Avances en el Uso de Aditivos Remediadores de Aflatoxinas en Alimento para Camarón Blanco *Litopenaeus vannamei*

Oscar Daniel García-Pérez, Mireya Tapia-Salazar, Martha Nieto-López, David Villarreal-Cavazos, Julián Gamboa-Delgado, Denis Ricque-Marie, L. Elizabeth Cruz-Suárez

[1] Programa Maricultura, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, AP F-67. San Nicolás de los Garza, NL 66451, México. Tel/Fax: +52 81 8352-6380 oscar_garcia83@hotmail.com

Resumen

El remplazo de ingredientes de origen animal por ingredientes de origen vegetal en alimentos para camarón ha ocasionado un aumento de sustancias tóxicas tales como las aflatoxinas. Estas sustancias son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus, Fusarium* y *Penicillium*. Estudios en camarón muestran que la presencia de granos contaminados con aflatoxinas reduce el consumo de alimento, la ganancia en peso y causa daños en el hepatopáncreas y mortalidades a un nivel de inclusión mayor a 500 ppb. El uso de secuestrantes de micotoxinas en la nutrición de animales terrestres es una estrategia que permite reducir el daño ocasionado por la presencia de estos compuestos tóxicos. En camarón existe muy poca información al respecto, por lo que en el presente trabajo presenta los últimos avances en el uso de secuestrantes de aflatoxinas en camarón *Litopenaeus vannamei*. En una primera fase se evaluó la capacidad secuestrante de algunos productos a base de aluminosilicatos (AL1.- HSCAS y Montmorillonita de Ca; AL2.- Organoaluminosilicato químicamente activado; AL3.- Tierra de diatomeas, Caolinita, sustancias fitofíticas y extractos herbales; y AL4 Bentonita montmorillonita). En una segunda fase se probaron mezclas remediadoras, donde se evaluaron productos con una combinación de paredes de levadura y arcillas (MZ1.- Zeolita y paredes celulares de levadura; MZ2.-Glucomanano de paredes celulares de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y aluminosilicato de calcio y sodio hidratado; y MZ3.-Bentonita, levadura *Trichosporon mycotoxinivorans*, epoxidasa y lactonasa). En una tercera fase se evaluaron algunos antioxidantes que han dado buenos resultados tanto en animales terrestres como acuáticos (Curcumina, harina de alga Ulva y ácido linoleico conjugado). En una cuarta fase se evaluó el producto MZ3 a diferentes niveles de inclusión con o sin la presencia de harina de alga Ulva. Los resultados sugieren que el uso de algunos de estos productos aminoran los efectos causados por la presencia de aflatoxinas en alimentos para camarón, no obstante algunos pueden llegar a reducir el rendimiento cuando se añaden en una dieta sin contaminar.

Palabras claves: camarón, secuestrantes, biotransformadores, aflatoxinas

García *et al*. 2013. Avances en el Uso de Aditivos Remediadores de Aflatoxinas en Alimento para Camarón Blanco *Litopenaeus vannamei* En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Alvarez-González, C. (Eds), Contribuciones Recientes en Alimentación y Nutrición Acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 191-223.

Introducción

Los mohos crecen sobre los materiales vegetales produciendo el deterioro de los mismos, además de producir metabolitos secundarios, los cuales son tóxicos para plantas y/o animales. Un ejemplo de estas sustancias son las micotoxinas las cuales enferman o matan a los animales que los consumen (Swanson, 1987).

Las micotoxinas son compuestos ubicuos que difieren mucho en sus propiedades químicas, biológicas y toxicológicas. Una micotoxicosis primaria se produce al consumir vegetales contaminados, mientras que una micotoxicosis secundaria ocurre al ingerir carne o leche de animales que comieron forrajes con micotoxinas (Lillehoj *et al*., 1991).

Las características de una micotoxicosis son las siguientes (Lillehoj *et al*., 1991):

a) No es una enfermedad transmisible.
b) El tratamiento con drogas o antibióticos tiene poco o ningún efecto.
c) En los brotes observados en el campo, el problema es estacional debido a que las condiciones climáticas afectan al desarrollo del hongo.
d) El brote está comúnmente asociado a un alimento o forraje específico.
e) El examen del alimento o forraje sospechoso revela signos de actividad fúngica.
f) La presencia de las micotoxinas en los vegetales puede deberse (Swanson, 1987):
g) A la infección de la planta en el campo por el hongo patógeno o a la colonización por los saprobios.
h) Al crecimiento de los mohos saprobios o patógenos post-cosecha sobre los frutos y granos almacenados.
i) Al desarrollo fúngico saprobio durante el almacenamiento de los materiales ya procesados.

Los hongos productores de micotoxinas son del género *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Epicoccum*, *Fusarium* y *Verticillium*, aunque su presencia difiere según el vegetal, el clima y la región geográfica (Lacey, 1989; Widstrom, 1992). Las micotoxinas de

mayor importancia en la nutrición de organismos terrestres son las aflatoxinas, zearalenona, deoxivalenol, nivalenol, toxinas T-2 y HT-2, fumonisinas, ocratoxina, patulina, etc.

De todas las micotoxinas conocidas, las aflatoxinas son las más estudiadas y de ellas, la AFB_1, AFB_2, AFG_1 y AFG_2 han sido las más investigadas (Bennett y Klich, 2003). La aflatoxina B_1 es la más potente y carcinogénica hepática, la cual es activada por el B,-2,3-epoxido (Williams y Buhler, 1983). Se puede encontrar principalmente en cereales y granos, entrando directamente en la cadena alimenticia (Josephs *et al*., 2005); no obstante también pueden presentarse en productos de origen animal como la leche (Diaz *et al*., 2004), carne o huevos (Wolzak *et al*., 1985; Wolzak *et al.*, 1986). En animales productores de leche, este compuesto es metabolizado a aflatoxina M_1 (Battacone *et al*., 2009) gracias a la metabolización de la AFB_1 por las enzimas hepáticas microsomales de la familia citocromo P450 (Kuilman *et al*., 2000).

En crustáceos se ha reportado que tanto la presencia de AFB1 en forma pura en el alimento o inyectada, así como la presencia de granos contaminados (Tabla 1) reduce el consumo de alimento, la ganancia en peso y genera daños en el hepatopáncreas. A niveles elevados, puede ocasionar mortalidades importantes.

Tabla 1. Resumen de afecciones causadas por AFB1 en camarones peneidos.

Dosis	Tiempo Exposición	Afección	Especie	Referencia
25-160 ppm	24 hrs.*	Hepatopáncreas Órgano Mandibular	*P. stylirostris*	Wiseman *et al.*, 1982
	96 hrs.*	Órgano Hematopoyético Hepatopáncreas		
50-300 ppm	4 semanas	Órgano Mandibular Órgano Hematopoyético	*P. vannamei*	
50 ppb	21 días	Hepatopáncreas Glándula Antenal	*P. vannamei*	Ostrowski-Meissmer *et al.*, 1995
250 ppb 400 ppb 900 ppb	56 días	Aumento de TCA Disminuye peso final Reduce digestibilidad		
50 - 2500 ppb		Correlación Altamente negativo entre peso final, ganancia de peso y sobrevivencia	juveniles de *P. monodon*	Boonyaratpalin *et al.*, 2001
500 ppb	8 semanas	Atrofia del epitelio tubular Hepatopáncreas, Infiltración Hemocítica y Fibrocítica del Hepatopáncreas, Necrosis, Infiltración y degeneración del Hepatopáncreas		
100 ppb		Reduce sobrevivencia		
50-2500 ppb		Atrofia del epitelio tubular del Hepatopáncreas, infiltración hemocítica y fibrocítica del hepatopáncreas, necrosis, inflamación y degeneración del hepatopáncreas	adultos de *P. monodon*	

		afecta el sistema inmunológico incrementa actividad fenoloxidasa		
5 ppb	7-10 días	reduce el crecimiento Aumenta mortalidad	*P. monodon*	Bintvihok *et al.,* 2002
10 ppb		Daño hepático reduce actividad de la enzima transaminasa glutámico-oxalacética		
20 ppb				
10 ng/g		Potencializa actividad digestiva de Tripsina	*P. vannamei*	Farias y Torres. 2003
73.8 ppm	62 días	reduce crecimiento inmunodepresión	*P. monodon*	Bautista *et al.,* 2003

*inyección de toxina en vía intramuscular

Métodos de control y/o prevención contra las micotoxinas

Las pérdidas económicas debido a la presencia de micotoxinas son considerables. Una estrategia utilizada para reducir el impacto en la producción animal es la utilización de productos secuestrantes o transformadores, los cuales se incluyen en la fabricación del alimento. Para poder seleccionar estos compuestos, se deben de cumplir los siguientes requerimientos (Piva *et al*., 1995; Rustom, 1997; Bata y Lásztity, 1999):

a) Deben destruir, inactivar o remover las micotoxinas;
b) No deben producir o dejar residuos tóxicos y/o carcinogénicos/mutagénicos al final de la producción o en productos alimenticios obtenidos a partir de los animales alimentados con dicho producto;
c) No debe provocar efectos adversos en propiedades tanto físicas como sensoriales en el producto;
d) Debe de ser técnica y económicamente factible.

Las sustancias usadas como secuestrantes incluyen material inorgánico como carbón activado, aluminosilicatos (arcillas, bentonitas, montmorillonita, zeolita, filosilicatos, etc.), carbohidratos indigeribles complejos (celulosa, polisacáridos de paredes celulares, levaduras y bacterias como glucomanano, peptidoglucano, entre otros) y polímeros sintéticos como colesterinas y polivinilpirrolidona y derivados (Diaz *et al*., 2003; Diaz *et al*., 2004). La mayoría de los estudios desarrollados para aminorar los efectos de la micosis con el uso de adsorbentes están enfocados a la utilización de aluminosilicatos, principalmente zeolitas y aluminosilicatos de sodio y calcio hidratados (HSCAS) y algunas arcillas en donde se les reemplazó algunos de sus iones por iones de metal de tierras alcalinas (Barrer, 1989; Mumpton, 1999).

En animales terrestres se ha reportado que la inclusión de estos compuestos aminoran de manera importante los efectos causados por la presencia de micotoxinas. En camarón no existe evidencia clara sobre su efectividad y si estos son efectivos para su aplicación en alimentos para camarón, por lo que el presente trabajo presenta datos donde se evaluaron aluminosilicatos, mezclas de productos y compuestos antioxidantes como una estrategia para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón blanco *L. vannamei* bajo condiciones controladas.

Material y métodos

Dietas experimentales

Las dietas experimentales fueron elaboradas en el Programa Maricultura, que forma parte del departamento de Ecología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. Estas dietas se realizaron a partir de una fórmula de referencia la cual fue utilizada como dieta control (elaborada con la misma proporción de ingredientes en todos los bioensayos). Esta fórmula fue elaborada utilizado el programa Nutrion 5, la cual fue modificada ligeramente de acuerdo con las necesidades para cada experimento. Posteriormente se determinó la estabilidad de las dietas experimentales en términos de pérdida de materia seca (PMS) utilizando el método de Ricque-Marie *et al.* (2006). Además se calculó el porcentaje de

absorción de agua de las dietas experimentales, que fue determinado siguiendo la metodología descrita por Nieto-López *et al*. (2011).

Experimento 1: Evaluación de la efectividad de diferentes arcillas para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón blanco *l. vannamei*

En este primer experimento, se comprobó la efectividad de diferentes secuestrantes a base de aluminosilicatos en camarones *L. vannamei* (592±6 mg) alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas y sin contaminar por un periodo de 42 días. Para esto se elaboraron dos dietas controles, una libre de micotoxinas y otra contaminada con 75 ppb de AF totales, a partir de estas se elaboraron 8 dietas más conteniendo uno de cuatro secuestrantes (AL1.- HSCAS y Montmorillonita de Ca; AL2.- Organoaluminosilicato químicamente activado; AL3.- Tierra de diatomeas, caolinita, sustancias fitofíticas y extractos herbales; y AL4.- Bentonita montmorillonita) a un nivel de 2.5 a 5.0 g/kg de acuerdo con el nivel recomendado por el fabricante para cada producto. Para la elaboración de las dietas contaminadas se utilizó harina de maíz contaminado (reemplazando a la harina de trigo). Cada tratamiento se evaluó en 3 acuarios replicados (acuarios de 60 L con doble fondo) con una densidad de 10 camarones por acuario. Los parámetros zootécnicos de los camarones fueron evaluados cada 7 días.

Experimento 2: evaluación de la efectividad de diferentes secuestrantes de aflatoxinas a base de mezcla de arcillas con otro compuestos para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón blanco *l. vannamei*

En este experimento se comprobó la efectividad de diferentes mezclas de aluminosilicatos con paredes de levadura y otros productos contra alimentos contaminados con aflatoxinas durante 42 días. Al igual que con el experimento anterior, se formularon dos dietas controles: una libre de aflatoxinas y otra contaminada con 75 ppb de aflatoxinas totales. A partir de estas dietas se elaboraron 6 dietas más conteniendo una de las mezclas remediadoras (MZ1.- Zeolita y paredes celulares de levadura; MZ2.-Glucomanano de paredes celulares de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y aluminosilicato de calcio y sodio

hidratado; y MZ3.-Bentonita, levadura *Trichosporon mycotoxinivorans*, epoxidasa y lactonasa) en un nivel de inclusión de 2.5 a 5.0 g/kg de acuerdo con lo recomendado por el fabricante. Para la elaboración de las dietas contaminadas se utilizó harina de maíz contaminado (remplazando a la harina de trigo). Cada tratamiento se evaluó en 4 replicados (acuarios de 60 L sin doble fondo) con una densidad de 10 camarones por acuario con un peso promedio inicial de 210± 4mg. Los camarones fueron alimentados a saciedad con 2 raciones diarias (9:00 y 17:00h). Los parámetros zootécnicos de los camarones fueron evaluados cada 7 días.

Experimento 3: evaluación de la efectividad de diferentes antioxidantes para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón blanco *L. vannamei*

En este bioensayo se evaluó la efectividad de diferentes tipos de antioxidantes (harina de alga *U. clathrata*, curcumina, ácido linoleico conjugado) en dietas contaminadas con aflatoxinas por 42 días. Para esto se elaboraron dos dietas controles: una libre de aflatoxinas y otra contaminada con 120 ppb de aflatoxinas totales, a partir de estas se elaboraron 6 dietas más conteniendo uno de los antioxidantes a evaluar. Los niveles de inclusión para la *Ulva*, curcumina y CLA fueron de 40.0, 0.14 y 4.0 g/kg respectivamente. El nivel de inclusión se determinó por la efectividad indicada en la bibliografía [Peña-Rodríguez (2011); Gowda *et al.* (2008); Denli *et al.* (2004)]. Para la elaboración de las dietas contaminadas se utilizó harina de maíz contaminado (remplazando a la harina de trigo). Cada tratamiento se evaluó en 3 replicados (acuarios de 60L sin doble fondo) con una densidad de 12 camarones por acuario con un peso promedio inicial de 326±3 mg. Los parámetros zootécnicos de los camarones fueron evaluados cada 7 días.

Experimento 4: Efectividad de diferentes niveles de la MZ3 solo o en combinación con *U. clathrata* para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón

Para el último bioensayo se comprobó la efectividad de la mezcla remediadora 3 (Bentonita, levadura *Trichosporon mycotoxinivorans*, epoxidasa y lactonasa) a diferentes dosis, sola o en combinación con harina de *U. clathrata* en alimentos contaminados para camarón blanco. Para esto se formularon 2 dietas, una libre de aflatoxinas y la otra dieta contaminada con 120 ppb de aflatoxinas totales. A partir de la DCC se elaboró una con la inclusión de 2% de alga *U. clathrata*, posteriormente se prepararon 3 pares de dietas con 2.5, 3.0 y 5.0 g/kg de la MZ3 sola o en combinación con la harina de alga. Para la elaboración de las dietas contaminadas se utilizó harina de maíz contaminado (remplazando a la harina de pescado y en mayor proporción a la harina de trigo), cada tratamiento se evaluó en 3 replicados (acuarios de 60L sin doble fondo) con una densidad de 12 camarones por acuario con un peso promedio inicial de 310± 4 mg. Los camarones fueron alimentados a saciedad en dos raciones diarias (9:00 y 17:00 h). Los parámetros zootécnicos de los camarones fueron evaluados cada 14 días.

Análisis estadísticos

Para los parámetros zootécnicos evaluados en los camarones de los experimentos 1, 2 y 3 se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y en el caso de detectar diferencias significativas ($P<0.05$), se realizó una comparación múltiple de medias por el método de Tukey por producto a un nivel de significancia de 0.05. Para el último bioensayo se realizó un ANOVA de una vía y una comparación múltiple de medias por el método de Tukey para todos los tratamientos a un nivel de significancia de 0.05. En el caso de los análisis de estabilidad y absorción de agua de las diferentes dietas, los resultados fueron sometidos a un ANOVA; en caso de presentarse diferencias significativas, se realizó una comparación múltiple de medias Tukey a un nivel de significancia de 0.05. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa SPSS versión 15.0. (SPSS. Inc., Chicago IL, USA).

Resultados y discusiones

Estabilidad del alimento y absorción de agua de las dietas experimentales.

La manufacturación de alimentos para consumo animal envuelve una serie de procesos que intervienen en la calidad final del pellet, sin embargo, la incorporación de algunos ingredientes, tales como las arcillas minerales, juegan un papel clave en algunos de los parámetros físicos del alimento (Thomas *et al.*, 1998). La inclusión de las arcillas AL3 y AL4, evaluadas en el primer experimento, redujo la pérdida de materia seca de 12 a 16% tanto en la dieta control limpia así como la control contaminada (Fig. 1a). De la misma forma, se observó una mayor absorción de agua (7-17%) en comparación con las dietas sin suplementar (Fig. 1b). Pfost y Young (1973) reportan que la inclusión de bentonitas de sodio tienen efectos beneficiales en la durabilidad del alimento, en promedio 5% más alta que para las dietas sin suplementar. El incremento en la capacidad de absorción de agua debido a la presencia de montmorillonita y vermiculita en los alimentos es debido a la presencia de espacios intercalados en las moléculas de este productos (Vaught *et al.*, 2006). La mayor capacidad de absorción de agua en estas dietas fue para las que contenían AL3 y AL4, lo que confirma la presencia de montmorillonita.

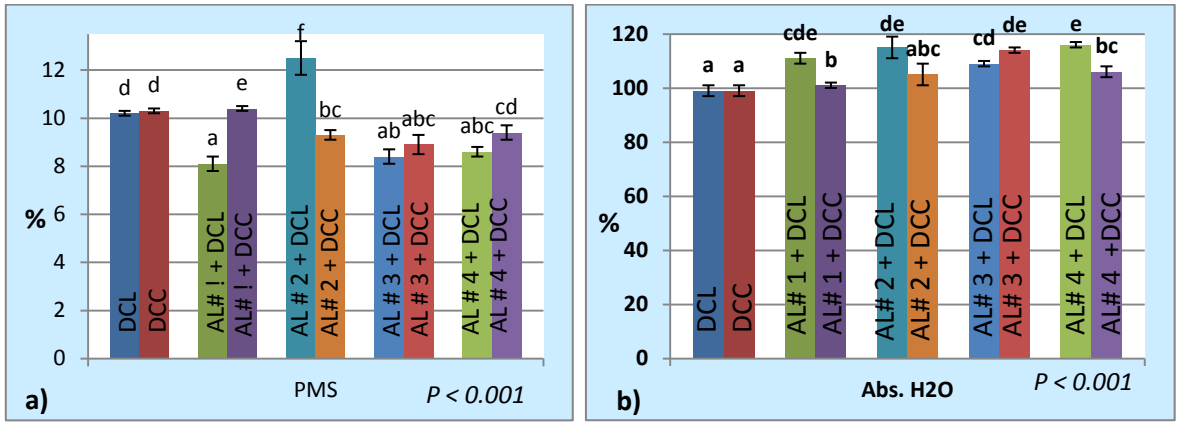


Figura 1. (a) Pérdida de materia seca (PMS) y **(b)** Absorción de agua (Abs H_2O) de las dietas experimentales a las que se les añadió diferentes productos a base de aluminosilicatos.

Para el experimento 2, en donde se añadieron las mezclas remediadoras, la PMS de las dietas controles oscilaron entre el 10.2 y 10.3% y la suplementación de las mezclas remediadoras mejoró la estabilidad de las dietas reduciendo la PMS de un 19 a un 38%. La absorción de agua en las dietas experimentales se mantuvo sin diferencias significativas, oscilando entre 87.7 y 108.7%. Se ha reportado que la inclusión de fibras solubles (arabinoxilanos y pectinas) y β-glucanos mejoran la calidad del pellet (Thomas *et al*., 1998; Thammakiti *et al.*, 2004; Zechner-Krpan *et al.,* 2009). Las observaciones previas confirman que la inclusión de los productos de levadura mejora la calidad del pellet.

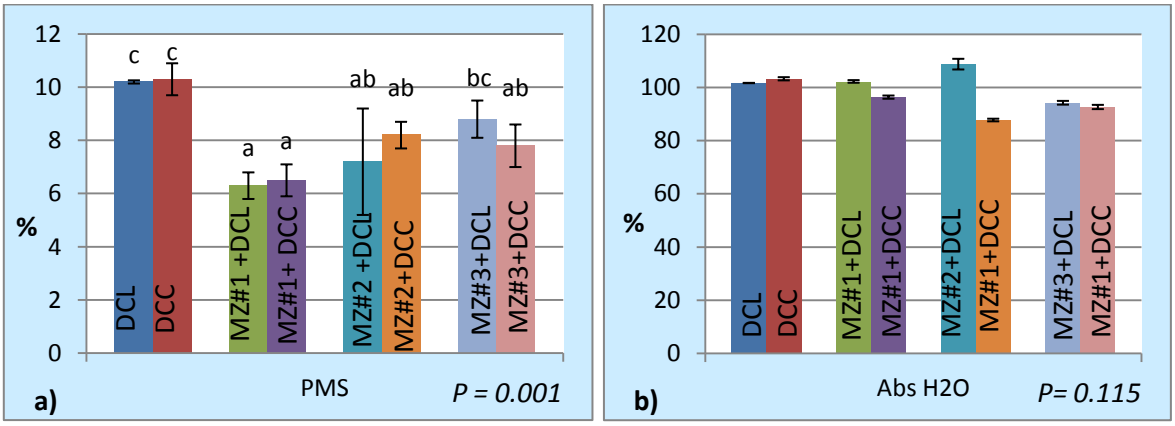


Figura 2. (a) Pérdida de materia seca (PMS) y **(b)** Absorción de agua (Abs H_2O) de las dietas experimentales a las que se les añadió secuestrantes de micotoxinas a base de arcillas, más la presencia de otros productos.

Para el experimento tres, la inclusión de CLA y la harina de alga aumentó de manera significativa la pérdida de materia seca y la absorción de agua (Figs. 3a, 3b). Estos resultados son contradictorios a los anteriormente reportados ya que se ha reportado que la inclusión de harina de macroalgas mejora la estabilidad de los alimentos para organismos acuáticos: Hashim y Mat-Saat (1992) reportan que la incorporación de 5% de harina de *Ulva* ssp. incrementó la estabilidad de las dietas para pez haruan (*Channa striatus*). De igual manera, Peñaflorida y Golez (1996) enfatizaron la buena capacidad de estabilidad de las dietas suplementadas con harina de alga roja *Kappaphycus alvarezii* (6-7% de PMS). Por su parte Peña-Rodríguez (2011), encontró una mejor estabilidad de dietas para camarón *L. vannamei* observando que al agregar harina de alga *Ulva clathrata*, la PMS de la dieta

disminuía en un 19.1%. Sin embargo, en el presente estudio los valores PMS observados en las dietas a las que se les añadió harina de alga, son similares a los reportados por Peñaflorida y Goles (1996) donde encontraron una PMS del 12% en dietas que contenían harina de alga *Gracilaria heteroclada.* Aunque las dietas suplementadas con harina de alga y CLA presentan una mayor PMS en comparación con las dietas sin suplementar y las suplementadas con curcuminas, los valores de PMS se encuentran dentro de los valores reportados para alimentos para camarón. Para la absorción de agua de los diferentes tratamientos se observó que la inclusión de la harina de alga aumenta de manera significativa este parámetro. Estos resultados coinciden con los reportados por Peña-Rodríguez (2011), quien observó un incremento (28%) en la absorción de agua cuando incluyó 6% de harina de *Ulva clathrata* en dietas para camarón. Cruz-Suárez *et al.* (2009) mencionan que la harina de ulva otorga una mayor capacidad de absorción agua gracias a la presencia de grupos sulfatados en fracciones de polisacáridos y/o el efecto sinérgico con los restos sacáridos presentes en la ulva. En el presente experimento, observamos que la inclusión de harina de alga *U. clathrata* incrementó la absorción de agua en un promedio de 42%, confirmándose que la inclusión de este ingrediente modifica este parámetro en el alimento para camarón, mientras que la inclusión de CLA presentó un incremento del 20%. La ausencia de efecto en este parámetro debido a la presencia de curcuminas era de esperarse por su bajo nivel de inclusión en el alimento.

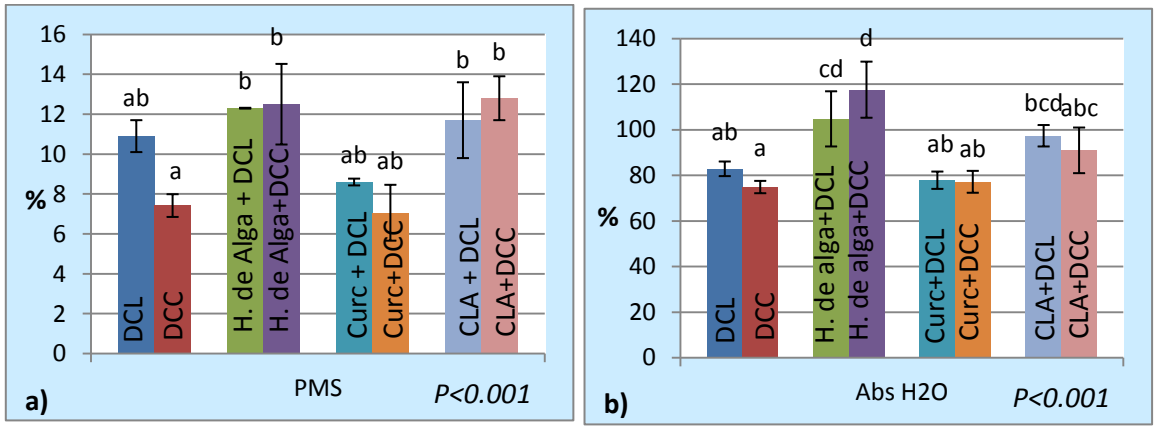


Figura 3. (a) Pérdida de materia seca (PMS) y **(b)** Absorción de agua (Abs H_2O) de las dietas experimentales a las que se les añadió los antioxidantes.

Para el cuarto experimento, la inclusión de 5 g de MZ3 (ya sea solo o en combinación de harina de alga) generó la mayor pérdida de materia seca (Fig. 4a). Esto puede deberse a la

alta concentración de la mezcla remediadora interviniendo en la estabilidad de la dieta. La inclusión de 2.5 g/kg del producto MZ3 obtuvo la mayor absorción de agua (137.6%), seguida de la dieta 2.5 g/kg de harina de alga a dieta DCC, en contraste, la dieta DCL obtuvo la menor absorción de agua oscilando en 118.8% (Figura 4b), lo que difiere de los resultados en el experimento anterior, esto puede deberse al menor nivel de inclusión de la harina de alga.

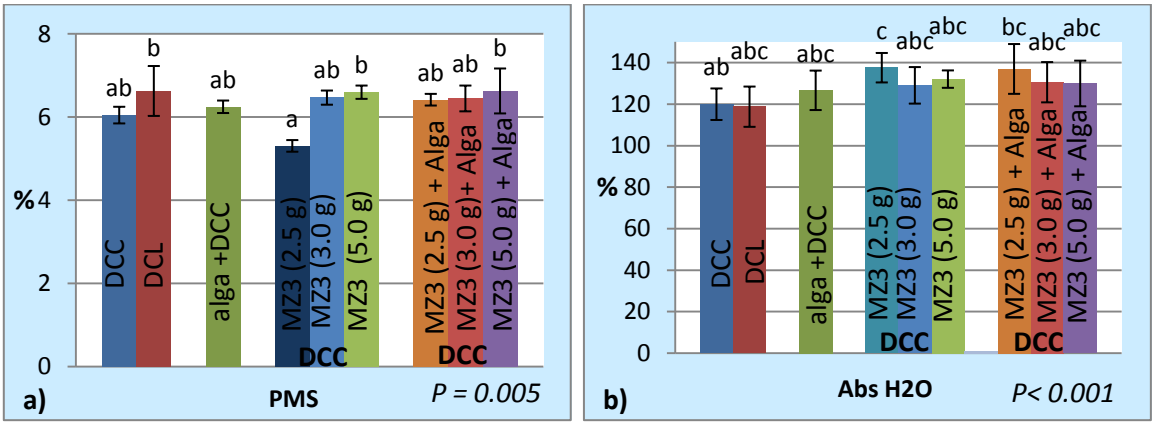


Figura 4. (a) Pérdida de materia seca (PMS) y **(b)** Absorción de agua (Abs H_2O) de las dietas experimentales a las que se les añadió la MZ3 solo o en combinación con la harina de alga

Parámetros de rendimiento

Presencia de aflatoxinas en el alimento

En todos los bioensayos realizados se confirma que el uso de granos contaminados reduce de manera significativa el consumo de alimento (20%) y la ganancia en peso (22%). Estos resultados concuerdan con los reportados por Tapia-Salazar *et al.* (2012), quienes observaron que a partir de un nivel de inclusión de 60 ppb de AF totales existe una significativa reducción en la tasa de crecimiento, mientras que a partir de 120 ppb de AF totales ocurre una reducción en el consumo de alimento. La reducción del consumo de alimento puede deberse a la presencia de compuestos inapetecibles generados en el grano durante el crecimiento de moho. No se observó una reducción de la sobrevivencia en los diferentes estudios, los cual concuerda con lo documentado por Tapia-Salazar *et al.* (2012) para *L. vannamei* (hasta 500 ppb de AF totales utilizando granos naturalmente

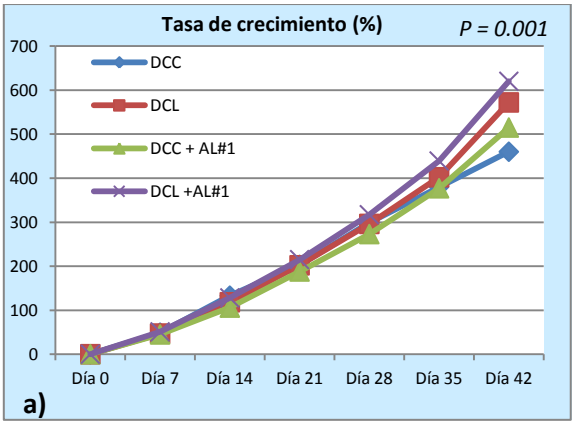
contaminados) y por Boonyaratpalin *et al.* (2001) y Gopinath y Raj (2009) para *P. monodon* (de 15 a 2500 ppb de AFB1 en forma pura).

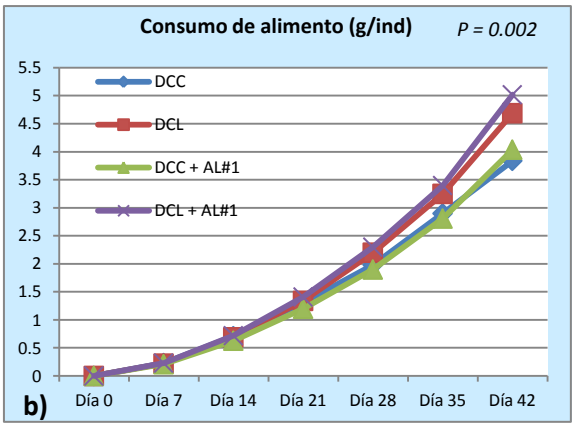
Uso de arcillas para reducir la aflatoxicosis en camarón blanco *L. vannamei*

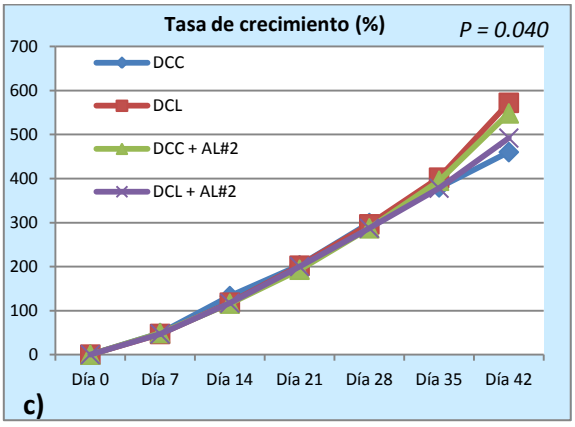
Existen diferentes estudios en donde se ha observado un efecto positivo en el uso de los aluminosilicatos en alimentos no contaminados para animales terrestres, esto podría deberse a que las arcillas ayudan a la lenta transición de los nutrientes en el sistema digestivo, lo cual conduce a un mejor aprovechamiento de los mismos (Mumpton y Fishman, 1977) dando como resultado un incremento en los parámetros de rendimiento, esto fue confirmado por Edrington *et al.* (1997) quienes al incorporar de carbón activado a la dieta inocua para aves de engorda (Peterson x Hubbard) aumentaba la ganancia de peso en un 4.3%. Por su parte Denli y Okan (2006), observaron en la misma especie que al añadir HSCAS a una dieta libre de micotoxinas no afectaba la ganancia de peso ni la tasa de conversión alimenticia, sin embargo, al integrar carbón activado o diatomita (2.5 g/kg de alimento) la ganancia de peso disminuyó en un 4 y 6% y aumentó la tasa de conversión alimenticia en un 2.8 y 3.4% respectivamente. En animales acuáticos también existen resultados contradictorios. Por ejemplo, estudios realizados con alevines de bagres alimentados con dietas libres de micotoxinas adicionadas con 0.3% y 0.6% de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado, se observó una reducción el peso final en un 10% y 26% respectivamente (Lopes *et al.*, 2009), mientras que para la trucha arcoíris, se observó un mayor incremento de peso y conversión alimenticia cuando se alimentó con dietas libres de aflatoxinas suplementadas con bentonita de sodio o mordenita (Eya *et al.*, 2008). En el presente bioensayo, al utilizar cada una de las arcillas con la DCL se observó que los camarones que consumieron AL2, AL3 y AL4 presentaron una disminución en el consumo de alimento (≈11-13%) y la tasa de crecimiento (≈1.5-14%). En contraste, los individuos alimentados con la dieta DCL+ AL1 mostraron un mayor consumo de alimento (7.1%) y una mejor tasa de crecimiento (8%). Estas diferencias en los resultados, según Macháček *et al.* (2010), radican principalmente en el tipo de zeolita utilizada, su pureza, características físicas y químicas y su concentración en la dieta. Otros autores mencionan que la disminución del consumo de alimento es debido que las zeolitas secuestran

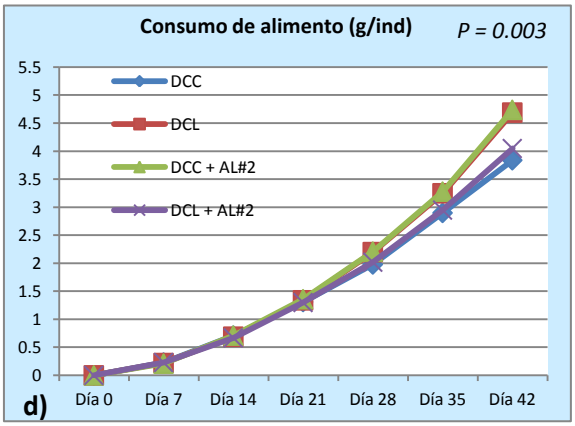
compuestos nitrogenados (Nguyen y Tanner, 1998) las cuales son atrayentes para el camarón (Suresh *et al.,* 2011).

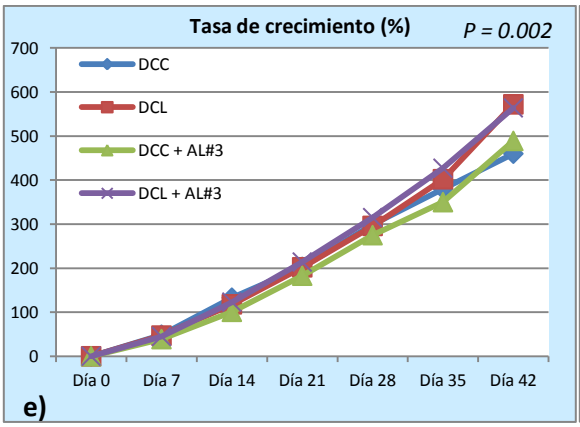
Para especies acuáticas, algunos estudios han demostrado que la incorporación de bentonitas y montmorollonita (a trucha arcoíris y tilapia respectivamente) a dietas contaminadas con aflatoxinas reduce su absorción en el tracto intestinal (Ellis *et al.,* 2000; Hassan *et al.,* 2010). Por otro lado, existen estudios que han mostrado que la inclusión de aluminosilicatos en dietas contaminadas con esta micotoxina para bagres y trucha arcoíris no produjo una disminución de sus efectos tóxicos (Lopes *et al.,* 2009; Arana *et al.,* 2011). Estudios realizados en camarón por Suppadit *et al.* (2006) y Soonngam y Hutacharoen (2007) encontraron que la inclusión de HSCAS y vermiculita disminuyó los efectos negativos causados por la alimentación de dietas contaminadas con aflatoxinas en *L. vannamei* y *P. monodon*. Sin embargo estas mejoras no fueron estadísticamente similares a las dietas sin contaminar. En el presente experimento solamente los camarones alimentados con la dieta DCC adicionada con AL2 obtuvieron un consumo de alimento (CA) y una tasa de crecimiento (TC) similares a los alimentados con la DCL; al contrario, la incorporación de AL1, AL3 y AL4 a la DCC mejoró ligeramente la tasa de crecimiento aunque no mejoró de manera significativa la ingesta de alimento. La tasa de conversión alimenticia es el valor correspondiente del consumo de alimento aunado al aumento de peso, en los organismos que consumieron el alimento DCC se observó una disminución de este parámetro. La inclusión de arcillas en las dietas experimentales no ocasionó efectos adversos en la sobrevivencia. Tales resultados coinciden con los publicados anteriormente por Soonngam y Hutacharoen (2007), quienes alimentaron camarón *P. monodon* con dietas que incluían HSCAS y vermiculita.

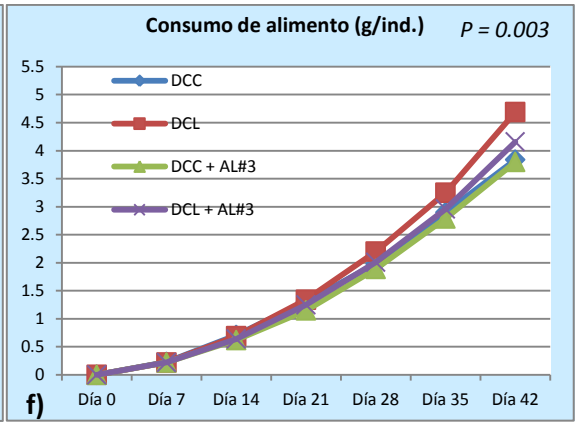

Tasa de crecimiento (%)
P = 0.001
DCC
DCL
DCC + AL#1
DCL +AL#1
700
600
500
400
300
200
100
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
a)


Consumo de alimento (g/ind)
P = 0.002
DCC
DCL
DCC + AL#1
DCL + AL#1
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
b)


Tasa de crecimiento (%)
P = 0.040
DCC
DCL
DCC + AL#2
DCL + AL#2
700
600
500
400
300
200
100
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
c)


Consumo de alimento (g/ind)
P = 0.003
DCC
DCL
DCC + AL#2
DCL + AL#2
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
d)


Tasa de crecimiento (%)
P = 0.002
DCC
DCL
DCC + AL#3
DCL + AL#3
700
600
500
400
300
200
100
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
e)


Consumo de alimento (g/ind.)
P = 0.003
DCC
DCL
DCC + AL#3
DCL + AL#3
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Día 0
Día 7
Día 14
Día 21
Día 28
Día 35
Día 42
f)

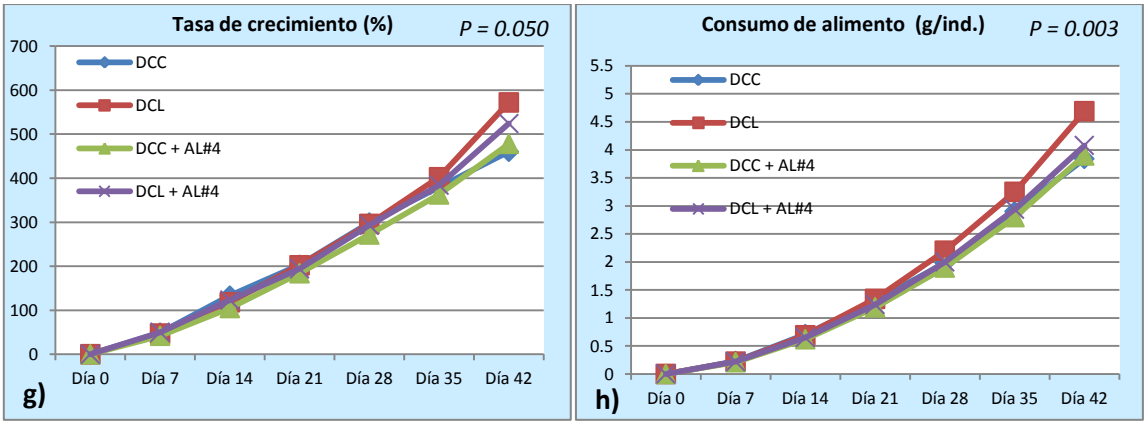


Figura 5. Tasa de crecimiento (a, c, e, g) y Consumo de alimento (b, d, f, h) de las diferentes dietas experimentales utilizando los diferentes aluminosilicatos.

Uso de productos a base de arcillas y otras sustancias para reducir la aflatoxicosis en camarón blanco *L. vannamei*

La suplementación de carbohidratos indigeribles (como la celulosa, polisacáridos provenientes de las paredes celulares de levaduras y bacterias tales como el glucomanan y peptidoglicanos) han servido como promotores del crecimiento al ser añadidos a dietas inocuas. En aves se ha encontrado un efecto promotor del crecimiento en la suplementación de paredes celulares de levadura *S. cerevisiae* a la dieta, aumentando la ganancia de peso en pollos de engorda hasta un 5% y el consumo de alimento en un 2%, además de mejorar la tasa de conversión alimenticia (4.6%; Arce *et al.*, 2005). Por su parte Parlat *et al.* (2001) encontraron en codorniz japonesa un aumento en la ganancia de peso y consumo de alimento de un 40 y 41% respectivamente comparado con la dieta control. Estos resultados confirman lo publicado por de los Santos *et al.* (2007) quienes señalan que varios promotores nutricionales influyen en la función del intestino, ya que las paredes celulares de levadura *S. cerevisiae* favorecen la longitud de las vellosidades intestinales, ejerciendo un efecto positivo en su tamaño, esto a su vez podría favorecer la superficie disponible para la absorción de nutrientes. Por otro lado, se ha observado que el uso de algunos productos como polímeros de glucomanano disminuyen el peso final en aves de engorda en un 2.5 y 4.8% a dosis de 0.5 y 1 g/kg de alimento respectivamente (Basmacıoglu *et al.*, 2005). En

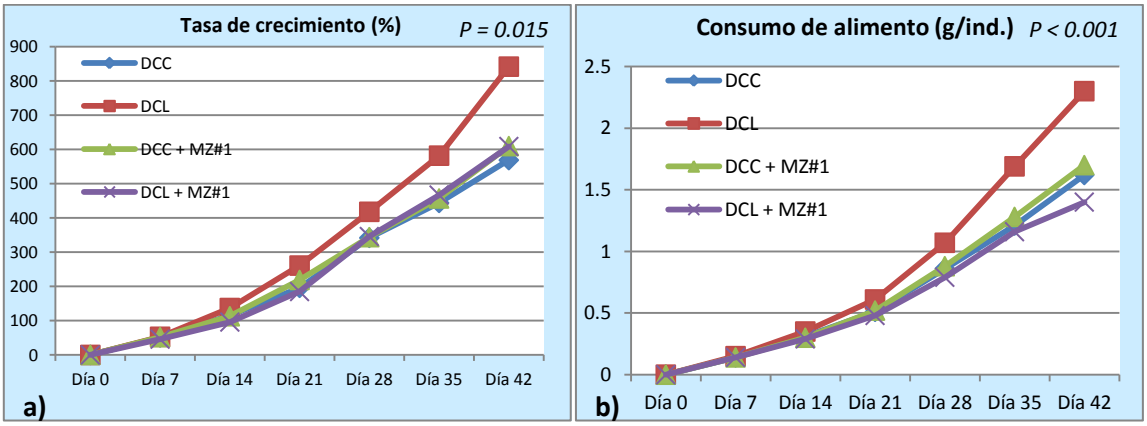
cerdos, de igual manera se observa una ligera reducción del peso promedio al añadir a la dieta 2 g del polímero por kg de alimento (Battacone *et al.*, 2007).

En organismos acuáticos, para el caso de la trucha arcoíris, estudios realizados por Staykov *et al.* (2007) muestran que la suplementación en la dieta del 2 g/kg de oligosacáridos de manano derivado de paredes celulares de *S. cerevisiae,* incrementa el promedio de peso final en un 12 y 10%; y disminuye la tasa de conversión alimenticia en 9.6 y 11.2%; esto para organismos mantenidos en jaulas y en raceways (o canaletas) respectivamente. Utilizando el mismo producto a una concentración de 2 g /kg de alimento, Torrecillas *et al.* (2007) observaron un aumento del 9% (en la TCA?) en lubina (*Dicentrarchus labrax*) comparados con organismos alimentados con la dieta control. De igual manera se observa un aumento en el peso promedio final (12%) y consumo de alimento (12.3%) en carpa común (*Cyprinus carpio*) cuando fueron alimentadas con una dieta que contenía 1 g/kg de levadura. En el presente bioensayo, al utilizar las mezclas remediadoras con las dietas sin contaminar se observó que los camarones que consumieron las dietas suplementadas con MZ1 y MZ2 disminuyeron el consumo de alimento en un 39 y 20%, además de presentar una menor tasa de crecimiento (52 y 23% respectivamente). En contraste, al incorporar MZ3 no se encontraron diferencias significativas tanto en consumo de alimento como la ganancia en peso.

La capacidad de los polisacáridos indigeribles para disminuir el efecto de las micotoxinas ha sido bien documentada en animales terrestres (Parlat *et al.*, 2001; Kamalzadeh *et al.*, 2009). Dentro de este grupo, el uso de la levadura *S. cerevisae* ha mostrado ser muy útil como secuestrante de micotoxinas. Devegowda *et al.* (1998) observaron que el extracto de fracción de paredes celulares de *S. cerevisae* es capaz de secuestrar micotoxinas *in vitro*. Santin *et al*. (2003) encontraron que las paredes celulares mejoraban la tasa de conversión alimenticia de las aves expuestas a aflatoxinas; por su parte Basmacioglu *et al.* (2005), utilizaron glucomanano esterificado extraído de las paredes celulares, y observaron una mejora significativa en la ganancia de peso en un 59 % al ser añadido al alimento contaminado con aflatoxinas. Raju y Devegowda (2000) añadieron glucomanano de levadura a una dieta contaminada y reportaron un incremento en el consumo de alimento y

peso promedio final de aves de engorda en un 4.5 y 1.6% respectivamente. El modo de acción en el cual el glucomanano de levadura reduce los efectos de la aflatoxicosis no ha sido elucidado. Sin embargo, se ha hipotetizado que las moléculas de aflatoxinas son absorbidas dentro de la matriz del glucomanano, previniendo su absorción en el tracto gastrointestinal (Kamalzadeh *et al.*, 2009).

En estudios realizados con el producto que contiene bentonita, levadura *Trichosporon mycotoxinivorans*, epoxidasa y lactonasa se ha reportado que a partir de un nivel de inclusión de 0.05% disminuye los residuos de AFB_1 y AFM_1 en musculo e hígado de aves alimentadas con dietas contaminadas con aflatoxinas (Bintvihok y Kositcharoenku, 2003; Gargees y Shareef, 2009). También se ha evidenciado que este producto aminora otros problemas desarrollados por la presencia de AF: Nešić *et al.* (2012) observaron que la inclusión de este producto en dietas contaminadas con la toxina T-2 y ofrecidas a aves de engorda, promovían un aumento del peso final (+9.4%), pero también se redujeron las ulceraciones bucales provocadas por la presencia de esta micotoxina. Para el presente bioensayo se observó que al añadir MZ1 a la dieta contaminada no se observó mejora alguna en los parámetros en general, en contraste al añadir la MZ2 y MZ3 se incrementó el consumo de alimento y la tasa de crecimiento en un 15.6 y 20% y en un 5% 23% respectivamente, además de mejorar la tasa de conversión alimenticia en un 14%.



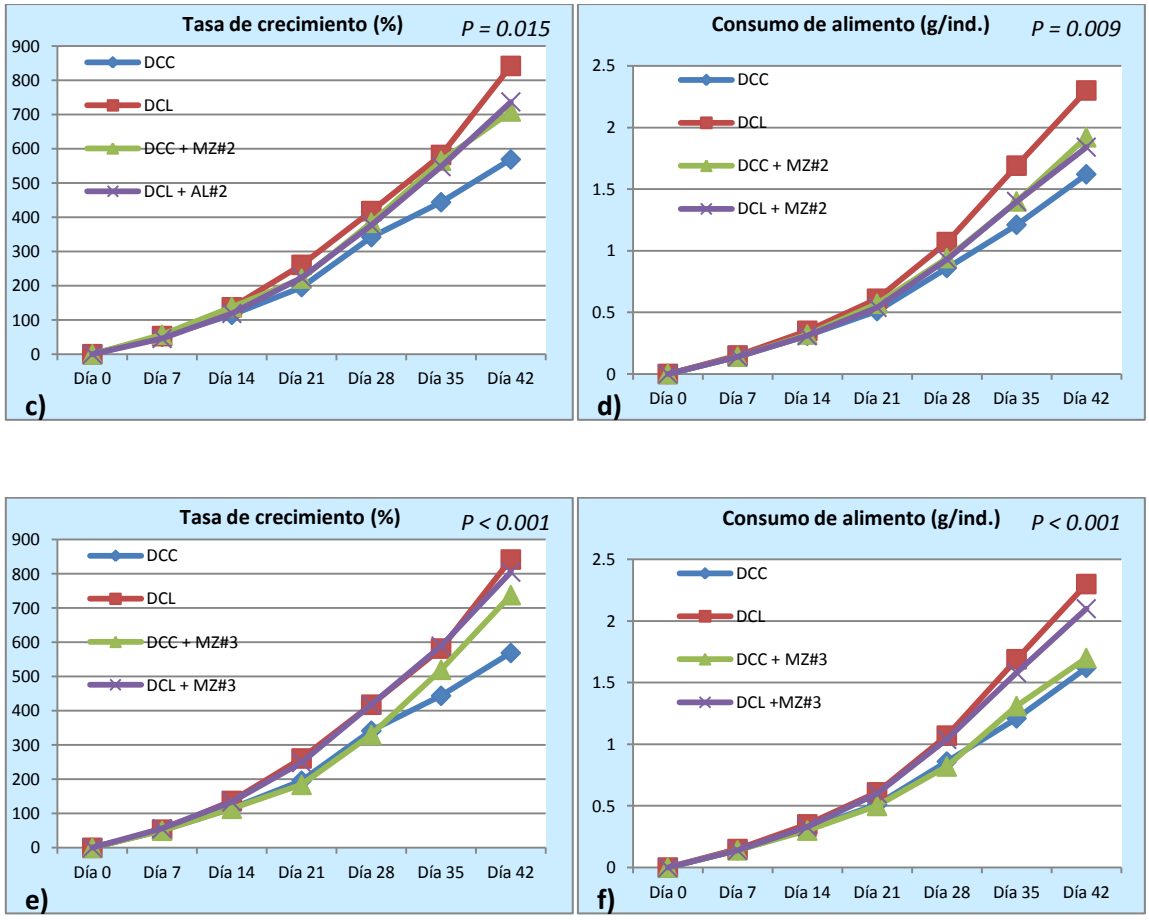


Figura 6. Tasa de crecimiento **(a, c, e)** y Consumo de alimento **(b, d, f)** de las diferentes dietas experimentales utilizando los diferentes mezclas remediadoras.

Uso de productos antioxidantes para reducir la aflatoxicosis en camarón blanco *L. vannamei*

Existen diferentes estudios que han reportado que el uso de sustancias con propiedades antioxidantes mejoran los parámetros de rendimiento en dietas para organismos acuáticos. Chen *et al.* (2013) reportan que niveles de inclusión de 0.1, 0.2 y 0.4% de la flor madreselva japonesa [*Lonicera japónica*; utilizada por la medicina tradicional China gracias al contenido de polifenoles (Xagorari *et al.*, 2001)] no afectó el consumo de alimento pero la tasa de crecimiento se incrementó conforme el nivel de inclusión, mientras que la tasa de conversión alimenticia se mejoró en un 43.7%. Estudios conducidos en

peces, por Ji *et al.,* (2007) utilizaron *Artemisia capillaries* y *Cnidium officinale*, las cuales poseen un alto contenido de polifenoles (Gundidza *et al.,* 1993; Kim *et al.,* 1993), para comprobar su efecto promotor en el crecimiento de pargo japonés (*Pagrus major*) y encontraron que el nivel de inclusión de 0.5 g/100g de dieta aumentó el peso final en un 20.5 y 20.6%, y la eficiencia alimenticia en un 21 y 19.2% respectivamente. Para el caso del CLA, Valente *et al.* (2007) utilizaron diferentes inclusiones (0.5%, 0.75 y 1%) con la finalidad de encontrar un efecto en el crecimiento en trucha arcoíris, no obstante, se pudo observar una disminución de un 2, 12 y 6.3% respectivamente, aunque estas diferencias no fueron significativas. Makol *et al.* (2009) concluyeron que la inclusión de 0, 0.5, 1 y 2% de CLA en alimentos para lubina *Dicentrarchus labrax* no afectó la ganancia en peso pero redujo el consumo de alimento en un 9% a un nivel de inclusión del producto en un 2% de CLA. Peña-Rodríguez (2011) reporta que niveles de inclusión de 2, 4 y 6% de harina de alga *U. clathrata* no afectaron la tasa de crecimiento ni el consumo de alimento. Por el contrario, Peñaflorida y Golez (1996) con *Penaeus monodon* reportan que la inclusión de 5% de harina *K. alvarezii* a la dieta control, mejora el peso final en un 11.4%. Para el caso de la curcumina, Sahu *et al.* (2008) evaluó este extracto (0, 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0 g/kg) en dietas para el pez *Labeo rohita* y observa que ninguno de los niveles evaluados afectaron los parámetros de rendimiento. Resultados similares fueron encontrados en aves de engorda por Gowda *et al.* (2008), quienes al incluir 0.5% de curcumina a la dieta, no encontraron diferencias en el consumo de alimento y tasa de conversión alimenticia. En el presente estudio al añadir la curcumina, el CLA o la harina de alga a la dieta control sin contaminar se observó un aumento en el consumo de alimento de un 6.4, 15.2 y 32% respectivamente.

Se ha reportado que la inclusión de compuestos antioxidantes, tales como carotenoides, fenoles, terpenoides y polisacáridos sulfatados; reducen los procesos de oxidación celular causado por la presencia de aflatoxinas (Abd El-Baky *et al.,* 2008). Las algas marinas poseen un sinnúmero de compuestos bioactivos tales como carotenoides (Peña-Rodríguez *et al.,* 2011), polifenoles (Kang *et al.,* 2003) y vitaminas (García-Casal *et al.,* 2009), los cuales exhiben una actividad antioxidante importante. Estudios realizados por Abdel-Wahhab *et al.* (2006) indican que al incluir extractos de *Laurencia obtusa* o *Caulerpa prolifera* a dietas para ratas contaminadas con aflatoxinas, aumenta el consumo de alimento

y la ganancia de peso. Esto coincide con los resultados obtenidos por Manoharan *et al.* (2008), quienes observaron un restablecimiento de la ganancia de peso, peso del hígado, proteína total y niveles de albumina en suero por la presencia de esta micotoxina en alimentos para ratas cuando se suministraron extractos acuosos de *Gracilaria carticata* (250 mg/kg de alimento). Por otra parte, diferentes compuestos con actividad antioxidante encontrados en las plantas han sido objeto de investigación, gracias a su efecto inhibidor en la biotrasformación de aflatoxinas. La curcumina es otro ingrediente activo el cual se encuentra en *C. longa* (≈3%). Algunos investigadores han reportado que este compuesto tiene la capacidad de reducir los efectos negativos causados por la presencia de aflatoxinas: Gowda *et al.* (2008) encontraron que al incluir 0.5% de extracto tumerico (74 mg de curcumina / kg de alimento) a una dieta contaminada con 1 mg/kg aflatoxina en aves de engorda aumentaba la ganancia de peso y el consumo de alimento en un 12.6 y 6% respectivamente; por su parte Rangsaz y Ahangaran (2011) utilizando la misma especie de animal, encontraron que al incluir 74 mg de curcumina / kg a una dieta contaminada con 3 mg/kg de aflatoxinas, la ganancia de peso y el consumo de alimento incrementaron en un 26 y 11.5%, respectivamente; además de disminuir la tasa de conversión alimenticia en un 22%, aunque ninguno de estos parámetros mostro diferencias significativas. Otro compuesto activo que ha sido reconocido por tener propiedades antioxidantes y anticarcinógenas en ratones es el CLA (Ha *et al.,* 1987). Este compuesto posee propiedades antioxidantes muy fuertes e inclusive es más potente que el α-tocofenol y casi tan efectivo como el butilhidroxitolueno (antioxidante sintético procedente de la industria petrolera; Ha *et al.,* 1990). Diferentes investigadores indican que el CLA posee una elevada actividad anticancerígena (Pariza y Ha, 1990; Ip *et al.,* 1995). Existen pocas investigaciones que han comprobado la efectividad del CLA sobre las aflatoxinas. Estudios llevados a cabo en aves por Denli *et al.* (2004) demostraron que al agregar CLA (2 o 4g/kg) a dietas contaminadas con aflatoxinas (200 o 300 µg/kg), aumentó la ganancia de peso de 5.5-6.8% a 7.1%. Estos mismos autores, en el 2005 y utilizando los mismos tratamientos encontraron una reducción en los niveles de colesterol (4.2-14.8% a 3-6.7%) y triglicéridos en sangre (18.3-21.9% a 5.9-18.3%) causados por la inclusión de este antioxidante. En el presente bioensayo, se observa que la inclusión de curcuminas, CLA y harina de alga ulva a la dieta contaminada incrementaron la ingesta de alimento y la tasa de crecimiento en un 9.3% y 20.5%, de un 12

y 21% y de 27 y 23%. Aunque los resultados no son equivalentes a una dieta contaminada, se observa una ligera mejora para los camarones que fueron alimentados con la dieta contaminada. Se requiere más información para poder establecer el modo de acción de estos compuestos en camarón. Por ejemplo, investigar si estos compuestos modifican las enzimas ligadas a los procesos de oxidación celular.

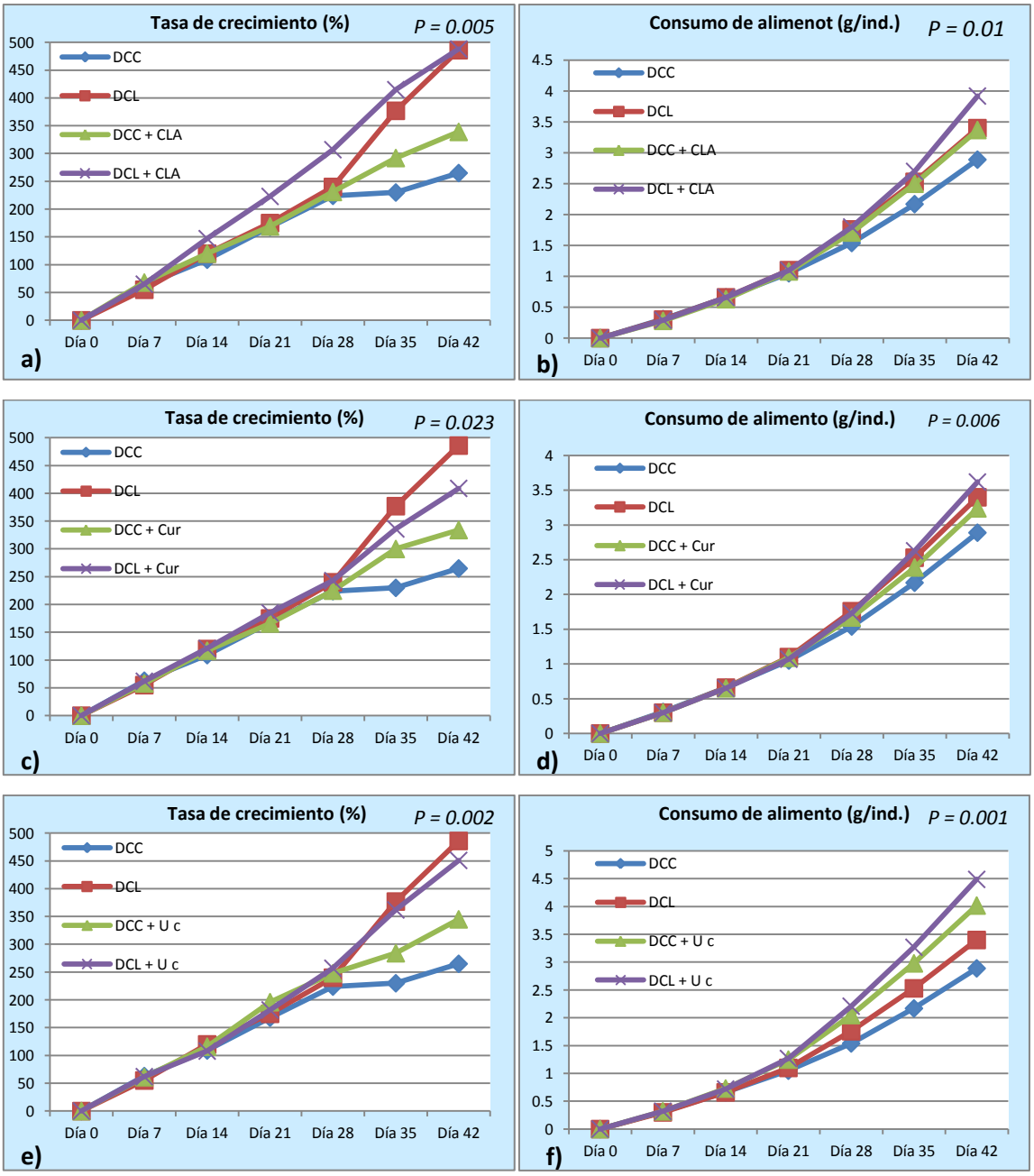


Figura 7. Tasa de crecimiento **(a, c, e)** y Consumo de alimento **(b, d, f)** de las diferentes dietas experimentales utilizando los diferentes antioxidantes.

García *et al*. 2013. Avances en el Uso de Aditivos Remediadores de Aflatoxinas en Alimento para Camarón Blanco *Litopenaeus vannamei* En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Alvarez-González, C. (Eds), Contribuciones Recientes en Alimentación y Nutrición Acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 191-223.

Uso de productos niveles crecientes de MZ3 solo o en combinación con *U. clathrata* para reducir la aflatoxicosis en juveniles de camarón

La inclusión del producto MZ3 a la dieta DCC mejoró el consumo de alimento y la ganancia en peso, aunque niveles de inclusión mayores a 2.5g/kg MZ3 causaron una menor tasa de crecimiento. Al incluir la harina de alga en las dietas, se observa una ligera mejora en los parámetros de crecimiento. Estos resultados coinciden con los observados por Kiyothong *et al.* (2012), quienes al suplementar el mismo producto usado en el presente experimento a concentraciones de 0, 15, 30 y 45 g por día a vacas alimentadas con una dieta contaminada con diferentes micotoxinas (DON, fumomisina B_1, zeralenona, ocratoxina A, AFB_1 y T-2) encontraron que el consumo de alimento se mantenía a dosis de 30 y 45 g por día de la mezcla remediadora y se observaba que el peso final disminuía ligeramente con la dosis más alta (45 g de la mezcla remediadora por día), pero no de manera significativa, al igual que el presente estudio.

La tendencia observada en la disminución de la tasa de crecimiento de los camarones conforme se aumenta la inclusión del MZ3 puede deberse a lo mencionado por Ramos y Hernández (1997), quienes sugieren que el uso de aluminosilicatos u otros compuestos absorbentes usados para el control de las micotoxinas pueden secuestrar nutrientes, tales como vitaminas o minerales, los cuales son de suma importancia para el crecimiento del organismo. Por otro lado el efecto sinérgico o antagónico otorgado por la harina de alga en el presente estudio no es muy claro, por lo tanto, estudios futuros en los cuales se determinen factores como las actividades antioxidantes en el camarón o el efecto protector del alimento serán útiles para determinar la factibilidad del uso de la harina de alga en combinación con los secuestrantes.

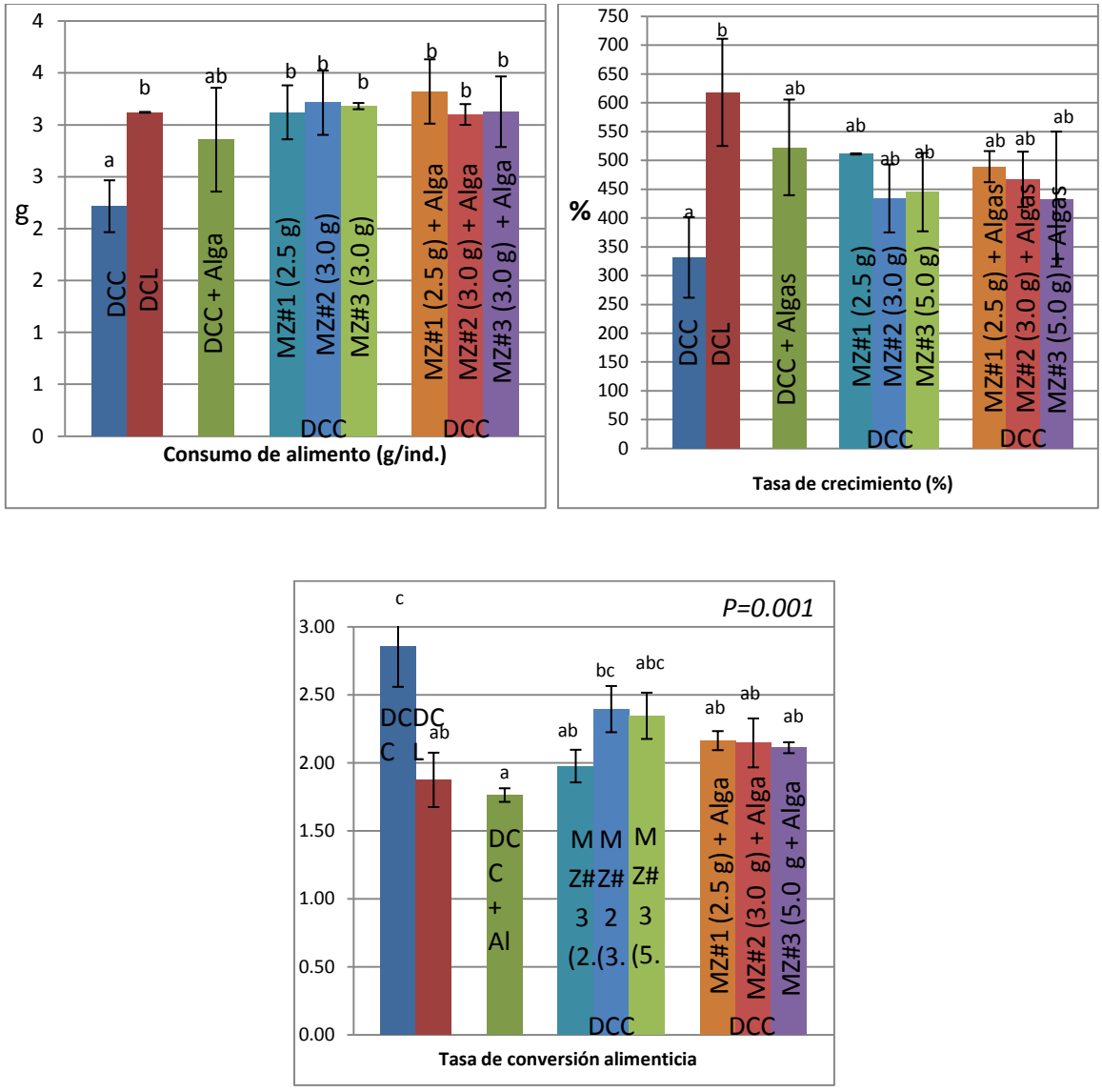


Figura 8. Parámetros zootécnicos de los camarones alimentados con las diferentes dietas experimentales con la MZ#3 solo o en combinación con la harina de alga *U. clathrata*.

Conclusiones

1) La inclusión de secuestrantes de aflatoxinas en alimentos para camarón modifica los parámetros de calidad del pellet, de manera general reduce la perdida de materia seca e incrementa la absorción de agua.
2) La presencia de aflatoxinas provenientes de granos contaminados por hongos reduce el rendimiento de juveniles de camarón blanco *L. vannamei*.

García *et al*. 2013. Avances en el Uso de Aditivos Remediadores de Aflatoxinas en Alimento para Camarón Blanco *Litopenaeus vannamei* En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Alvarez-González, C. (Eds), Contribuciones Recientes en Alimentación y Nutrición Acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 191-223.

3) La inclusión de los productos secuestrantes de aflatoxinas a las dietas sin contaminar reduce algunos de los parámetros de rendimiento de juveniles de camarón blanco *L. vannamei*.
4) Algunos de los productos evaluados reducen algunos de los efectos negativos causados por la presencia de aflatoxinas tales como el consumo de alimento y ganancia en peso.
5) Se evaluaron los efectos en los parámetros de rendimiento del camarón blanco *L. vannamei* provocados por la inclusión de productos comerciales como mezclas de arcillas con otros productos en dietas para camarón.
6) La inclusión de 2.5 g/kg del producto MZ3 redujo la aflatoxicosis en camarón y niveles superiores tienden a reducir la ganancia en peso.

Bibliografía

Abd El-Baky H H, El-Baz F K, El-Baroty G S. 2008. Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. International Journal of Food Science & Technology 44(9): 1688-1695.

Abdel-Wahhab MA, Ahmed HH, Hagazi MM. 2006. Prevention of aflatoxin B1-initiated hepatotoxicity in rat by marine algae extracts. Journal of Applied Toxicology, 26(3), 229-238. doi: 10.1002/jat.1127.

Arana S, Dagli MLZ, Sabino M, Tabata YA, Rigolino MG, Hernandez-Blazquez, FJ. 2011. Evaluation of the efficacy of hydrated sodium aluminosilicate in the prevention of aflatoxin-induced hepatic cancer in rainbow trout. Pesquisa Veterinária Brasileira, 31, 751-755.

Arce MJ, Avila GE, López CC, García EA, García GF. 2005. Efecto de paredes celulares (*Sacharomyces cerevisiae*) en el alimento de pollo de engorda sobre los parámetros productivos. Tec Pecu Mex; 43:155-162.

Barrer RM. 1989. Shape-selective sorbents based on clay minerals; a review. Clays and Clay Minerals, 37(5), 385-395.

Basmacioglu H, Oguz H, Ergul M, Col R, Birdane YO. 2005. Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. Czech Journal of Animal Science, 50, 31-39.

Bata Á, Lásztity R 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Trends in Food Science & Technology, 10(6–7), 223-228. doi: 10.1016/S0924-2244(99)00050-3.

Battacone G, Carboni GA, Nicolussi P, Ligios C, Pulina G. 2007. Use of a glucomannan polymer to reduce the effects of mycotoxin-contaminated diets in finishing pigs. pp. 673-675.

Battacone G, Nudda A, Palomba M, Mazzette A, Pulina G. 2009. The transfer of aflatoxin M1 in milk of ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. Journal of Dairy Science, 92, 4997-5004.

Bautista MN, Lavillapitogo CR, Subosa PF, Begino ET. 1994. Aflatoxin B-1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopancreas of pre-adult *Penaeus-monodon*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 65(1), 5-11. doi: 10.1002/jsfa.2740650103

Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews, 16(3), 497- 516. doi: 10.1128/cmr.16.3.497-516.2003

Bintvihok A, Kositcharoenkul S. 2003. Aflatoxin B1 and its metabolites residues in tissues and fecal excretion levels of aflatoxin B1 and its metabolites of ducklings given feed containing aflatoxin and esterified glucomannan. Bangkok, Thai Veterinary Medical Association: P104-P105

Boonyaratpalin M, Supamattaya K, Verakunpiriya V, Suprasert D. 2001. Effects of aflatoxin B[sub 1] on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Aquaculture Research, 32, 388-398.

Chen X, Lin H-Z, Jiang S-G, Wu K-C, Liu Y-J, Tian L-X, Niu J. 2013. Dietary supplementation of honeysuckle improves the growth, survival and immunity of Penaeus monodon. Fish & Shellfish Immunology, 35(1), 161-169. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.04.020

Cruz-Suárez L E, León A, Peña-Rodríguez A, Rodríguez-Peña G, Moll B, Ricque-Marie D. 2010. Shrimp/Ulva co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. Aquaculture 301(1-4):64-68.

de los Santos FS, Donoghue AM, Farnell BM, Huff GR, Huff WE, Donoghue DJ. 2007. Gastrointestinal Maturation is Accelerated in Turkey Poults Supplemented with a Mannan-Oligosaccharide Yeast Extract (Alphamune). Poultry Science 86(5): 921-930.

Denli M, Okan F, Doran F, Inal T C. 2005. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on carcass quality, serum lipid variables and histopathological changes of broiler chickens infected with aflatoxin B-1. South African Journal of Animal Science, 35(2), 109-116.

Denli M, Okan F, Doran F. 2004. Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on the performance and serum variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxin B-1. South African Journal of Animal Science, 34, 97-103.

Denli M, Okan F. 2006. Efficacy of different adsorbents in reducing the toxic effects of aflatoxin B1 in broiler diets. South African Journal of Animal Science, 36, 222-228.

Devegowda G, Raju MVLN, Afzali N Swamy HVLN. 1998. Mycotoxin picture world wide: Novel solutions for their counteraction, in: LYONS, T.P. & JACQUES, K.A. (Eds) Biotechnology in the Feed Industry, pp. 241–255 (Kentucky, Alltech Inc.).

Diaz DE, Hagler WM, Blackwelder JT, Eve JA, Hopkins BA, Anderson KL, Jones FT, Whitlow LW. 2004. Aflatoxin Binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. Mycopathologia, 157, 233-241.

Diaz DE, Hagler WM, Hopkins BA, Whitlow LW. 2003. Aflatoxin binders I: In vitro binding assay for aflatoxin B1 by several potential sequestering agents. Mycopathologia 156(3): 223-226

Edrington TS, Kubena LF, Harvey RB, Rottinghaus GE. 1997. Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. Poultry Science, 76(9), 1205-1211.

Ellis RW, Clements M, Tibbetts A, Winfree R. 2000. Reduction of the bioavailability of 20 mu g/kg aflatoxin in trout feed containing clay. Aquaculture, 183, 179-188.

Eya JC, Parsons A, Haile I, Jagidi P. 2008. Effects of dietary zeolites (bentonite and mordenite) on the performance of juvenile rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. Aust. J. Bas. Appl. Sci. 2: 961–967.

García-Casal MN, Ramírez J, Leets I, Pereira AC, Quiroga MF. 2009. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. British Journal of Nutrition, 101(01), 79-85.

Gargees MT, Shareef AM. 2009. Reducing liver aflatoxin M1 residues in chicks with mycofix plus 3.0 during aflatoxicosis. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 23(3), 37-44.

Gopinath R, Raj RP. 2009. Histological alterations in the hepatopancreas of Penaeus monodon Fabricius (1798) given aflatoxin B-1-incorporated diets. Aquaculture Research, 40(11), 1235-1242. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02207.x

Gowda NKS, Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ, Chent YC. 2008. Efficacy of Turmeric (*Curcuma longa*), Containing a Known Level of Curcumin, and a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Ameliorate the Adverse Effects of Aflatoxin in Broiler Chicks. Poultry Science, 87(6), 1125-1130. doi: 10.3382/ps.2007-00313.

Gundidza M. Antifungal activity of essential oil from Artemisia. (1993). Afra. Jacq. Cent. Afr. J. Med; 39: 140–142.

Ha YL, Storkson J, Pariza MW. 1990. Inhibition of Benzo(a)pyrene-induced Mouse Forestomach Neoplasia by Conjugated Dienoic Derivatives of Linoleic Acid. Cancer Research 50(4): 1097-1101.

Ha YL, Storkson J, Pariza MW. 1990. Inhibition of Benzo(a)pyrene-induced Mouse Forestomach Neoplasia by Conjugated Dienoic Derivatives of Linoleic Acid. Cancer Research 50(4): 1097-1101.

Hashim R, Mat-Saat NA, 1992. The utilization of seaweed meals as binding agents in pellet feeds for snakehead (*Channa striatus*) fry and their effects on growth. Aquaculture, 108, 299– 308.

Hassan AM, Kenawy AM, Abbas TW Abdel-Wahhab MA 2010. Prevention of cytogenetic, histochemical and biochemical alterations in *Oreochromis niloticus* by dietary supplement of sorbent materials. Ecotoxicology and Environmental Safety 73(8): 1890-1895.

Ip C, Scimeca JA, Thompson H. 1995. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. Nutrition and Cancer 24(3): 241-247.

Ji S-C, Takaoka O, Jeong G-S, Lee S-W, Ishimaru K, Seoka M, Takii K. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream Pagrus major. Fisheries Science, 73(1), 63-69. doi: 10.1111/j.1444-2906.2007.01302.x

Josephs RD, Ulberth F, Van Egmond HP, Emons H. 2005. Aflatoxin M1 in milk powders: Processing, homogeneity and stability testing of certified reference materials. Food Additives & Contaminants, 22, 864-874.

Kamalzadeh A, Hosseini A, Moradi S. 2009. Effects of yeast glucomannan on performance of broiler chickens. Int. J. Agr. Biol, 11, 49-53.

Kang K, Park Y, Hwang H, Kim S, Lee J, Shin HC. 2003. Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. Archives of Pharmacal Research 26(4): 286-293.

Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS. 1993. Antioxidative effectiveness of ether extract in Crataegus pinnatifida Bunge and Terminalia chebula Rets. J. Korean Agric. Chem. Soc; 36: 154–157.

Kiyothong K, Rowlinson P, Wanapat M, Khampa S. 2012. Effect of mycotoxin deactivator product supplementation on dairy cows. Animal Production Science, 52(9), 832-841.

Kuilman MEM, Maas RFM, Fink-Gremmels J. 2000. Cytochrome P450-mediated metabolism and cytotoxicity of aflatoxin B1 in bovine hepatocytes. Toxicology in Vitro, 14, 321-327.

Lacey J. 1989. Pre and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 11S–25S.

Lillehoj EB, Cleveland TE, Bhatnagar D. 1991. Mycotoxins in feedstuffs: production in novel substrates. In: J. E. Smith and R. S. Henderson (Ed.) Mycotoxins in Animal Foods. pp 399-413. CRC Press, Boca Raton, FL.

Lopes PRS, Pouey J, Enke DBS, Mallmann CA, Kich HA, Soquetta MB. 2009. Use of adsorbent in diets containing aflatoxin for silver catfish fingerlings. Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science, 38(4), 589-595.

Macháček M, Večerek V, Mas N, Suchý P, Straková E, Šerman V, Herzig I. 2010. Effect of the Feed Additive Clinoptilolite (ZeoFeed) on Nutrient Metabolism and Production Performance of Laying Hens. Acta Veterinaria Brno, 79(9), 29-34.

Madhusudhanan N, Kavithalakshmi SN, Shanmugasundaram ERB, Shanmugasundaram KR. 2006. Aflatoxin B1-Induced DNA Damage in Labeo rohita: Protective Effect of an Antioxidant Supplement, Amrita Bindu. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 98(5), 473-479.

Makol A, Torrecillas S, Fernández-Vaquero A, Robaina L, Montero D, Caballero MJ, Izquierdo M. 2009. Effect of conjugated linoleic acid on dietary lipids utilization, liver morphology and selected immune parameters in sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 154(2), 179-187. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2009.06.001

Manoharan N, Sampathkumar S, Dheeba B, Sheikabdulla S, Vinothprasanna G, Vinothkannan R, Shanmugasundaram A. 2008. Potential Hepatoprotective Effect of Aqueous Extract of *Gracilaria corticata* in AFB1 Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats. Journal of Biological Sciences, 8(8), 1352-1355.

Mumpton FA, Fishman PH. 1977. The Application of Natural Zeolites in Animal Science and Aquaculture. Journal of Animal Science, 45(5), 1188-1203.

Mumpton FA. 1999. La roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(7), 3463-3470.

Nešić V, Radmila R, Marinković D, Ksenija N, Lazarević M, Nešić S, Sanja A-K. 2012. Efficacy of t-2 toxin detoxifying agent in broiler chickens. EFIKASNOST DETOKSIKUJUĆEG AGENSA KOD T-2 TOKSIKOZE BROJLERA. 62(2/3): 171-182.

Nguyen ML, Tanner CC. 1998. Ammonium removal from wastewaters using natural New Zealand zeolites. N. Z. J. Agric. Res. 41: 427-446.

Nguyen QT, Ogle B, Pettersson H. 2008. Efficacy of bentonite clay in ameliorating aflatoxicosis in piglets fed aflatoxin contaminated diets. Tropical Animal Health and Production, 40, 649-656.

Nieto-López M, Tapia-Salazar M, Ricque-Marie D, Villarreal-Cavazos D, Lemme A, Cruz-Suárez LE. 2011. Digestibility of different wheat products in White shrimp Litopenaeus vannamei juveniles. Aquaculture 319: 369–376.

Pariza M, Ha Y. 1990. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: A new class of anticarcinogens. Medical Oncology and Tumor Pharmacotherapy 7(2-3): 169-171.

Parlat SS, özcan M, Oguz H. 2001. Biological suppression of aflatoxicosis in Japanese quail (Coturnix coturnix japonica) by dietary addition of yeast (Saccharomyces cerevisiae). Research in Veterinary Science 71(3): 207-211.

Peña Rodríguez A. 2011. Uso potencial de la macroalga verde Ulva clathrata en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* [por] Alberto Peña Rodríguez (Doctoral dissertation, UANL).

Peñaflorida VD, Golez NV. 1996. Use of seaweed meals from *Kappaphycus alvarezii* and *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*. 143:393-401.

Pfost HB, Young LR. 1973. Effect of colloidal binders and other factors on pelleting. Feedstuffs 45: 21–22.

Piva G, Galvano F, Pietri A, Piva A. 1995. Detoxification methods of aflatoxins. A review. Nutrition Research, 15(5), 767-776. doi: 10.1016/0271-5317(95)00042-h

Raju MV, Devegowda G. 2000. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). British Poultry Science, 41, 640-650.

Ramos AJ, Hernández E. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by Means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. Animal Feed Science and Technology, 65(1–4), 197-206. doi: 10.1016/s0377-8401(96)01084-x

Rangsaz N, Ahangaran MG. 2011. Evaluation of turmeric extract on performance indices impressed by induced aflatoxicosis in broiler chickens. Toxicology & Industrial Health, 27(10), 956-960. doi: 10.1177/0748233711401262.

Ricque-Marie D, Peña-Rodríguez A, Tapia-Salazar M, Nieto Lopez MG, Villarreal-Cavazos D, Guajardo-Barbosa C, Cruz Suarez LE, Locateli ML. 2006. Effect of pré-prandial nutrient leaching in seawater and different binders on apparent amino acid digestibility coefficients of a practical diet in *Litopenaeus vannamaei* juveniles. International Aquafeed 9(5), 32-33.

Rustom IYS. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. Food chemistry, 59(1), 57-67.

Sahu S, Das BK, Mishra BK, Pradhan J, Samal SK, Sarangi N. 2008. Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture Research, 39(16), 1720-1730. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02048.x

Santin E, Paulillo AC, Krabbe EL, Alessi AC, Polveiro WJC, Maiorka A. 2005. Low level of aflatoxin in broiler at experimental conditions. Use of cell wall yeast as adsorbent of aflatoxin: Archives of Veterinary Science.

Soonngam CAL, Hutacharoen R. 2007. Vermiculite and hydrated sodium calcium aluminosilicates as the agent of aflatoxin B1 absorption for black tiger shrimp diets. Environ. Nat. Resour. J. 5: 50–58.

Staykov Y, Spring P, Denev S, Sweetman J. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International 15(2): 153-161

Suppadit T, Jaturasitha S, Pripwai N. 2006. Utilization of hydrated sodium calcium aluminosilicate and vermiculite for aflatoxin B-1 adsorption in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) diets. Journal of Applied Animal Research, 29(2), 129-132.

Suresh AV, Kumaraguru-vasagam KP, Nates S. 2011. Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris*, fed diets formulated with high levels of poultry byproduct meal. Aquaculture 319: 132–140. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.039

Swanson BG. 1987. Acta Horticulturae 207: 49-61.

Tapia-Salazar M, García-Pérez OD, Velásquez-Soto RA, Nieto-López MG, Villarreal-Cavazos D, Ricque-Marie D, Cruz-Suárez LE. 2012. Growth, feed intake, survival, and histological response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed diets containing grains naturally contaminated with aflatoxin. Cienc. Mar. 38: 491–504.

Thammakiti S, Suphantharika M, Phaesuwan T, Verduyn C. 2004. Preparation of spent brewer's yeast β-glucans for potential applications in the food industry. International Journal of Food Science & Technology 39(1): 21-29

Thomas M, van Vliet T, van der Poel AFB. 1998. Physical quality of pelleted animal feed 3: Contribution of feedstuff components. Anim. Feed Sci. Tech. 70: 59–78.

Torrecillas S, Makol A, Caballero MJ, Montero D, Robaina L, Real F, Sweetman J, Tort L, Izquierdo MS. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish & Shellfish Immunology 23(5): 969-981.

Valente LMP, Bandarra NM, Figueiredo-Silva AC, Rema P, Vaz-Pires P, Martins S, Nunes ML. 2007. Conjugated linoleic acid in diets for large-size rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): effects on growth, chemical composition and sensory attributes. British Journal of Nutrition, 97(2), 289-297. doi: 10.1017/s000711450733729x

Vaught R, Brye KR, Miller DM. 2006. Relationships among coefficient of linear extensibility and clay fractions in expansive, stoney soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 70: 1983–1990.

Widstrom NW. 1992. Aflatoxin in developing maize: interactions among involved biota and pertinent econiche factors. pp. 23-58 en: Mycotoxins in Ecological Systems. Bhatnagar D et al., editores. Marcel Dekker, New York.

Williams DE, Buhler DR. 1983. Purified form of cytochrome-p-450 from rainbow-trout with high-activity toward conversion of aflatoxin-b1 to aflatoxin-B1-2,3-epoxide. Cancer Research, 43, 4752-4756.

Wiseman MO, Price RL, Lightner DV, Williams RR. 1982. Toxicity of Aflatoxin B1 to Penaeid Shrimp. Applied & Environmental Microbiology, 44(6), 1479.

Wolzak A, Pearson AM, Coleman TH, Pestka JJ, Gray JI, Chen C. 1986. Aflatoxin carryover and clearance from tissues of laying hens. Food and Chemical Toxicology, 24, 37-41.

Wolzak A, Pearson AM, Coleman TH, Pestka JJ, Gray JI. 1985. Aflatoxin deposition and clearance in the eggs of laying hens. Food and Chemical Toxicology, 23, 1057-1061.

Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, Economou M, Fotsis T, Roussos C. 2001. Luteolin Inhibits an Endotoxin-Stimulated Phosphorylation Cascade and Proinflammatory Cytokine Production in Macrophages. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 296(1), 181-187.

Zechner-Krpan V, Petravić-Tominac V, Panjkota-Krbavčić I, Grba S, Berković K. 2009. Potential Application of Yeast β-Glucans in Food Industry. Agriculturae Conspectus Scientifi cus. Vol. 74 277-282.