alimentos alternativos como lo es la pollinaza (Barkocy-Gallagher et al., 2003).

### **Tratamientos para la Eliminación de Patógenos en la Pollinaza**

En el *Codex alimentarius* se recalca que se debe establecer un sistema de inocuidad en la elaboración de piensos que son destinados para los animales que se van a ser consumidos por los humanos (FAO y OMS, 2009). Por ende, antes de ofrecer la pollinaza al rumiante se debe de dar un procesamiento para eliminar el total o lo más posible de los organismos patógenos presentes (Ruiz-Barrera et al., 2018; Baluch-Gharaei et al., 2015; Kwak et al., 2005). Por lo tanto, se llevan a cabo prácticas para aminorar la presencia de patógenos como la *Salmonella* y la *E. coli* que puedan percutir en la salud humana. Éstas son el apilamiento profundo (deep-stacking), el calentamiento o secado, el compostaje entre otras (Arzola et al., 2017; Ruiz-Barrera et al., 2016; Baluch-Gharaei et al., 2015; Kwak et al., 2005; Haapapuro et al., 1997; Kirchmann y Witter. 1989).

**Apilamiento profundo.** Esta técnica es la más utilizada ya que sólo consta del apilamiento de la pollinaza empleando por lo general un pozo con una profundidad de 1.2 m o más para impedir la putrefacción de la pollinaza sin utilizar algún equipo especial (Kwak et al., 2005; Chaudhry et al., 1995). Baluch-Gharaei et al. (2015) aseguran que el apilamiento profundo es un método efectivo y confiable para eliminar los patógenos que se encuentran en la pollinaza donde se alcanzan temperaturas de entre 40-60°C (Baluch-Gharaei et al., 2015; Kwak et al., 2005; Bakshi y Fontenot, 1998). Sin embargo, con esta técnica el nitrógeno

total y el carbono total tienden a disminuir (Baluch-Gharaei *et al.*, 2015; López *et al.*, 2002), perdiendo el potencial de obtención de nitrógeno para el rumiante (López *et al.* 2002). Esto ocurre debido a que el nitrógeno en la pollinaza, en sus varias formas, es transformado por microorganismos dependiendo del pH, temperatura, humedad y presencia de oxígeno (Kelleher *et al.*, 2002). A mayor actividad microbiana en la pollinaza mayor es la pérdida de amoníaco (Kim *et al.*, 2006). Kelleher *et al.* (2002) indican que en condiciones medioambientales un gran porcentaje de nitrógeno es convertido a amoníaco. En pollinaza fresca se puede perder entre un 40-90% del nitrógeno en forma de amoníaco (Mahmud *et al.* 2015). En este tipo de procesamiento se reporta que entre mayor la profundidad mayor la formación de amoníaco (Bush *et al.*, 2007). Además, estos mismos autores reportaron que a 15 cm sobre el nivel del suelo se produjeron 3.64 g kg<sup>-1</sup> y a 213 cm se produjeron 4.27 g kg<sup>-1</sup>. El amoníaco se puede presentar en forma de gas (NH<sub>3</sub>) o en forma ionizada (NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> ambos presentando solubilidad en agua; lo alarmante es que el NH<sub>3</sub> puede ser perdido por la volatilización hacia la atmosfera contaminándola (Mahmud *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2006; Kelleher *et al.*, 2002). Mientras que el NH<sub>4</sub> puede ser utilizados por digestión anaeróbica por microorganismos nitrificantes convirtiéndolo a nitrato para después utilizar el amoníaco para sintetizar proteína bacteriana (Ramírez *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2007; Kelleher *et al.*, 2002). Se ha encontrado que el amoníaco reduce significativamente patógenos no formadores de esporas (Himathongkham y Riemann 1999) pero cuando la pollinaza es degradada anaeróticamente por los microorganismos presentes se expide un exceso de amoníaco teniendo este un potencial de destruir compuestos orgánicos y perdiéndose éstos en forma de

ácidos volátiles además de disminuir la cantidad de ácido úrico presente en la pollinaza perdiendo su potencial como alimento rico en proteína no proteica (Arzola *et al.*, 2017; Ruiz-Barrera *et al.*, 2017; Mahmud *et al.*, 2015). Además, Kwak y Huh (2004) aislaron colonias de Salmonella con este método, haciéndolo un tanto deficiente en cuanto a la inocuidad como en la retención de nitrógeno.

**Calentamiento y secado.** Esta práctica ha sido muy atractiva para el sector salud, ya que el calentamiento aniquila a los patógenos con mayor efectividad que al tratar la pollinaza con apilamiento profundo (deep-stacking) (Himathongkham y Riemann 1999; Haapapuro *et al.*, 1997). Este proceso consiste en poner la pollinaza en un tambor o un secador en donde por medio de aire caliente la temperatura es elevada como en un horno alcanzando temperaturas hasta de 150°C (Haapapuro *et al.*, 1997). Este tratamiento es caro y además las temperaturas que se emplean para secar reduce el valor nutrimental ya que se reduce la proteína presente (Kwak *et al.*, 2005; Haapapuro *et al.*, 1997).

**Compostaje.** Este método está mediado principalmente por microorganismos termófilos para producir el calor y así generar un producto estable y libre de patógenos (Riera *et al.*, 2014; Kelleher *et al.*, 2002). El compostaje es la descomposición y estabilización biológica de los materiales orgánicos que se suministran a este tratamiento (Mahmud *et al.*, 2015; Riera *et al.*, 2014). Es reconocido como un tratamiento natural para suministrar recursos orgánicos y cerrar los ciclos naturales que han sido interrumpidos por el abandono de técnicas naturales (Moreno y Moral, 2008). Los residuos orgánicos siempre tienen un número determinado de microorganismos endógenos como *E.*

*coli*, *Salmonella*, entre otros dependiendo de la procedencia del recurso. Por lo tanto, la importancia de este proceso biológico es estabilizar la población microbiana patógena por medio de temperatura (Kelleher *et al.*, 2002).

Las variables que afectan a los sistemas de compostaje ya sean de pequeña escala (nivel laboratorio) o a escala industrial se pueden clasificar en dos tipos principales que son los parámetros de seguimiento y los parámetros de origen (Moreno y Moral, 2008).

Los parámetros de seguimiento corresponden a aquellos que se van midiendo a lo largo del proceso de composteo para asegurar que el proceso se lleve correctamente (Moreno y Moral, 2008). En esta sección se mide la temperatura, la humedad, el pH, y la presencia o ausencia de oxígeno dependiendo de lo que se quiera medir (Moreno y Moral, 2008), para este caso se tomará en cuenta la anaerobiosis.

La temperatura es fundamental, ya que cada especie de microorganismo tiene un intervalo de temperatura óptima en el que su actividad es mayor y además más efectivas teniendo en cuenta que no es muy recomendable elevar la temperatura. A temperaturas elevadas los nutrientes se transforman o se volatilizan en mayor porcentaje por lo tanto se debe tener en cuenta la temperatura ideal (Moreno y Moral, 2008). Mahmud *et al.* (2015) indican que la temperatura deseable para compostar va en un rango de entre 55°C a 60°C ya que arriba de esta temperatura los compuestos nitrogenados se pierden formando el amoníaco si se compostea en un periodo de tiempo largo, lo cual es indeseable que se pierda.

La humedad en el proceso del compostaje es esencial ya que éste es un proceso biológico en donde sucede la descomposición de la materia orgánica, por lo que es de suma importancia la presencia del agua en la composta (Moreno y Moral, 2008). La humedad es una variable crítica para la formación del compostaje ya que pequeñas variaciones de humedad provocan grandes cambios en la temperatura (García, 2016).

El pH es primordial, si existe un descenso del pH drástico indica que las condiciones anaeróbicas están liberando ácidos orgánicos disminuyendo la calidad del alimento (Moreno y Moral, 2008). El pH tampoco se debe elevar por encima de 7.5 ya que existe una descomposición de la fuente de nutrientes eliminando así el objetivo de utilizarlo como alimento. Por otra parte, la degradación orgánica se inhibe a pH bajos por lo tanto Mahmud *et al.* (2015) sugieren que este debe mantenerse en un rango de 6.5 a 7.2. Esto se puede mantener con un buen equilibrio de C: N ya que en las reacciones bioquímicas se liberan dióxido de carbono (que es un ácido débil) y  $\text{NH}_3$  (que es una base débil) haciendo el compostaje un proceso donde se puede mantener en un rango neutral (Mahmud *et al.*, 2015; Haug, 1993).

Moreno y Moral (2008) indican que los parámetros de origen a diferencia de los parámetros de seguimiento son los que se encuentran en relación con el inicio del proceso; van de acuerdo con la naturaleza del sustrato. En estos parámetros se evalúa el tamaño de partícula, la relación carbono y nitrógeno, nutrientes y materia orgánica. El tamaño inicial de las partículas del sustrato a compostar es necesario tomar en cuenta debido a que entre mayor sea la

superficie expuesta mayor será el ataque microbiano acelerando o no la velocidad de descomposición (Moreno y Moral, 2008).

Al momento de compostar se busca que se retenga la mayor parte de carbono y nitrógeno en el producto, es por esto por lo que se mide la relación de carbono y nitrógeno (Bohórquez *et al.*, 2014). La relación C: N es un factor muy importante explican Escobar *et al.* (2012) debido a que influye en la velocidad en el que la cantidad de amoníaco se volatiliza en la composta. Entre menor sea la relación C: N mayor será la pérdida de amoníaco (Kelleher *et al.*, 2002). Esta relación debe ser 30 carbonos por una de nitrógeno, si la relación es menor el compostaje es más rápido pero el exceso de nitrógeno se desprende en forma amoniacal produciéndose una auto regulación de la relación C: N del proceso (Moreno, 2008). Kelleher *et al.* (2002) menciona que las desventajas de compostar la pollinaza es que se pierde nitrógeno y otros nutrientes, pero retiene más amoníaco que otros tipos de tratamientos. Durante el proceso de amoníaco el ácido úrico es la fuente de nitrógeno más dominante de la pollinaza y este es convertido en alantoína por un grupo de microorganismo que contienen la enzima uricasa (Kim y Patterson, 2005), para después ser convertidos por otras enzimas microbianas a  $\text{NH}_3$  por lo que al interrumpir la serie de reacciones enzimáticas que producen estos microorganismos es una estrategia que se puede utilizar para retener el ácido úrico en la pollinaza (Mowrer *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2006).

Además, Dolliver (2008) reporta que por medio del compostaje se puede reducir concentraciones de antibióticos solubles en agua y la monensina. En el estudio por Dolliver (2008) realizó un compostaje de un periodo de 22- 23 días tuvo como resultados la degradación rápida de la clortetraciclina hasta un 99%,

la monensina y la tilosina se degrada gradualmente hasta un 54-76% a partir del día 17 pero la sulfametazina no se degrada.

### **Nitrocompuestos para la Conservación de Nitrógeno**

Los nitrocompuestos son cadenas de hidrocarburos que contienen un grupo nitro (Feduchi *et al.*, 2011) y han sido encontrados recientemente ser una alternativa viable para evitar la utilización de los antibióticos e ionóforos (Brown *et al.*, 2011) en las dietas de rumiantes, para disminuir la emisión del gas metano al medio ambiente, acelerando el calentamiento global (Broucek, 2014; Bonilla y Lemus, 2012; Carmona *et al.*, 2005). El grupo activo nitro es importante para la reducción de los procesos biológicos por lo que se han demostrado ser aceptores de electrones en la fase terminal de la fermentación ruminal (Morales, 2012), reduciendo la producción de metano (Zhang y Yang, 2011).

Los nitrocompuestos mayormente utilizados en las investigaciones de esta índole son los clasificados como alifáticos y aromáticos dependiendo de la presencia de los diferentes álcalis (Zhang *et al.*, 2018). Ejemplos de los nitrocompuestos utilizados son el 3-nitro-1-propionico, nitroetano, 2-nitroetanol, 2-nitro-1-propanol (Correa *et al.*, 2017; kim *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2003). Sin embargo, sólo se describirán los utilizados en esta investigación.

El ácido 3 nitropropiónico (3NPA) ha sido ampliamente estudiado, es también llamado 3 nitropropionato, ácido  $\beta$ -nitropropiónico (Shaw y DeAngelo, 1969), ácido hiptagénico (Soriano del Castillo, 2015; Candlish *et al.*, 1969) y bovinocidin (Anzai y Suzuki, 1960). Es una toxina soluble en agua que tiene la capacidad de vasodilatar los vasos periféricos que disminuye el ritmo de circulación sanguínea hacia el cerebro además de la conversión de hemoglobina

a metahemoglobina que causa una reacción anóxica resultando la ineficiencia de la hemoglobina para transportar oxígeno (Soriano del Castillo, 2015; Cortés-Sánchez y Mosqueda-Olivares, 2013). A nivel molecular este compuesto actúa en la inhibición de la enzima succinato-deshidrogenasa por medio de la oxidación del ácido 3-nitropropionico a 3 nitroacrilato por lo que causa que se bloquee la enzima ya que forma una adherencia con la base catalítica de arginina en el sitio de acción (Huang et al., 2006). En rumiantes pueden disminuirse los efectos tóxicos por esta toxina con *Denitrobacterium detoxificans*, estas son un grupo de bacterias anaerobias gram-positivas, (Anderson et al., 2000). No sólo tiene efectos negativos también se utiliza para usos farmacológicos como en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (Guridi et al., 2004), enfermedad de Huntington (Serrano, et al., 2011) entre otros padecimientos neurológicos. No existe evidencias que esta toxina sea carcinogénica ni mutagénica (Soriano del Castillo, 2015). El metabolito 3 nitropropiónico es un metabolito secundario de las siguientes plantas: *Cirsium avense*, *Astragalus falcatus* (Strange, 2017), *Lotus uliginosus* L. *pedunculatus*, *Securigeva orientalis*, *Coronilla varia*, *Securigeva parviflora*, *Coronilla viminalis*, *Securigeva securidaca*, *Corynocarpus laevisatus*, *Securigeva varian*, *Hippocrepis balearica*, *Scorpiurus muricatus*, *Hippocrepis comosa*, *Scorpiurus vermicutatus*, *Hippocrepis emerus*, *Viola ordarata*, *Hippocrepis unisiliquosa*, *Indigofera spicata* (Sanberg, 2000; Hamilton, 1999). En *Indigofera spicata* el metabolito precursor de la formación de este nitrocompuesto es ácido malónico o algún derivado de malonato ya sea malonil monohidroxamato-2 u otro. (Candlish et al., 1969; Francis et al., 2013). Francis et al. (2013) explican que por medio del malonato seguido de una reacción para

convertirlo en malonil CoA por una tioquinasa. Seguido de esta reacción la malonil CoA es aminado e hidroxilado para convertirlo a malonilmonohidroxamato. Este es reducido para después producir un compuesto nitroso que va al segundo paso de la oxidación para formar el 3-nitropropionato. Se explica que si no hay disponibilidad del malonil CoA entonces es incorporado un  $^{14}\text{C}$ , un intermediario del metabolismo en las plantas y formar el 3-nitropropionato (Francis et al., 2013).

Casi no existe información del etilo de nitroacetato (ENA). Pero el nitroacetato es un análogo del compuesto malonato el cual reacciona con la enzima deshidrogenasa por lo que inhibe la oxidación del succinato en el transporte de electrones en las mitocondrias; esta inhibición es reversible (Alston et al., 1980). Shipchandler (1979) indica que este éster derivado del ácido nitroacético es de suma importancia en la síntesis de numerosos aminoácidos y compuestos derivados.

De igual manera no existe mucha información del etilo de 2-nitropropionato (E2NPA) que es un nitrocompuesto alifático (Feng, 2016). También llamado etilo de 2-nitropropanoate (National Center for Biotechnology Information, 2018). Se ha encontrado que el 2 nitropropano es isoelectrónico con la alanina y funciona como un sustrato para la enzima flavoenzima aminoácido oxidasa (Alston et al., 1980). Además, Alston et al. (1980) describen que es un inhibidor de las enzimas fumarasa y aspartasa como el 3-nitropropionico, pero este es reversible (Alston et al., 1980). Tiene una gran afinidad a la succinato deshidrogenasa y químicamente muy similar a un antibiótico tóxico elaborado por *Streptomyces noursei* llamado ácido nitraminoacético (Alston et al., 1980). Kar et al. (2016)

encontraron que este nitrocompuesto se produce en las plantas *Elaeagnus pyriformis* y *Myrica nagi* utilizadas para fines medicinales en la India.

El nitrocompuesto alifático nitroetano (NE) es incoloro, con aspecto aceitoso es insoluble en agua que no se ha encontrado ser producido biológicamente (Zhong *et al.*, 2018). Se ha encontrado que disminuye desde el 44% al 69% de las emisiones de metano al ser suministrado en la fermentación ruminal (Brown *et al.*, 2011; Gutiérrez-Bañuelos *et al.*, 2008; Anderson *et al.*, 2006). Se ha encontrado que este nitrocompuesto disminuye la concentración de H<sub>2</sub> e impide la oxidación del formato aminorando la metanogénesis (Anderson *et al.*, 2010) Božić, *et al.* (2009) indica que lamentablemente la producción del ácido graso volátil acético se reduce con este nitrocompuesto. También se ha encontrado que el nitroetano inhibe el crecimiento de patógenos que infectan al humano por medio de los alimentos de origen animal contaminados como lo es la *Salmonella* y *Escherichia coli* (Gutiérrez-Bañuelos *et al.*, 2007).

**Aplicación de los nitrocompuestos en la alimentación animal.** Kim *et al.* (2006) conscientes de su toxicidad demostraron que ciertos nitrocompuestos de cadena corta tienen la capacidad de inhibir la producción de urea por lo tanto existe posibilidad de que por medio de estos se pueda inhibir también la degradación de urea de la pollinaza para así conservar este potencial nutriente después o al estar recibiendo un tratamiento para que sea inocuo (Kim *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2006) Esto principalmente a que existe una reducción de la bacterias utilizadoras de ácido úrico (Ruiz-Barrera *et al.*, 2017), donde se ha observado un aumento de la retención de nitrógeno hasta un 50% del valor total de la pollinaza. Esto debido a que se han encontrado que los nitrocompuestos

pueden interrumpir las reacciones enzimáticas en la pollinaza para evitar la formación de amoníaco y perder el valor nitrogenado de la pollinaza en la volatilización de éste (Kim *et al.*, 2006). Anderson *et al.* (2009) demostraron que los nitrocompuestos además de inhibir el crecimiento de bacterias productoras de metano también inhiben el crecimiento de patógenos que afectan a la salud del ganado. Últimamente se ha comprobado tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* que estos compuestos tienen efecto bactericida sobre bacterias patógenas tales como *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli* O157:H7 y *Shigella sp.* por lo que pueden coadyuvar al tratamiento de compostaje para asegurar la salud tanto del animal como del humano (Ruiz-Barrera *et al.*, 2017; Mowrer *et al.*, 2016; Smith y Anderson, 2013; Dimitrijevic *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2006; Jung *et al.*, 2004).

Además, se ha observado que al acidificar el producto se retiene el amoníaco y entre mayor alcalinidad más se volatiliza (Mowrer *et al.*, 2016; Kirchmann y Witter, 1989). De esta forma se consigue limpiar el aire de amoníaco procedente de la volatilización de este compuesto en la pollinaza durante el proceso de compostaje y se retiene además el contenido de nitrógeno conservando su valor proteico para ofrecerse como alimento a los rumiantes. Además, entre mayor el pH mayor la población de bacterias (Terzichi *et al.*, 2000) ya que se ha observado que se reducen las poblaciones de *Salmonella* y *E. coli* con un pH de 4 (Solimanm *et al.*, 2009). Mowrer *et al.* (2016) indica que al añadir nitropropanol y nitroetanol acidifican la pollinaza disminuyendo así la producción de amoníaco; por lo que retuvo la cantidad de ácido úrico en la pollinaza.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del Experimento

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Investigación en Agricultura del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ubicado en 3833 S Texas Ave Street 112, College Station, Texas 77802-4000.

En el primer experimento se evaluó el efecto de cuatro tratamientos de los nitrocompuestos: etilo de nitroacetato (ENA), 3-nitropropionato (3NPA), etilo2-nitropropionato (E2NPA), nitroetano (NE) y un control. La pollinaza fue rociada con cada uno de los tratamientos y posteriormente se sometió a un periodo de compostaje de tres días. Las muestras se recolectaron en el día 0 y 3. En el segundo experimento se evaluó el efecto de los nitrocompuestos ENA y 3NPA y un control, simulando un compostaje de larga duración que constó de nueve días. Las muestras de cada tratamiento se recolectaron los días 0, 3, 6, y 9.

La pollinaza, se recolectó de una granja de las instalaciones de la Universidad Texas A&M, la cual contaba con aproximadamente un año de antigüedad y en ella se criaron 2 o 3 grupos de pollos de engorda que no tuvieron exposición a antibióticos o coccidiostáticos. La pollinaza se depuró en un cernidor que sólo permitió pasar partículas de 17 mm de diámetro y al momento de su uso en los experimentos esta no contaba con *Salmonella* o *Campylobacter* viables, lo que fue comprobado con métodos cualitativos de cultivos tradicionalmente utilizados en microbiología.

En el primer experimento se rociaron por separado, una porción de 200 gramos de la pollinaza con 100 mL de etilo de nitroacetato (ENA), otra porción

de 200 gramos con 100 mL 3-nitropropionato (3NPA), la misma cantidad con etilo de 2-nitropropionato (E2NPA) y por último otra porción con 100 mL de nitroetano (NE). Cada solución de los nitrocompuestos fue previamente preparada a una concentración de 80 mM, El solvente utilizado fue un buffer de fosfato (0.1 M) con pH 6.5 para lograr una proporción de 25  $\mu\text{mol}$  de nitrocompuesto por gramo de pollinaza. Los controles se rociaron con 100 mL del buffer antes mencionado. Posteriormente, 11 gramos de la mezcla de pollinaza con cada uno de los tratamientos y el control se distribuyeron en tubos cónicos para centrifugación con capacidad de 50 mL, por lo que se obtuvieron 6 tubos por cada tratamiento. Cada tubo se inoculó con 2 mL de *Salmonella typhimurium* (ST<sub>NN</sub>) resistente a novobiocina y ácido naladixico por el método descrito por Ruiz-Barrera *et al.* (2017), esto último con la finalidad de lograr un crecimiento de 4.0 log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias por cada gramo de pollinaza. Por último, los tubos fueron sellados con parafilm e incubados por 3 días a una temperatura de 37°C en un ambiente anaeróbico del 100% de CO<sub>2</sub>.

En el segundo experimento la pollinaza fue preparada de la misma manera excepto que fue tratada con ENA, 3NPA o el buffer para el caso del control. La mezcla de cada uno de los tratamientos fue distribuida en 12 tubos cónicos para centrifugación. Los tubos fueron incubados en las mismas condiciones de anaerobiosis que en el experimento 1 pero por 6 días a temperatura de 37°C y luego 3 días a 50°C para simular una composta de duración corta.

#### **Determinación de los Conteos de *S. typhimurium* (ST<sub>NN</sub>) y *E. coli***

Para determinar los conteos de *S. typhimurium* (ST<sub>NN</sub>) y *E. coli* en ambos experimentos se recolectaron 10 g de muestra de cada tubo de cada uno de los

tratamientos en cada día de muestreo y se diluyeron en 90 mL de la solución buffer, se agitó por 30 minutos e inmediatamente se filtró con gasas estériles. Del sobrenadante se tomó 1 mL y se hicieron diluciones seriadas hasta  $1 \times 10^{10}$ . De cada dilución se tomó un mL para sembrarse en películas de Petri-film 3M *E. coli* coliforme<sup>-1</sup> y para *Salmonella* en placas con agar verde brillante suplementado con 20 y 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de novobiocina y ácido naladixico respectivamente, de igual manera se realizó tanto para la recuperación cuantitativa de *E. coli* silvestre y la cepa modificada ST<sub>NN</sub>.

### **Determinación de las Concentraciones de Amoníaco, Ácido Úrico y Urea**

En ambos experimentos las diluciones iniciales (1:10) de cada muestra se analizaron por el método colorimétrico descrito por Chaney y Marbach (1962).

### **Análisis Estadísticos**

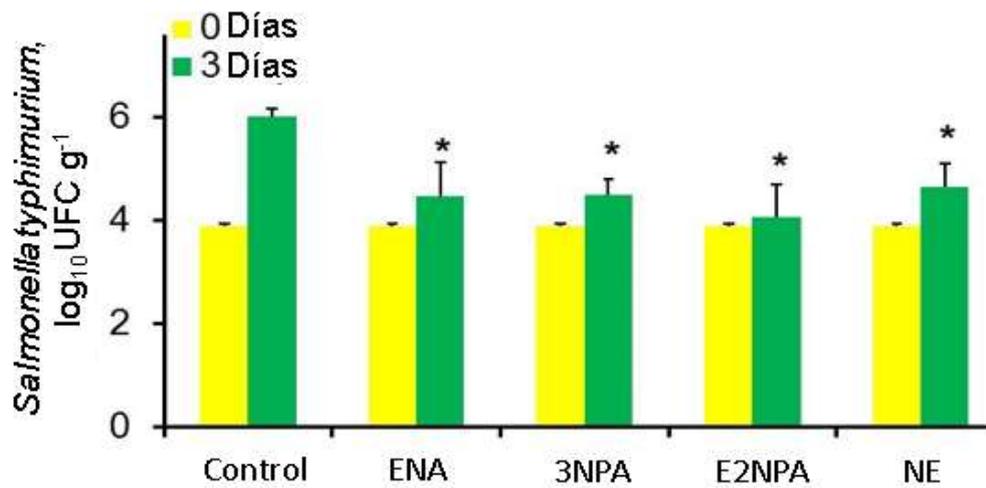
En el primer experimento se utilizó un diseño completamente al azar. La prueba para la comparación de medias utilizada fue la de Dunnett debido a que se tiene un control haciendo esta comparación la adecuada. Los datos fueron analizados mediante el software SAS 9.0 con una confiabilidad del 95%.

En el segundo experimento se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial en donde se analizó la varianza con un ANOVA para medidas repetidas. La comparación de medias se utilizó la prueba DMS (diferencia mínima significativa) mediante el software SAS 9.0.

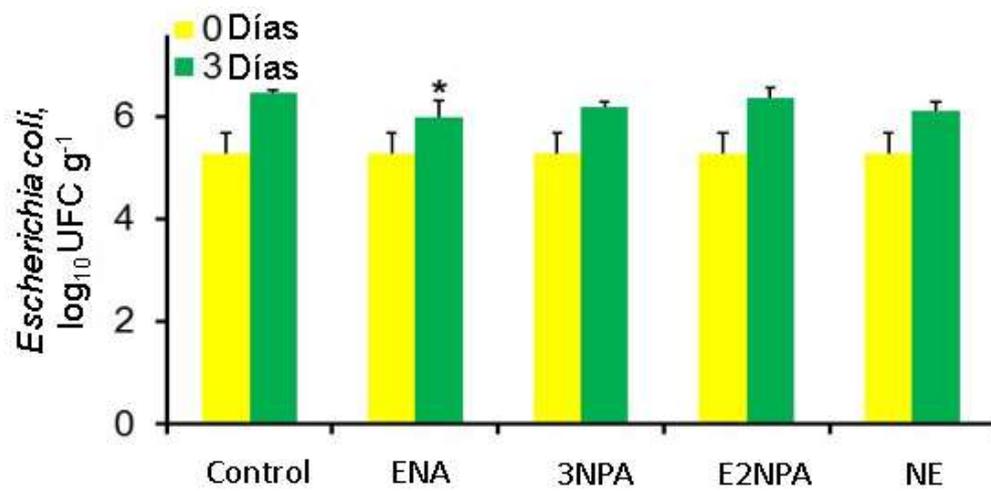
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de los Nitrocompuestos en las Poblaciones de *Salmonella Typhimurium* (ST<sub>NN</sub>) y *Escherichia coli*

En el primer experimento el análisis de varianza de medidas repetidas reveló un efecto principal ( $P < 0.05$ ) del tratamiento en las poblaciones de ST<sub>NN</sub> (Gráfica 1) pero no en los conteos de *E. coli* (Gráfica 2). Se puede observar además una disminución de los conteos de ST<sub>NN</sub>  $> 1,0 \log_{10}$  en cada nitrotratamiento ( $4,2 \pm 0,2 \log_{10}$  CFU g<sup>-1</sup>) en comparación con los controles. En la población de *Salmonella*, Mowrer *et al.* (2016), Kim *et al.* (2009), Dimitrijevic *et al.* (2006) y Jung *et al.* (2004) indican que existe una disminución en los conteos de estas bacterias patógenas cuando se emplean los nitrocompuestos. Gutiérrez-Bañuelos *et al.* (2007) reporta que el nitroetano en un ambiente anaerobio (ambiente ruminal) redujo las poblaciones de *Salmonella* entre un 80-100%. En otro estudio realizado por Ruiz-Barrera *et al.* (2017) también observaron una disminución de la población de *Salmonella typhimurium* de  $3.2 \log_{10}$  UFC g<sup>-1</sup> cuando emplearon nitroetano, 2-nitroetanol, 2-nitropropanol y etilo de nitroacetato con una concentración de 44 mM en un ambiente aerobio, al compostear pollinaza, comparado con el control. La reducción en el conteo de colonias de esta bacteria patógena pudiera estar vinculada con los esteres presentes en los nitrocompuestos, ya que se ha encontrado que tanto el grupo metileno, etilo como el propilo son agentes efectivos contra bacterias gram negativas ejerciendo una función bacteriostática disminuyendo así el crecimiento de colonias (Yossa *et al.*, 2017; Rembe *et al.*, 2016; Aalto *et al.*, 1953). Esto se comprueba en un estudio



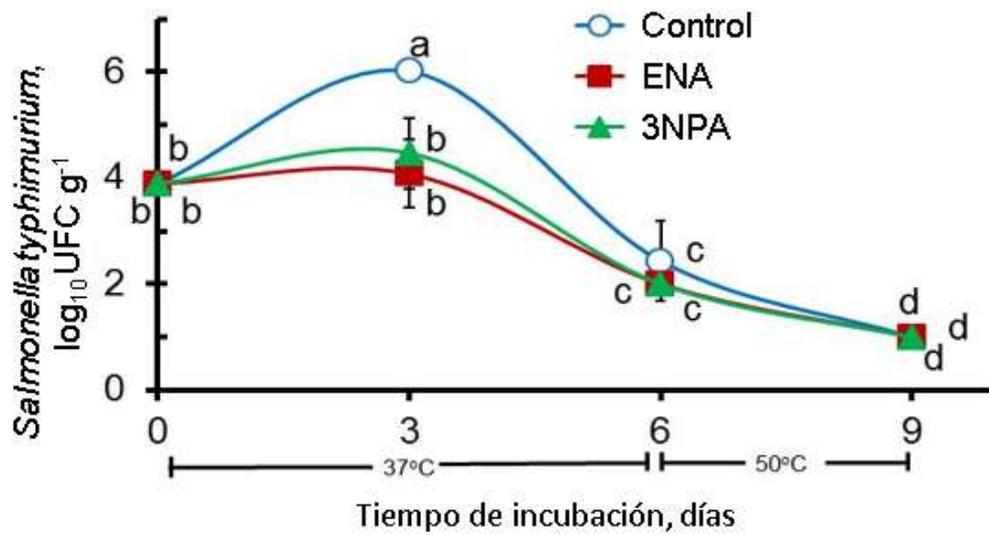
Gráfica 1. Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en las poblaciones de *Salmonella typhimurium* en pollinza durante 3 días de incubación. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).



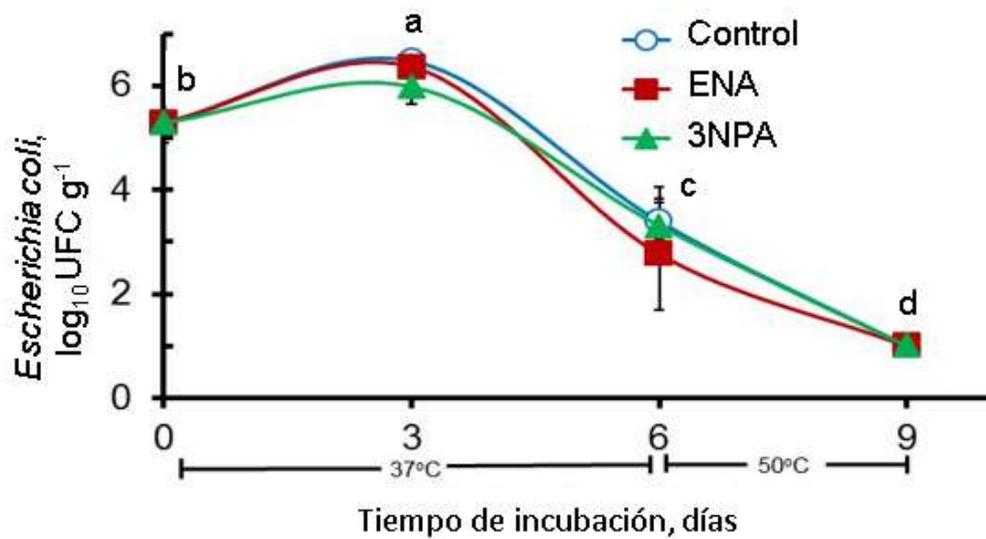
Gráfica 2. Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en las poblaciones de *Escherichia coli* (B) en pollinaza durante 3 días de incubación. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

que realizaron Castañeda et al. (2017) en la fermentación de compuestos orgánicos en un ambiente anaerobio ruminal. Estos autores explican que el nitrocompuesto 3NPA se comportó como agente bacteriostático y no bactericida en las poblaciones de *S. typhimurium*. Ellos lo atribuyen a que inhibe la actividad de enzimas que utilizan esta bacteria que son la hidrogenasa y la formato deshidrogenasa para el balance redox del *S. typhimurium*. Yossa et al. (2017) explican que las cadenas de metilenos, como las de los nitrocompuestos, son utilizadas farmacéuticamente para el control de crecimiento de microorganismos debido a que interactúan con la membrana formando puentes entre los fosfolípidos y los grupos metilenos por lo que causan una disfunción en la permeabilidad de la membrana aumentando su fluidez y por último causando la destrucción de la bacteria. En un ambiente aerobio al compostear la pollinaza Ruiz-Barrera et al. (2016) señalan que la población de *Salmonella* no se vio afectada cuando utilizaron una concentración de 12 mM de nitroetano a temperatura ambiente. Por lo que se puede observar que en ambientes anaerobios se puede reducir la dosis a utilizar de nitrocompuestos para que sea efectiva. Con respecto a los conteos de *E. coli*, Gutiérrez-Bañuelos (2007) encontró un resultado similar a lo encontrado en este estudio. Ellos atribuyen este efecto a que la dosis que se suministró fue muy baja y es probable que el nitrocompuesto probado (nitroetano) haya sido consumido por poblaciones de bacterias utilizadoras de este tipo de compuestos.

En el segundo experimento, los resultados de los conteos de ST<sub>NN</sub> y *E. coli* (Gráficas 3 y 4) muestran que hubo efecto del factor tiempo de incubación ( $P < 0.05$ ) pero no de los tratamientos con nitrocompuestos ( $P > 0.05$ ) o su



Gráfica 3. Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en las poblaciones de *Salmonella typhimurium* en la pollinaza composteada. La diferencia significativa entre medias ( $P < 0.05$ ) se indican con a, b, c y d.



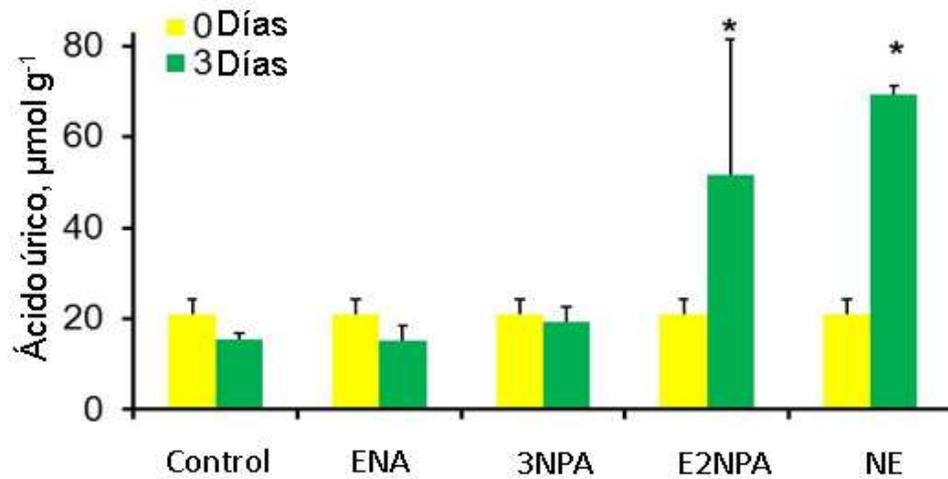
Gráfica 4. Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en las poblaciones de *Escherichia coli* en la pollinaza composteada. La diferencia significativa entre medias ( $P < 0.05$ ) se indican con a, b, c y d.

interacción ( $P > 0.05$ ) durante el compostaje de pollinaza. Se puede observar además cómo el efecto del día de compostaje en las poblaciones de  $ST_{NN}$  y *E. coli* es claramente evidente, reflejando el eficiente control biológico que ejerce un proceso de compostaje. Todos los nitrocompuestos causaron disminuciones logarítmicas al doble de las poblaciones de  $ST_{NN}$  durante la fase temprana del compostaje con respecto al control. La temperatura puede controlar las poblaciones de bacterias si se mantiene por largo tiempo ya sea a 60 ó 70° C (López *et al.*, 2002), incluso si son temperaturas menores a 54° C (Jeffrey *et al.*, 1998). Estos mismos autores reportan que la temperatura generada por el apilamiento y el amoníaco, producido por la degradación del ácido úrico y urea, es bactericida para agentes patógenos como la *Salmonella* en la composta de pollinaza. Aunque López *et al.* (2002) indican que el mantenimiento de temperaturas elevadas puede producir reacciones espontáneas de oxidación química y provocar la destrucción de microorganismos patógenos. En otro estudio realizado por Kwak *et al.*, (2005) encontraron que por medio de apilamiento profundo de pollinaza los patógenos redujeron su crecimiento por el calentamiento que se produjo en el sustrato, pero ellos resaltaron además que no sólo este factor sería el causante, sino que también otros factores pudieran haber influenciado como lo es la toxicidad por amoníaco o también pudo haber influido la competencia entre microorganismos como en cualquier ecosistema.

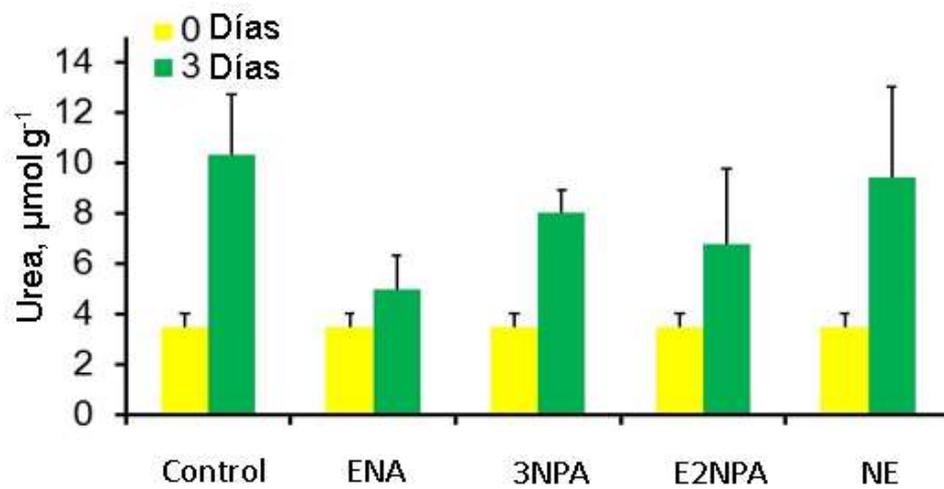
### **Efecto de los Nitrocompuestos en las Concentraciones de Amoníaco, Ácido Úrico y Urea**

El efecto de los diferentes nitrocompuestos probados (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en el metabolismo del ácido úrico y sus metabolitos (urea y

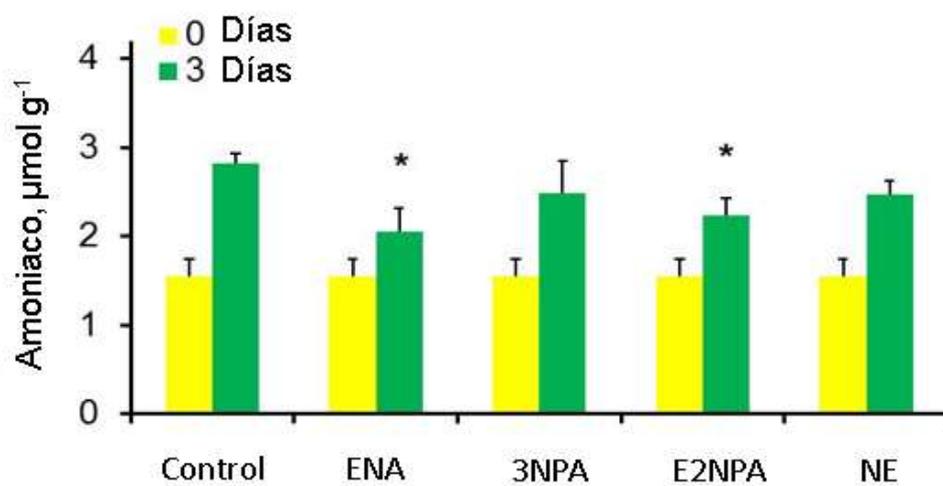
amoníaco) en la pollinaza composteada por 3 días se muestran en las gráficas 5, 6 y 7. Los efectos principales del tratamiento sólo se observaron en la degradación de ácido úrico y en la acumulación de amoníaco ( $P < 0.05$ ). Los resultados revelan que el E2NPA y NE promovieron la producción de ácido úrico durante el compostaje de la pollinaza ( $P < 0.05$ ), permaneciendo un 18 % más de este ácido en la composta tratada con E2NPA y NE con respecto al control y la pollinaza tratada con ENA ( $18.1 \pm 3.8 \mu\text{mol g}^{-1}$  y  $18.5 \pm 5.0 \mu\text{mol g}^{-1}$ , respectivamente). La acumulación de amoníaco fue entre un 17 a 24 % menor en la pollinaza tratada con los nitrocompuestos ENA y E2NPA con respecto al control ( $3.4 \pm 1.4 \mu\text{mol g}^{-1}$ ). Kim *et al.* (2006) reportan resultados similares a este estudio cuando se utilizaron nitroetanol, nitropropanol y ácido nitropropiónico a una concentración de 50 mM ya que se redujo la volatilización de amoníaco. Ellos reportaron que sus resultados se debieron a una reducción del crecimiento de los microorganismos utilizadores de ácido úrico ya que a las 6 horas se presentó una disminución en su crecimiento en comparación con el control. Los mismos autores cultivaron en medios de cultivos microbianos microorganismos utilizadores de ácido úrico y después de 6 horas de incubación con los nitrocompuestos tuvieron resultados similares a los valores anteriores. Pero no todos los nitrocompuestos tienen esta capacidad de reducir la población de bacterias utilizadoras de ácido úrico ya que en el mismo estudio Kim *et al.* (2006) reportaron que el nitroetano que fue probado no disminuyó el crecimiento, sino que aumentó significativamente el crecimiento de colonias medidas a las 6 horas de incubación. En el presente estudio el ácido úrico con el NE se encuentra en



Gráfica 5. Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la producción de ácido úrico en pollinaza durante 3 días de incubación. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).



Gráfica 6. Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la acumulación de urea en pollinaza durante 3 días de incubación. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

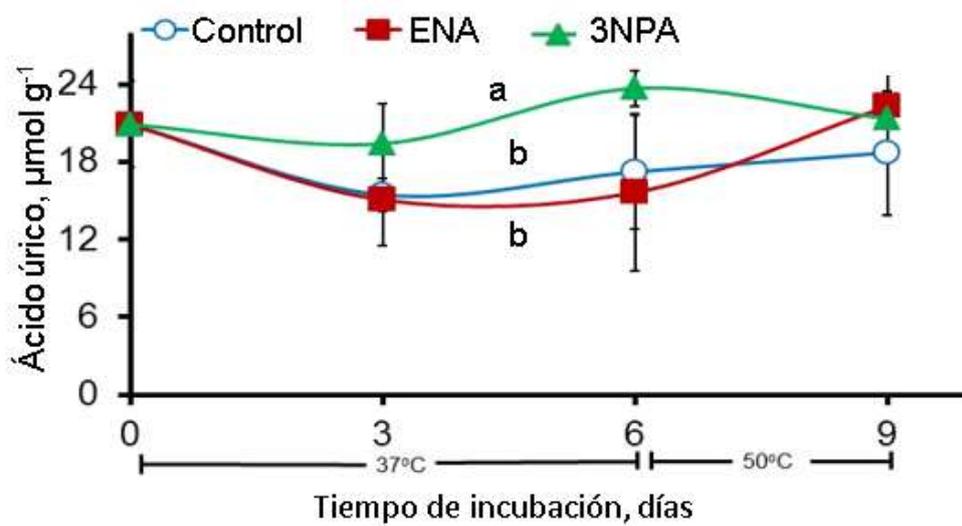


Gráfica 7. Efecto de diferentes nitrocompuestos (ENA, 3NPA, E2NPA, NE) en la acumulación amoníaco en pollinaza durante 3 días de incubación. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

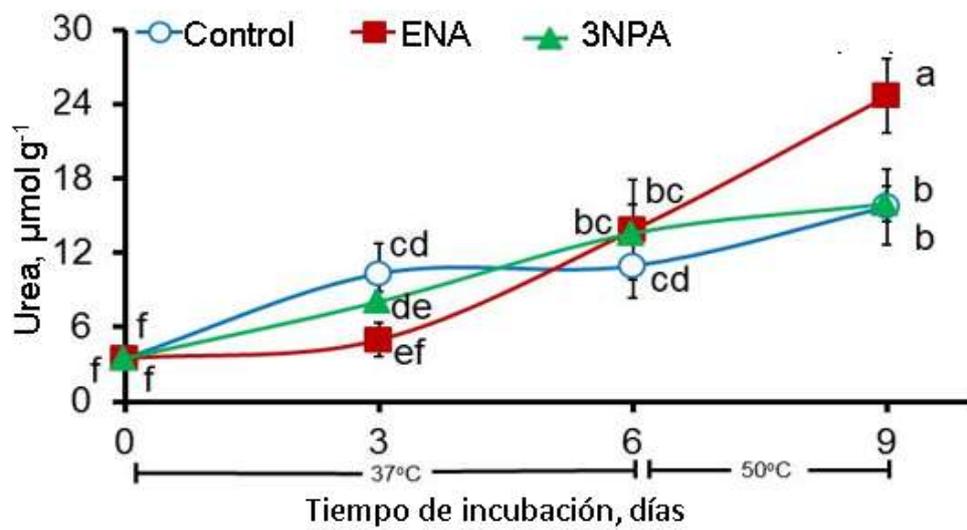
una concentración por encima de los demás nitrocompuestos al igual que el E2NPA. Posiblemente aumentó el crecimiento de las colonias utilizadoras de ácido úrico aumentando la cantidad de ácido úrico para después consumirlo. Los resultados de los demás nitrocompuestos de este estudio, al igual que nitropropanol, ácido nitropropiónico que fueron utilizados por Kim *et al* (2009), redujeron la cantidad del ácido úrico.

Los resultados para la urea cuando se utilizaron los nitrocompuestos fueron inferior al control a los 3 días de compostaje, pero estas diferencias no fueron significativas.

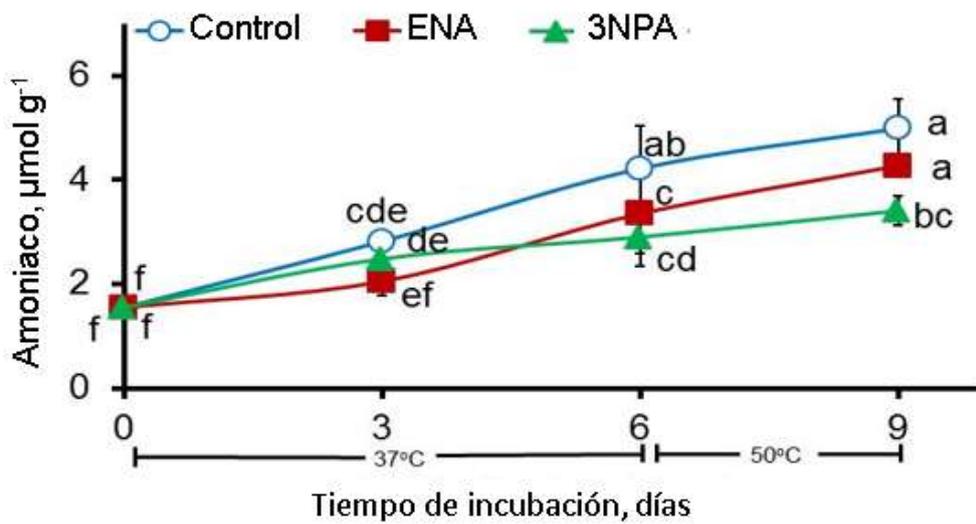
En el experimento 2 la concentración de ácido úrico no mostró efecto de la interacción entre la adición de nitrocompuestos y tiempo de incubación (Gráfica 8). Se puede apreciar como la concentración del ácido úrico fue mayor en el tratamiento de 3NPA ( $P < 0.05$ ) con respecto al control y al ENA. No se encontró efecto del tiempo de incubación en los tres tratamientos ( $P < 0.05$ ). Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Ruiz-Barrera *et al.* (2017) en donde nitrocompuestos mezclados con pollinaza a razón de 44 mM de etilo de nitroacetato, 2-nitroetanol y 2-nitropropanol redujeron la pérdida de ácido úrico preservando el nitrógeno en la pollinaza La concentración de urea aumentó más rápidamente ( $P < 0.05$ ) en los primeros 3 días de incubación (Gráfica 9) en la pollinaza sin tratar que en la pollinaza tratada con 3NPA o ENA ( $2.3 \pm 0.6$ ,  $1.5 \pm 0.4$  y  $0.5 \pm 0.6 \mu\text{mol g}^{-1}$  por hora, respectivamente). La menor concentración de amoníaco ( $P < 0.05$ ) se observó en la pollinaza tratada con 3NPA al día 9 de incubación (Gráfica 10). Ruíz-Barrera *et al.*, (2017) también reportó que al suministrar nitrocompuestos como tratamiento se reduce la acumulación de



Gráfica 8. Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en el contenido de ácido úrico de pollinaza composteada. La diferencia significativa entre medias ( $P < 0.05$ ) se indican con a y b.



Gráfica 9. Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en la acumulación de urea de pollinaza composteada. La diferencia significativa entre medias ( $P < 0.05$ ) se indican con a, b, c, d, e y f.



Gráfica 10. Efecto del tratamiento con nitrocompuestos (ENA, 3NPA) y el tiempo de incubación en la acumulación de urea y amoníaco de pollinaza composteada. La diferencia significativa entre medias ( $P < 0.05$ ) se indican con a, b, c, d, e y f.

amoníaco más del 70%. En otro estudio realizado por Mowrer *et al.* (2016) donde utilizaron nitropropanol y nitroetanol indican que el mecanismo para la reducción de la volatilización de amoníaco está relacionada a la reducción de valores en el pH. Otras investigaciones han probado que los nitrocompuestos tienen la capacidad de reducir la volatilización de amoníaco ya que en el estudio de Kim *et al.* (2006) probaron el nitroetanol, nitropropanol, ácido nitropropiónico comparándolos con sus respectivos alcoholes que son estas mismas moléculas pero sin el grupo nitrogenado (etanol, propanol y ácido propiónico) y observaron que los alcoholes sin el grupo nitrogenado inhibieron la volatilización de amoníaco, pero los nitrocompuestos tuvieron más potencia para reducir la volatilización del amoníaco debido a la inhibición de los microorganismos utilizadores de urea.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados sugieren que los nitrocompuestos ayudan a preservar el ácido úrico en la pollinaza compostada contribuyendo de esta manera a mantener el contenido de proteína cruda de este subproducto y coadyuvan en la eliminación de *Salmonella*. Asimismo, un proceso de composteo corto (9 días a 50 grados centígrados), elimina la presencia de *E. coli* en la pollinaza tratada.

Se recomienda hacer estudios con estos mismos nitrocompuestos sobre otro tipo de bacterias presentes en la pollinaza con impacto en la salud pública como *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium avium* que interviene en la respuesta de la tuberculina en el ganado bovino.

## LITERATURA CITADA

- Aalto, T.R., M.C. Firmanm y N.E. Rigler.1953. p-hydroxybenzoic acid esters as preservatives. Uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination. J. Am. Pharmaceut. Assoc. 8:449-457.
- Alexander, G., B. Singh, A. Sahoo y T. K. Bhat. 2007. In vitro screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminants diets. Anim. Feed Sci. and Technol. 145:229-244.
- Alston, T.A., S.P. Seitz, D. J.T. Porter y H.J. Bright. 1980. Inhibition of succinate dehydrogenase by nitroacetate and by the toxic antibiotic nitraminoacetate. Biochem. Biophys. Res. Commun. 97:294-300.
- Anderson, R. C., N. A. Krueger, T. B. Stanton, T. R. Callaway, T. S. Edrington, R. B. Harvey, Y. S. Jung y D. J. Nisbet. 2008. Effects of select nitrocompounds on in vitro ruminal fermentation during conditions of limiting or excess added reductant. Bioresour. Technol. 99:8655-8661.
- Anderson, R. C., T. R. Callaway, J. Ann-S, V. Kessel, Y. S. Jung, T. S. Edrington y D. J. Nisbet. 2003. Effect of select nitrocompounds on ruminal fermentation; an initial look at their potential to reduce economic and environmental costs associated with ruminal methanogenesis. Bioresour. Technol. 90:59-63
- Anderson, R.C, J. Huwe, D.J. Smith, T.B. Stanton, N.A. Krueger, T.R. Callaway, T.S. Edrington, R. B. Harvey y D. J. Nisbet. 2010. Effect of nithroethane, dimethyl-2-nitroglutarate and 2-nitro-methyl-propionate on ruminal methane production and hydrogen balance in vitro. Bioresour. Technol. 101:5345-5349.
- Anderson, R.C., G.E. Carstens, R.K. Miller, T.R. Callaway, C.L. Schultz, T.S. Edrington, R.B Harvey y D.J Nisbet. 2006. Effect of oral nitroethane and 2-nitropropanol administration on methane-producing activity and volatile fatty acid production in the ovine rumen. Bioresour. Technol. 97:2421–2426.
- Anderson, RC., MA. Rasmussen, NS. Jensen y MJ. Allison. 2000. *Denitrobacterium detoxificans* gen. Nov., sp. Nov., a ruminal bacterium that respire on nitrocompounds. Int J. Evol Microbiol 2:633-638.
- Anzai, K. y S. Suzuki. 1960. A new antibiotic bovinocidin, identified as  $\beta$ -nitropropionic acid. J. Antibiot. (Tokyo). 13:133-136.
- Arzola, C., E.J. Ledezma-Peres, R. Anderson, M. Hume, O. Ruiz-Barrera, A. Corral-Luna, Y. Castillo-Castillo, J.A. Byrd, J. Salinas-Chavira, M. Ontiveros-Magadan y C. Rodríguez-Muela. 2017. Effects of nitro treatment on salmonella, Escherichia coli, and nitrogen metabolism during composting of poultry litter. J. Anim. Sci. 95 (Suppl. 4):24 (Abstract).

- Azizi-Shotorkhoft, A., J. Rezaei y H. Fazaeli. 2012. The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. *Livest. Sci.* 148:249-254.
- Azizi-Shotorkhoft, A., J. Rezaei y H. Fazaeli. 2013. The effect of different levels of molases on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. *J. Ani. Feed. Sci.* 179:69-76.
- Bakshi, M.P.S. y J.P. Fontenot. 1998. Processing and nutritive evaluation of broiler litter as livestock feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74:337-345.
- Ballmer K., B.M. Korczak, P. Kuhnert, P. Slickers, R. Ehrlich y H. Hächler. 2007. Fast DNA serotyping of *Escherichia coli* by use of an oligonucleotide microarray. *J Clin Microbiol.* 45:370-379.
- Baluch-Gharaei, H., Y. Rouzbehani, H. Fazaeli y J. Rezaei. 2015. Effect of Deep-stacking broiler litter on pathogenic bacteria, intake, digestibility, microbial protein supply and rumen parameters in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 199:73-83.
- Barkocy-Gallagher, G. A., T. M. Arthur, M. Rivera-Betancourt, X. Nou, S. D. Shackelford, T. L. Wheeler y M. Koohmaraie. 2003. Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *J. Food Prot.* 66:1978-1986.
- Bello, L., D. Ortíz, E. Pérez y V. Castro. 1990. *Salmonella* en carnes crudas: un estudio en localidades del estado de Guerrero. *Salud Pública en México* 32:74-79.
- Bhattacharya, A.N. y J.C. Taylor. 1975. Recycling animal waste as a feedstuff: A review. *J. Anim. Sci.* 41:1438-1457.
- Bhattacharya, A.N. y J.P. Fontenot. 1965. Utilization of different levels of poultry litter nitrogen by sheep. *J. Anim. Sci.* 24:1174-1178.
- Bhattacharya, A.N. y J.P. Fontenot. 1966. Protein and Energy Value of Peanut Hull and Wood Shaving Poultry Litters. *J. Anim. Sci.* 25:367-371.
- Bohórquez, A., Y. Puentes y J. Menjivar. 2014. Evaluación de la calidad del compost producido a partir de subproductos agroindustriales de caña de azúcar. *Manejo de conservación de suelos y aguas.* 15:73-81.
- Bolan, N.S., A.A. Szogi, T. Chuasavathi, B. Seshadri, M.J. Rothrock y P. Panneerselvam. 2010. Uses and management of poultry litter. *Worlds Poultr. Sci. J.* 66:673-698.
- Bonilla, C.J., y F.C. Lemus. 2012. Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al cambio climático. *Revisión. Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3: 215-246.

- Božić, A.K., R.C. Anderson, G.E. Carstens, S.C. Ricke, T.R. Callaway, M.T. Yokoyama, J.K. Wang y D.J. Nisbet. 2009. Effects of the methane-inhibitors nitrate, nitroethane, lauric acid, Lauricidin and the Hawaiian marine algae *Chaetoceros* on ruminal fermentation *in vitro*. *Bioresour. Technol.* 100:4017-4025.
- Broucek, J. 2014. Production of methane emissions from ruminant husbandry: a review. *J. Environ. Prot.* 5:1482-1493.
- Brown, E. G., R. C. Anderson, G. E. Carstens, H. Gutierrez-Bañuelos, J. L. McReynolds, L. J. Slay, T. R. Callaway y D. J. Nisbet. 2011. Effects of oral nitroethane administration on enteric methane emissions and ruminal fermentation in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166:275-281.
- Bush, D.J., M.H. Poore, G.M. Rogers y C. Altier. 2007. Effect of stacking method on *Salmonella* elimination from recycled poultry bedding. *Bioresour. Technol.* 98:571-578.
- Candlish E., J. La Croix y A. Unrau. 1969. The biosynthesis of 3-Nitropropionic acid in creeping indigo (*Indigofera spicata*). *Biochemistry.* 8:182-187.
- Carmona, J. C., D. M. Bolivar y L. A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18:49-63.
- Castañeda, A., J. Trachsel, H.K. Allen, A. Corral-Luna, H. Gutiérrez-Bañuelos, P.A. Ochoa-García, O. Ruiz-Barrera, M.E. Hume, T.R. Callaway, R.B. Harvey, R.C. Beier, R.C. Anderson y D.J. Nisbet. 2017. Effect of sole or combined administration of nitrate and 3-nitro-1-nitropropionic acid on fermentation and *Salmonella* survivability in alfalfa-fed rumen cultures *in vitro*. *Bioresour. Technol.* 229:69-77.
- Chaney, A.L., Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132.
- Chaudhry, S., J. Fontenot, Z. Naseer y C. Ali. 1996. Nutritive value of deep stacked and ensiled broiler litter for sheep. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 57:165-173.
- Chávez, F.A., T. A. Rosario, D.V. Valle, N.A. Venegas, L.A. Hernández y A.M. Chávez. 2016. Contaminación enterobacteriana de alimentos cárnicos consumidos en la FESI y su periferia. *Revista Electrónica de investigación en enfermería FESI-UNAM.* 5:8-16.
- Corrales, L., V. Peña y D. Caicedo. 2008. Identificación de *Salmonella* y *Escherichia coli* en manos y guantes de manipuladores en planta de sacrificio y faenado de un municipio de Cundinamarca. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas.* 6:20-26.
- Correa, A.C., J. Trachsel, H.K. Allen, A. Corral-Luna, H. Gutiérrez-Bañuelos, P.D. Ochoa-García, O. Ruiz-Barrera, M.E. Hume, T.R. Callaway, R.B. Harvey, R.C. Beier, R.C. Anderson y D.J. Nisbet. 2017. Effect of sole or combined

- administration of nitrate and 3-nitro-1-propionic acid on fermentation and Salmonella survivability in alfalfa-fed rumen cultures in vitro. *Bioresour. Technol.* 229:69-77.
- Cortés-Sánchez A. y T. Mosqueda-Olivares. 2013. Una mirada a los organismos fúngicos: Fabricas versátiles de diversos metabolitos secundarios de interés biotecnológico. *Revista Química Viva.* 2: 64-90
- Diario Oficial de la Federación. 1996. Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-013-ZOO-1996, Tratamiento, transporte, movilización, uso, almacenamiento y comercialización de la gallinaza y pollinaza. En: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4876531&fecha=20/03/1996](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4876531&fecha=20/03/1996) Consultado 6 Marzo 2018.
- Dimitrijevic, M., R.C. Anderson, T.R. Callaway, Y.S. Jung, R.B. Harvey, S.C. Ricke, y D.J. Nisbet. 2006. Inhibitory effect of select nitrocompounds on growth and survivability of *Listeria monocytogenes* in vitro. *J. Food Prot.* 69:1061-1065.
- Dolliver 2008. Antibiotic Degradation during manure composting. *J. Environ. Qual.* 37:1245-1253
- Escobar, F., J. Sánchez y M. Azero. 2012. Evaluación del proceso de compostaje con diferentes tipos de mezclas basadas en la relación C/N y la adición de preparados biodinámicos en la Granja Modelo Pairumani. *Rev. Acta Nova* 5:390-410.
- Estrada, M. 2005. Manejo y procesamiento de la gallinaza. *Rev. Lasallista Investig.* 2:43-48.
- Feduchi, E., I. Blasco, C. S. Romero, E. Yañez. 2011. *Bioquímica Conceptos Esenciales.* 1a ed. Editorial Médica Panamericana. México
- Feng, J., S. Handa, F. Gallou y H. Lipshutz. 2016. Safe and selective nitro group reductions catalyzed by sustainable and recyclable Fe/ppm Pd nanoparticles in water at room temperature. *Angew. Chem. Int. Ed.* 55:1-6.
- Flisser A., A. Velasco-Villa, C. Martínez-Campos, F. González-Domínguez, B. Briseño-García, R. García-Suárez, A. Caballero-Servín, I. Hernández-Monroy, H. García-Lozano, L. Gutiérrez-Cogco, G. Rodríguez-Angeles, I. López-Martínez, S. Galindo-Virgen, R. Vázquez-Campuzano, S. Baladrano-Campos, C. Guzmán-Bracho, A. Olivo-Díaz, J. Luis de la Rosa, C. Magos, A. Escobar-Gutiérrez y D. Correa. 2002. Infectious diseases in Mexico. A survey from 1995-2000. *Arch. Med. Res.* 33:343-350.
- Francis K., C. Smitherman, S. Nishino, J. Spain y G. Gadda. 2013. Critical Review. The biochemistry of the metabolic poison propionate 3-Nitronate and its conjugate acid, 3-nitropropionate. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 65:759-768.

- Gragg, S.E., G.H. Lonergan, K.K. Nightingale, D.M. Brichta-Harhay, H. Ruiz J.R. Elder, L.G. Garcia, M.F. Miller, A. Echeverry, R.G. Ramírez y M.M. Brashears. 2013. Substantial within-animal diversity of *Salmonella* isolates from lymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:4744-4750.
- Guridi, J., M. Rodríguez y M. Manrique. 2004. Tratamiento quirúrgico de la enfermedad de Parkinson. *SENEC.* 15:5-16.
- Gutiérrez-Bañuelos, H., R.C. Anderson, G.E. Carstens, L.J. Slay, N. Ramlachan, S.M. Horrocks, T.R. Callaway, T.S. Edrington y D.J. Nisbet. 2007. Zoonotic bacteria populations, gut fermentation characteristics and methane production in feedlot steers during oral nitroethane treatment and after the feeding of an experimental chlorate product. *Anaerobe.* 13:21:31.
- Gutiérrez-Bañuelos, H., R.C. Anderson, G.E. Carstens, L.O. Tedeschi, W.E. Pinchak, E. Cabrera-Díaz, N.A. Krueger, T.R. Callaway y D.J. Nisbet. 2008. Effects of nitroethane and monensin on ruminal fluid fermentation characteristics and nitrocompound-metabolizing bacteria populations. *J. Agric. Food Chem.* 56:4650-4658.
- Haapapuro, E.R., N.D. Barnard y M. Simon. 1997. Review- Animal waste used as livestock feed: Dangers to human health. *Preventive Medicine.* 26:599-602.
- Hamilton, B. F., Gould, D. H., and Gustine, D. L. (1999) History of 3-Nitropropionic acid, In *Mitochondrial Inhibitors and Neurodegenerative Disorders* (Sanberg, P. R., Nishino, H., and Borlongan, C. V., Eds.), Humana Press, Totowa, NJ.
- Haug, R.T. 1993. *The practical handbook of compost engineering.* 1a ed. Lewis Publishers, press, Inc. Corporate Blvd., N.W. Florida. E. U. A.
- Himathongkham, S. y H. Riemann. 1999. Destruction of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS Microbiol. Lett.* 171:179-182.
- Huang, L., G. Sun, D. Cobessi, A. Wang, J. Shen, E. Tung, V. Anderson y E. Berry. 2006. 3-Nitropropionic Acid Is a Suicide Inhibitor of Mitochondrial Respiration That, upon Oxidation by Complex II, Forms a Covalent Adduct with a Catalytic Base Arginine in the Active Site of the Enzyme. *J. Biol. Chem.* 281:5965-5972.
- INIFAP. 2003. Bloques nutricionales para la suplementación del ganado en pastoreo. Centro de Investigación regional del Noreste. México.
- INIFAP. 2007. Uso de pollinaza y gallinaza en la alimentación de rumiantes. Centro de Investigación regional del Noreste. México.

- Jeffrey, J., J. Kirk, E. Atwill y J.S. Cullor. 1998. Prevalence of selected microbial pathogens in processed poultry waste used as dairy cattle feed. *Poult. Sci.* 77:808-811.v
- Jung, Y.S., R.C. Anderson, T.S. Edrington, K.J. Genovese, J.A. Byrd, T.R. Callaway y D.J Nisbet. 2004. Experimental use of 2-nitropropanol for reduction of *Salmonella Typhimurium* in the ceca of broiler chicks. *J. Food Prot.* 67:1945-1947.
- Kar, P., P. Dey, A.K. Misra, T.K. Chaudhuri y A. Sen. 2016. Phytometabolomic fingerprinting of selected actinorhizal fruits popularly consumed in North-East India. *Symbiosis.* doi:10.1007/s13199-016-0415-x
- Kazemi-Bonchenari, M., A. Alizadeh, L. Javadi, M. Zohrevand, N. Odongo y A. Salem. 2017. Use of poultry pre-cooked slaughterhouse waste as ruminant feed to prevent environmental pollution. *J. Clean. Prod.* 145: 151-156.
- Kelleher, B.P., J.J. Leahy, A.M. Henihan, T.F. O'Dwyer, D. Sutton y M.J. Leahy. 2002. Advances in poultry litter disposal technology-a review. *Bioresour Technol.* 83:27-36.
- Kim, W.K. y P.H. Patterson. 2005. Effects of dietary zinc supplementation on hen performance, ammonia volatilization, and nitrogen retention in manure. *J. Environ. Sci.* 40:675-686.
- Kim, W.K., L.J. Weeds, R.C. Anderson, D.J. Nisbet, K. Dunkley y S.C. Ricke. 2009. Effects of nitrocompounds on uric acid utilizing microorganisms, nitrogen retention, and microbial community in laying hen manure. *J. Environ. Sci.* 44:403-406.
- Kim, W.K., R.C. Anderson, A.L. Ratliff, D.J. Nisbet y S.C. Ricke. 2006. Growth inhibition by nitrocompounds of selected uric acid-utilizing microorganisms isolated from poultry manure. *J. Environ. Sci.* 41:97-107.
- Kirchmann, H. y E. Witter. 1989. Amonia volatilization during aeróbica and anaerobic decomposition. *Plant Soil.* 115:35-41.
- Koohmaraie, M., J.A. Scanga, M.J. De La Zerda, B. Koohmaraie, L. Tapay, V. Beskhlebnaya, T. Mai, K. Greeson y M. Samadpour. 2012. Tracking the sources of salmonella in ground beef produced from nonfed cattle. *J. Food Prot.* 75:1464-1468.
- Kwak W.S., J.W. Huh y T.A. McCaskey. 2005. Effect of processing time on enteric bacteria survival and on temperature and chemical composition of broiler poultry litter processed by two methods. *Bioresour. Technol.* 96: 1529-1536.
- Kwak, W.S. y J.W. Huh. 2004. Feed hygiene and meat safety of cattle fed processed rice hulls-bedded broiler litter. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17:1509-1517.

- Liljebjelke, K.A., C.L. Hofacre, T. Liu, D.G. White, S. Ayers, S. Young y J.J. Maurer. 2005. Vertical and horizontal transmission of *Salmonella* within integrated boiler production system. *Foodborne Pathog. Dis.* 2:90-120.
- López, L., M. Díaz y M. Arias. 2002. Evolución de la gallinaza durante su almacenamiento en condiciones de campo. *Nova Acta Cient. Compostel Biol.* 12:191-201.
- Mahmud, A., S. Mehmood, J. Hussain y S. Ahmad. 2015. Composting of poultry dead birds and litter. *Worlds Poult. Sci. J.* 71:621-629.
- Morales, M. P. 2012. Determinación voltamperométrica de nitrocompuestos utilizando electrodos de carbón vítreo modificados con nanotubos de carbón de multipared. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago. Chile.
- Moreno, J. y R. Moral. 2008. *Compostaje*. 1a ed. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Mowrer, J.E., P. Sedlacek, J. Kim, C. Ritz y W.K. Kim. 2016. Supplementation of nitrocompounds in broiler diets: Effects on bird performance, ammonia volatilization and nitrogen retention in broiler manure. *J. Environ. Sci.* 51: 126-131.
- National Center for Biotechnology Information. 2018. PubChem Compound Database; CID=97978. En: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/97978> Consultado 19 Junio 2018.
- Nayarit-Ballesteros, N., M. S. Rubio-Lozano, E. Delgado-Suárez, D. Méndez-Medina, D. Braña-Varela y O. Rodas-Suárez. 2016. Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella spp.* Aislados de carne de res molida en la Ciudad de México. *Salud Pública México.* 58:371-377.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y Organización Mundial de la Salud (OMS). 2009. *Codex alimentarius: Producción de alimentos de origen animal*. 2ª ed. FAO/OMS. Roma.
- Parra, M., J. Durango y S. Máttar. 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *MVZ-Córdoba.* 7:187-200.
- Peña, Y., M. Espino, V. Leyva, N. Aportela, M. Machin y P. Soto. 2011. Serovariedades y patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en Cuba. *Rev. Panam. Salud Publica.* 30:561-565.
- Ramírez, J.F., S. Posada y R. Noguera. 2014. Ruminant methanogenesis and mitigation strategies. *Rev. CES Med. Zootec.* 9:307-323.
- Rembe, J. D., C. Fromm-Dornieden, N. Shaefer, J.K. Boehm y E.K. Stuermer. 2016. Comparing two polymeric biguanides: chemical distinction,

antiseptic efficacy and cytotoxicity of polyaminopropyl biguanide and polyhexamethylene biguanide. *J. Med. Microbiol.* 65:867-876.

- Reyes, J., I. Vidal, M. González, R. González y D. Fonte. 2003. Efecto de dos intensidades de pastoreo en el método rotacional con ganado lechero. Reciclado de nutrientes al suelo por las excreciones de vacas lecheras. *Cuban J. Agric. Sci.* 37:163-168.
- Riera, R., V. Torre, P. Rizzo, M. Butti, F. Bressan, Z. Natalia, C. Weigandt y D. Crespo. 2014. Evaluación del proceso de compostaje de dos mezclas de residuos avícolas. *Rev. FCA UNCUYO* 46:195-203.
- Riley, L. W., R. S. Remis y S. D. Helgerson, H.B McGee, J.G. Wells, BR, Daves, R.J. Herbert, E.S. Olcott, L.M. Johnson, N.T. Hargrett, P.A. Blake y M.L. Cohen. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.* 308:681–685.
- Rodríguez, R., A. Sosa y Y. Rodríguez. 2007. La síntesis de proteína microbiana en el rumen y su importancia para los rumiantes. *Cuban. J. Agric. Sci.* 41:303-311.
- Ruiz-Barrera, O., J. Rivera-Sida, C. Arzola-Alvarez, M. Itza-Ortiz, M. Ontiveros-Magadan, M. Murillo-Ortiz, C. Angulo-Montoya, A. Corral-Luna y Y. Castillo-Castillo. 2018. Composting of laying hen manure with the addition of a yeast probiotic. *Italian J. Anim. Sci.* DOI: 10.1080/1828051X.2018.1448724
- Ruiz-Barrera, O., R. Anderson, M. Hume, J. Corrales-Millan, Y. Castillo-Castillo, A. Corral-Luna, J. Guevara-Valdez, J. Salinas-Chavira, C. Rodriguez-Muela y C. Arzola-Alvarez. 2017. Short chain nitrocompounds as a treatment of layer hen manure and litter; effects on in vitro survivability of *Salmonella*, generic *E. coli* and nitrogen metabolism, *J. Environ. Sci.* 52:23-29.
- SAGARPA. 2012. La pollinaza no es un producto recomendable para el ganado de leche. México.
- SAGARPA. 2012. Uso de pollinaza y gallinaza en la alimentación de rumiantes. En:  
<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/hidalgo/boletines/Paginas/B0162012.aspx> Consultado 9 Marzo 2018.
- Sanberg, P.R., H. Nishino y C.V. Borlongan. 2000. Mitochondrial inhibitors and neurodegenerative disorders. 1a ed. Humana Press Totowa. E.U.A.
- SAS. 2004. User's Guide: Statistics. Statistical Analysis System Institute, Cary, N.C. U.S.A.
- Scott, A. y M.A. McCann. 1998. Microbiological survey of Georgia poultry litter. *J. Appl. Poultry Res.* 7:90-98

- Serrano, T., L. Blanco, R. García, E. Alberti, I. Diaz, N. Pavón, L. Lodigados, M. González, J. Montero, L. Martínez, M. Robinson y L. Francis. 2011. Enfermedad de Huntington: modelos experimentales y perspectivas terapéuticas. *Acta Biolo. Colomb.* 16:21-42.
- Shaw P. y A. DeAngelo, 1969. Role of ammonium ion in the biosynthesis of  $\beta$ -nitropropionic acid. *J. Bacteriol.* 99:463-468.
- Shipchandler, M.T. 1979. The Utilit of Nitroacetic Acid and its Esters in Organic Synthesis. *Synthesis.* 79:666-932.
- Smith, D.J. y R.C. Anderson. 2013. Toxicity and metabolism of nitroalkanes and substituted nitroalkanes. *J. Agric. Food Chem.* 61:763-779.
- Solimanm, E.S., E.G. Taha, M.A.A. Sobieh y P.G. Reddy. 2009. The influence of ambient environmental condition on the survival of *Salmonella* enteric serovar *typhimurium* in poultry litter. *J. Poult. Sci.* 8:848-852.
- Soriano del Castillo, J. 2015. Micotoxinas en alimentos. 1ª ed. Ediciones Díaz de Santos. España.
- Strange, R. N. (2007) Phytotoxins Produced by Microbial Plant Pathogens, *Natural Prot. Rep.* 24:127-144.
- Suárez, M. y J. Mantilla. 2000. Presencia de *Salmonella* serovariedad entertidis en productos de origen avícola y su repercusión en salud pública. *Latreia* 13:237-245.
- Terzichi, M., M.J. Pope, T.E. Cherry y J. Hollinger. 2000. Survey of pathogens in poultry litter in the United States. *J. Appl. Poultry Res.* 9:287-291.
- Tobía, C., E. Vargas, A. Rojas y H. Soto. 2001. Uso de excretas de pollos de engorde (Pollinaza) en la alimentación animal. III. Rendimiento productivo de toretes de engorde. *Agron. Costarric.* 25:35-43.
- Torres, M., D. Ovono, B. Hugues y B. Amaro. 2013. Incidencia de *Salmonella* en diferentes tipos de productos cárnicos. *Revista Electrónica de Veterinaria.* 14:1-5.
- Vidal, J.E., A. González-Román, J. Gutiérrez-Jiménez, F. Navarro-García. 2007. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Pública México.* 49:376-386.
- Winfield, MD. y EA. Groisman. 2003. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:3687-3694.
- Yossa, N., G. Arce, J. Smiley, M.C. Jo Huang, L. Yin, R. Bell, S. Tallent, E. Brown y T. Hammack. 2017. Survival and detection of *Bacillus cereus* in the presence of *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* after rechallenge in make-up removers. *Int. J. Cosmet. Sci.* 40: 67-74.

- Zhang, D. F. y H. J. Yang. 2011. In vitro ruminal methanogenesis of a hay-rich substrate in response to different combination supplements of nitrocompounds; pyromellitic dimide and 2-bromoethanesulphonate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163:20-32.
- Zhang, Z.W., Z.J. Cao, Y. L. Wang, Y.J. Wang, H.J. Yang y S.L. Li. 2018. Nitrocompounds as potential methanogenic inhibitors in ruminant animals: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 236:107-114.