

ENSAYO SOBRE EL USO DE LAS SARSAPONINAS DEL EXTRACTO DE LA PLANTA YUCCA SHIDIGUERA, BACTERIAS Y ENZIMAS EN EL CONTROL DE LA PRODUCCION DE OLORES AMONIACALES EN EXCRETAS ANIMALES

Trial using Sarsaponins of Yucca shidighera plant extract, bacteria and enzymes on the control of release of ammonia in animal waste

Juan Carlos Suárez

Ana Nesti de Alonso

Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad del Zulia

Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Palabras claves: Sarsaponinas, Yucca shidighera, amoniaco

Key words: Sarsaponins, Yucca shidighera, ammonia

RESUMEN

Los animales en confinamiento son productores de grandes cantidades de excretas, que en presencia de bacterias y humedad liberan a la atmósfera gases nocivos tales como amoniaco, e hidrógeno sulfurado, los cuales al sobrepasar de 25 ppm resultan perjudiciales tanto a los propios animales como a los operadores, y también producen un marcado efecto corrosivo sobre los materiales en contacto con esos gases. Las especies de animales de laboratorio, ratas y ratones albinos, hamsters y cobayos, requieren un ambiente limpio y libre de contaminación, razón por la cual las jaulas que los albergan deben acondicionarse con cama de cáscara de arroz, por su poder absorbente, teniendo siempre presente que la acumulación de excretas deteriora rápidamente la calidad de la cama. Se ha evaluado un producto de la biotecnología formulado a base de Sarsaponinas de la planta Yucca shidighera, bacterias y enzimas, en una base de polvo(*), cuya función es la de impedir la hidrólisis de la urea, para controlar la liberación de gases amoniacaes y neutralizar el amoniaco presente en el aire. Se ensayó el uso de DE-ODORASE suministrándolo diluido, por dos vías: 1. sobre el alimento concentrado comprimido y 2. por aspersión sobre la cama, utilizando como testigo a un grupo que no recibió el producto. El resultado fue medido por métodos de apreciación de la concentración de olor acumulado en las jaulas, por observaciones diarias durante 7 días en cada tratamiento. Además, se utilizaron técnicas semicuantitativas para determinar la concentración del amoniaco en el aire de las jaulas, utilizando los métodos de tarjetas cromatográficas precalibradas de lectura inmediata (AMMONIASENSE) y por la aspiración de los gases a través de las microcolumnas calibradas para amoniaco (ENMET Kitagawa). Por todos los métodos utilizados se obtuvieron diferencias considerables de concentración de amoniaco entre los grupos que recibieron el DE-ODORASE, sobre el alimento y sobre la cama, reportándose que el nivel de amoniaco siempre fue inferior a las 50 ppm así como la cáscara de arroz se mantuvo seca y limpia por un número de días mayores que en los controles. Los

controles no sobrepasaron del quinto día del ensayo sin alcanzar los niveles máximos de concentración de amoniaco equivalentes a 90 ppm.

ABSTRACT

Confined animals produce large amounts of waste, which in presence of bacteria and moisture release noxious gases like ammonia and hydrogen sulphide to the atmosphere. These gases, at levels above 25 ppm, are harmful to animals and humans, and have a corrosive effect on equipment contacting these gases. Laboratory animals like rats, albino mice, hamster and guinea pigs demand a clean environment, free of contaminants, being housed in cages with rice hull bedding, because of its absorbing characteristic, having always in mind that all the excreted waste spoil rapidly the bedding condition. A biotechnology product has been tested, formulated on a powder basis of Sarsaponins extracted from the Yucca shidighera plant(), that works avoiding urea hydrolysis, in order to control the gaseous ammonia and neutralizing the ammonia in the air. DE-ODORASE was tested in a solution, by two ways: 1. sprayed over the feed pellets, and 2. sprayed over the bedding, using a control group without the product. The results evaluation were done subjectively by the odor concentration in the cages during 7 days per each treatment. Besides, semiquantitative techniques were used to measure the ammonia concentration in the air of the cages using precalibrated chromatographic cards of instant reading (AMMONIASENSE) and aspirating the gas through ammonia calibrated microcolumns (ENMET Kitagawa). With all the used methods, considerable differences of ammonia concentration were found between the groups receiving the DE-ODORASE, over the pellets, and over the bedding, reporting the ammonia level always under 50 ppm, as well as the rice hulls where dryer and cleaner longer than the controls. Controls could not go over the fifth day of the trial without reaching maximum ammonia levels of 90 ppm.*

(*) DE-ODORASE, Alltech Inc, USA.

INTRODUCCION

En los métodos de producción animal modernos se deben considerar primordialmente los efectos sobre el sistema ecológico, por ser los animales entes productores de contaminaciones del agua y aire como resultado de sus procesos metabólicos y de la actividad normal de las explotaciones.

Ante la necesidad de proteger el medio ambiente de los factores contaminantes y en la búsqueda de mecanismos que estimulen la producción animal, disminuyendo el uso de drogas y medicamentos, que además de su costo presentan efectos residuales en los tejidos se ha incrementado el aporte de la biotecnología al proceso productivo, dando como resultado la disponibilidad de productos naturales tales como enzimas, bacterias, levaduras, sales y ácidos orgánicos que utilizados adecuadamente pueden controlar la población de gérmenes patógenos, facilitar la utilización de nutrientes y proteger el medio ambiente de la contaminación^[2].

En la cría de los animales en confinamiento se presentan considerables problemas de manejo y sanidad como consecuencia del acúmulo de excretas compuestas por la orina y las heces, que por la acción de las bacterias presentes, la humedad y el calor, dan origen a la producción de gases tóxicos y de amoníaco, con olores desagradables, que además de resultar perjudiciales para la salud de los animales, son un problema ecológico y de convivencia de los operadores de los sistemas sujetos al proceso de crianza, por la contaminación atmosférica que representan.

En la literatura se reporta que por encima de 25 ppm de amoníaco en el medio ambiente se producen alteraciones en los ojos y en las mucosas del tracto respiratorio de humanos y animales, y por esta causa se hacen más susceptibles a las enfermedades infecciosas. En las especies domésticas este factor es causa de morbilidad y mortalidad elevadas, pobre conversión del alimento y pérdida de peso^[1].

No está reportado el efecto de los gases amoniacales en animales de bioterio, pero en atención a que estos ejemplares deben ser mantenidos en la más estricta higiene, es necesario efectuar frecuentes cambios en el material de la cama de las jaulas para el control del nivel de producción de gases tóxicos^[4].

La aplicación de los resultados de las investigaciones biotecnológicas han puesto en el mercado el extracto de la planta *Yucca shidighera*, cuyos compuestos activos son las Sarsaponinas, esteroides vegetales, disponibles en un preparado comercial(*) que combinado con enzimas y bacterias microencapsuladas acelera la degradación de los desechos orgánicos y evita que el amoníaco se transforme en gas atmosférico.

Se reporta en la literatura que la combinación tiene la propiedad de disminuir la concentración de los gases amoníaco e hidrógeno sulfurado producidos en los desechos orgánicos en una forma totalmente inofensiva para los animales^[3].

La reducción y control de la producción de los gases

tóxicos originados por la actividad bacteriana sobre las excretas de los animales, en un medio favorable como es el material de la cama de las jaulas, especialmente en presencia de calor y humedad ambiental, son los elementos que mayormente inciden sobre la aparición de lesiones de la piel y afecciones respiratorias en los animales confinados, por lo que se ha propuesto la evaluación de las Sarsaponinas por dos vías, en animales de laboratorio.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se elaboró un diseño experimental aplicable a los animales de laboratorio, en sus condiciones normales de manejo de un Bioterio.

El ensayo fue programado para ser realizado en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de LUZ, utilizando el extracto de la planta *Yucca shidighera*(*) como control de la producción y liberación de gases amoniacales producidos por la acción bacteriana sobre las excretas de hamsters y ratas machos adultos.

MATERIALES Y METODOS

Animales experimentales

Se utilizaron grupos de hamsters dorados y de ratas albinas de las cepas del Bioterio, sometidos a un manejo tradicional. Se agruparon por lotes de seis animales por jaula como unidades de experimentación.

Se identificaron las jaulas como control para aquellos animales que no recibirían ningún ingrediente adicional y tratados a los animales que recibieron las Sarsaponinas en el alimento o en el material de la cama o lecho de la jaula.

Aditivo para el control de la producción del amoníaco

El extracto de la *Yucca shidighera* se presenta en forma de polvo homogéneo, de color blanco grisáceo, muy soluble, que puede ser adicionado al alimento concentrado durante el proceso del mezclado y que se reporta estable a los procesos de calentamiento y peletización. Debido a que el ensayo fue realizado utilizando el alimento concentrado comercial que es formulado especialmente para animales de Bioterio, y que no contiene Sarsaponinas, fue necesario implementar un método para que el producto fuera ingerido por los animales del ensayo.

Sarsaponinas en el alimento

Se preparó una solución del producto comercial DE-ODORASE en agua para una concentración de 0.11 g por

(*) DE-ODORASE, Alltech Inc, USA.

(*) DE-ODORASE. Alltech Biotecnology Center. Catnip Hill Pike. Nicholasville, KY 40356 USA.

kg. de alimento, la cual fue incorporada a los comprimidos por aspersión sobre las superficies del alimento, en cantidad suficiente para que los animales recibieran una dosis continua de DE-ODORASE al roer los pellets. Se estimó que a medida que los animales consumían el alimento recibían una cantidad de Sarsaponinas en forma diaria y acumulativa. La dosificación responde a la recomendación del fabricante.

Sarsaponinas en el material de la cama

Se utilizó una solución de DE-ODORASE al 10% para la aspersión sobre el material de la cama (cascarilla de arroz), aplicándola al momento de efectuar el cambio de cama y limpieza de todas las jaulas, de modo que todo el ensayo fuese iniciado con la seguridad de que las excretas serían absorbidas sobre el material protegido por el producto a ensayar, con concentración final de 100 mg. de DE-ODORASE por cama.

Manejo de los animales del ensayo

Todos los animales sometidos al ensayo fueron manejados según las normas que rigen el Bioterio, recibiendo una alimentación basada en un concentrado comprimido de marca comercial(*) formulado para los requerimientos de roedores, disponible a voluntad y colocado en el techo de malla de las jaulas especialmente diseñadas.

Cada jaula fue equipada con un bebedero de botella, cuyo contenido de agua fue cambiado interdiariamente y los animales disponían de acceso permanente al tubo gotero.

Las jaulas fueron limpiadas periódicamente y acondicionadas con material absorbente (cáscara seca de arroz), la cual fue cambiada cada siete días.

Métodos utilizados para evaluar el efecto de las Sarsaponinas

El efecto del extracto de la *Yucca shidighera* representado por su contenido de Sarsaponinas fue evaluado mediante la determinación cualitativa y semicuantitativa del amoníaco presente en los gases acumulados en el interior de las jaulas, comparándose este resultado con el nivel de amoníaco detectado en las jaulas control que no recibieron el producto.

Para la determinación de los niveles de amoníaco representados por las emanaciones de gases productores de malos olores de las excretas de los animales se utilizaron tres métodos:

1. Determinación subjetiva por medio de la sensación olfativa de un operador calificado en el manejo de animales de bioterio para detectar niveles de concentración de amoníaco, en base a la experiencia de determinar las condiciones de conservación de la cama de las jaulas. Se siguieron los reportes de J. McFarlane^[5].

(*) RATARINA. Alimento Granulado para ratas de laboratorio. PROTINAL. Valencia, Estado Carabobo, Venezuela.

Se propuso una escala de valores del 0 al 10, para calificar la concentración de gases amoniacales en las jaulas, estimando entre 0 y 4 una concentración de amoníaco tolerable para el normal desenvolvimiento de los animales. De 5 a 8 en condiciones crecientes de insalubridad atmosférica. De 9 y 10 se consideraron incompatibles con las condiciones de Bioterio siendo necesario el inmediato cambio de la cama y la desinfección de las jaulas.

2. Determinación de las partes por millón de amoníaco presentes en las jaulas, por lectura de la tarjeta AMMONIASENSE(*), las cuales consisten en una lámina cromatográfica preparada y calibrada para detectar y cuantificar aproximadamente el contenido de amoníaco de los ambientes. Su rango de sensibilidad oscila entre 25 y 90 ppm distribuidos en cuatro niveles detectables por tonos de coloraciones comparables a un patrón impreso. El AMMONIASENSE se presenta en dos calibraciones: el Modelo I, para determinación instantánea, y el Modelo C para determinación acumulativa durante 12 horas de exposición al ambiente contaminado.
3. Determinación de la concentración en partes por millón de amoníaco por el método de microcolumnas de detección de gases tóxicos ENMET-Kitagawa(**). Este procedimiento es el más exacto y permite determinar los rangos de concentración de amoníaco en escalas de 0,2 a 20 ppm y de 5 a 260 ppm según el tipo de microcolumna utilizada para recibir el gas. La microcolumna debe ser utilizada mediante una jeringa especial que aspira el aire pasándolo a través de las diferentes secciones del tubo, compuestas por agentes deshidratantes y reactivos con reacción cromática para el amoníaco, siendo originalmente de color rosado y que se tornan amarillos en presencia de este gas.

RESULTADOS

Todas las determinaciones se efectuaron a partir del segundo día de iniciado el ensayo, con el objeto de permitir cierta acumulación de excretas y sus efectos de producción de amoníaco en las jaulas. Los tratamientos tuvieron una duración mínima de siete días y una duración máxima de 14 días.

Método subjetivo

Los resultados obtenidos responden a una evaluación subjetiva de la concentración de gases amoniacales acumulados en el ambiente de las jaulas que recoge las excretas de los animales durante todo el período de duración del ensayo.

En la escala de puntuación de valores entre 1 y 10 propuesta para que el operador encargado de las evaluaciones otorgara un valor a cada jaula, como resultado de las observaciones diarias realizadas, basadas en el olfato

(*) AMMONIASENSE (TM) Perfect View, Inc. P.O. Box 33637 Raleigh, N.C. 27606.

(**) ENMET-Kitagawa Sampling & Analysis System from Enmet Corporation. 2308 S. Industrial Hwy. P.O. Box 979. Ann Arbor MI. 48106 USA.

entrenado se reportaron los resultados siguientes, así como un factor que fue anotado con relación al aspecto del material de la cama de las jaulas, debido al grado de

humedad que presentaron, la aglomeración del material y oscurecimiento de la cascarilla de arroz, según el número de días del ensayo.

TABLA I
RESULTADOS DEL ENSAYO SUBJETIVO DE LA ACTIVIDAD DE LA SARSAPONINA EN EL CONTROL DE OLORES AMONIACALES EN LAS EXCRETAS DE LOS HAMSTERS

Fecha de inicio: 29 de abril de 1990

Día	Sarsaponinas DE-ODORASE en alimento	Sarsaponinas DE-ODORASE en la cama	Control
02	(a) 4 - 4 (b)	(a) 2 - 2	(a) 6 - 6 (b)
03	4 - 4	2 - 2	6 - 7
04	5 - 5	3 - 3	8 - 8
05	6 - 6	3 - 3	8 - 8
06	6 - 5	4 - 3	8 - 8
07	6 - 5	4 - 3	8 - 8
08	7 - 6	4 - 3	9 - 8
09	7 - 6	5 - 4	9 - 9
10	7 - 7	5 - 4	9 - 9
11	7 - 7	5 - 4	10 - 9
12	7 - 7	5 - 5	10 - 10
13	8 - 7	5 - 5	10 - 10
14	8 - 7	5 - 5	10 - 10
15	Cambio del material de la cama y limpieza de las jaulas.		
Repetición del ensayo en igualdad de condiciones			
16	0 - 2	0 - 1	1 - 5
17	0 - 3	0 - 2	2 - 6
18	2 - 3	1 - 2	3 - 6
19	3 - 4	1 - 3	4 - 7
20	3 - 4	1 - 3	4 - 8
21	3 - 5	1 - 3	5 - 8
22	4 - 5	2 - 3	6 - 10
23	5 - 6	3 - 4	8 - 10
24	6 - 6	4 - 4	9 - 10
25	Cambio del material de la cama y limpieza de las jaulas.		

(a) y (b) corresponden a resultados de los duplicados de cada jaula.

TABLA II
REPETICION DEL ENSAYO DE LA ACCION DE LAS SARSAPONINAS EN HAMSTERS PARA DETERMINAR EL EFECTO ACUMULATIVO AL CABO DE CUATRO SEMANAS DE USO (Una jaula por tratamiento)

Fecha: 25 de mayo de 1990

26	1	0	2
27	1	1	3
28	2	2	4
29	4	3	5
30	6	3	8
31	7	3	10

Se concluye el ensayo de cuatro semanas de duración sobre los grupos de hamsters.

Observaciones: El material de la cama de los animales alojados en las jaulas con tratamiento de Sarsaponinas se mostró consistentemente más seco y limpio que en las jaulas control.

TABLA III
ACCION ACUMULATIVA DEL EFECTO DE LAS SARSAPONINAS EN RATAS MACHOS
 Fecha de inicio: 17 de mayo de 1990

Día	DE-ODORASE en alimento	DE-ODORASE en la cama	Control
18	0	0	1
19	0	0	2
20	1	0	4
21	2	2	6
22	4	2	8
23	6	3	10
24	Cambio de material de la cama y limpieza de jaulas.		
25	0	0	1
26	0	0	2
27	2	0	3
28	3	0	4
29	4	1	6
30	6	2	8
31	7	3	10

TABLA IV
ACCION DE LAS SARSAPONINAS EN RATAS HEMBRAS ADULTAS
 Fecha de inicio: 31 de mayo de 1990

Día	Sarsaponinas DE-ODORASE en el alimento	Sarsaponinas DE-ODORASE en la cama	Control
01	3 - 0	2 - 0	4 - 1
02	4 - 1	3 - 0	6 - 3
03	5 - 2	3 - 1	7 - 6
04	6 - 3	4 - 2	8 - 8
05	6 - 4	4 - 2	9 - 10

TABLA V
**USO DEL SISTEMA "AMMONIASENSE (TM)"
 PARA LA DETERMINACION DE LOS NIVELES
 DE AMONIACO EN LAS JAULAS
 DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

El AMMONIASENSE Modelo I presenta zonas identificadas por letras siendo la escala de valores aproximados de contenido de amoniaco en el aire muestreado de:

Zona	Amoniaco p.p.m.
A	25
B	40
C	60
D	90

Ensayos

Se realizaron repeticiones de los ensayos siguiendo la metodología descrita, utilizando ratas y hámsters machos, sin alterar la rutina de trabajo durante periodos de 7 días para cada ensayo. Al final de los 7 días se realizó la determinación del nivel de amoniaco presente en las jaulas por medio de la tarjeta AMMONIASENSE I, con exposición de la placa por 3 minutos, Tablas V y VI.

**USO DEL SISTEMA ENMET-Kitagawa
 PARA LA DETERMINACION DEL CONTENIDO
 DE AMONIACO EN LAS JAULAS
 DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

El método ENMET Kitagawa para la detección de amoniaco está basado en la aspiración de los gases mediante una jeringa especialmente diseñada, a la cual se adapta una microcolumna especialmente pre-calibrada para varios niveles de amoniaco, Tabla VII.

Ensayo

Se realizaron repeticiones de los ensayos previamente descritos utilizando hamsters machos, con una duración de 7 días. Al finalizar el periodo se procedió a determinar el contenido de amoniaco en las jaulas, utilizando la microcolumna de 5 a 260 ppm para determinar el rango de contaminación y luego se repitió la lectura utilizando la microcolumna de 0.2 a 20 ppm de amoniaco para conocer el resultado específico.

TABLA VI

Ensayo	Sarsaponinas DE-ODORASE en el alimento	Sarsaponinas DE-ODORASE en la cama	Control
I	C	B	D
II	B/C(*)	A	D/C(*)
III	C	B	D
IV	D	A	B

(*) Resultados intermedios entre los dos valores de la tarjeta.

TABLA VII

**DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE AMONIACO EN LAS JAULAS
POR EL METODO DETECTOR DE GASES TOXICOS ENMET-Kitagawa**

RANGO	Sarsaponinas (DE-ODORASE) en el alimento	Sarsaponinas (DE-ODORASE) en la cama	Control
5 a 260 ppm	10	10	20
0.2 a 20 ppm	5	6	18

(a) Lecturas por duplicado.

CONCLUSIONES

De los ensayos realizados para evaluar el efecto de las Sarsaponinas, bacterias microencapsuladas y enzimas del producto DE-ODORASE sobre el control de la producción de amoniaco por la actividad bacteriana sobre las excretas de los animales de laboratorio, se observó que consistentemente los grupos tratados, ofrecieron resultados más bajos de contenido de amoniaco que los grupos control, independientemente de la raza y sexo de los mismos. Tablas I y II.

Se determinó que el suministro de Sarsaponinas fue completamente inocuo, y ninguno de los animales tratados o testigos manifestó alteraciones ni se reportaron animales muertos. Se apreció un efecto acumulativo de la actividad, por cierta disminución de la producción de gases de amoniaco mensurables en las jaulas.

Las diferencias observadas en cuanto a la efectividad de las Sarsaponinas adicionadas a la cama con relación a

la misma concentración adicionada por aspersión sobre los comprimidos del alimento concentrado se estima que se deban a que la ingestión del producto no fue homogénea, por no encontrarse disperso en la mezcla de ingredientes del mismo, sino adherido a la superficie. Se recomienda repetir el ensayo, utilizando un alimento concentrado comprimido que contenga las Sarsaponinas incorporadas a la mezcla de ingredientes para eliminar este factor. Tablas III y IV.

Posteriormente a la finalización del ensayo se recibió la información de la disponibilidad del producto DE-ODORASE en forma líquida, con una concentración mayor.

Consistentemente se observó que las camas de las jaulas de los grupos tratados se presentaron secas por un período de tiempo más largo, y con una apariencia más limpia, factor que permitiría economizar insumos en los cambios de camas y ofrecería mejores condiciones de habitabilidad a los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Altar A.J. & Brake J.T. AMMONIA Control: Benefits and trade-offs. Poultry Digest. Ed. Watt Publication. Aug. 1988 .
- [2] Headon, D.R. Biotechnology: A world of endless possibilities biotechnology in the feed industry. Proc. of Alltech Fifth Annual Symposium. T.P. Lyons Ed. Nicholasville, KY, U.S.A. 1989 .
- [3] Jacques K. DE-ODORASE. A biological approach to confinement livestock ammonia problems, waste management and animal performance. Alltech Biotechnology Center. Nicholasville, KY. USA. 1988
- [4] Jacques K. Air quality and livestock waste. Managing waste handling systems. Technical Report. Alltech Inc. Biotechnology Center. Nicholasville, KY. USA. (1989). Niholasville KY 1989
- [5] McFarlane J. Deodorizing pet waste. Pet Veterinarian. Sept.-Oct. 1989.