

Veterinaria México

Volumen 35
Volume

Número 4
Number

Octubre-Diciembre 2004
October-December

Artículo:

Capacidad de adsorción *in vitro* de ocratoxina A de secuestrantes de micotoxinas comercializados en México

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)

Capacidad de adsorción *in vitro* de ocratoxina A de secuestrantes de micotoxinas comercializados en México*

In vitro binding ability of ochratoxin A by commercial mycotoxin binders available in Mexico

Arturo Ricardo García Morales*,**

René Rosiles Martínez**

Janitzio Bautista Ordóñez**

Ernesto Ávila González***

Abstract

Ten mexican mycotoxin sorbents were assessed for their ability to bind ochratoxin A (OA) under *in vitro* conditions; as well as efficacy of ochratoxin A extractive methodology. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to quantify free OA. pH was also measured. From aluminosilicates previously digested with hydrofluoric acid, calcium, sodium, potassium, aluminum and silicon were measured by atomic absorption spectroscopy. Results showed that most binders had an activity from 0% to 84%, under *in vitro* conditions. However it is not related to pH value. Aluminosilicates had low calcium, sodium and potassium concentration, whereas silicon concentration varied from 20% to 37% and aluminum from 3.1% to 6.1%. The ratio between aluminium and silicon content is from 1:3.5 to 1:7.4. A negative correlation index ($r = -0.27$), between aluminum/silicon relationship to binding capacity, was observed.

Key words: ALUMINOSILICATES, BINDERS, OCHRATOXIN A, *IN VITRO*, EXTRACTION ASSAYS.

Resumen

Se evaluó la capacidad adsorptiva de diez secuestrantes mexicanos de ocratoxina A por la identificación de la toxina libre (no secuestrada) por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Se ensayaron tres modificaciones del método de extracción de la ocratoxina A. Se midió el pH para conocer alguna relación con la capacidad de secuestro *in vitro*. En los aluminosilicatos previamente digeridos con ácido fluorhídrico se midió el calcio, sodio, potasio, aluminio y silicio por espectroscopia de absorción atómica. Los resultados mostraron que la mayor parte de los productos evaluados secuestran OA *in vitro* entre 0% y 84%, y que no parece haber relación con el pH. Los aluminosilicatos tienen un bajo contenido de calcio, sodio, y potasio. Los valores de aluminio varían entre 3.1% y 6.1% y los del silicio entre 20% y 37%. La relación del contenido de aluminio con el silicio es de 1:3.5 al 1:7.4. Se observó una correlación negativa ($r = -0.27$) entre la capacidad de secuestro con la relación del aluminio y silicio.

Palabras clave: ALUMINOSILICATOS, SECUESTRANTES, OCRATOXINA A, *IN VITRO*, ENSAYOS DE EXTRACCIÓN.

Recibido el 30 de noviembre de 2003 y aceptado el 25 de mayo de 2004.

*Los resultados presentados aquí forman parte de la tesis de maestría del primer autor.

**Laboratorio de Toxicología, Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

***Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Salvador Díaz Mirón s/n, Col. Zapotitlán, México, D.F.

Introduction

Mycotoxins are toxic compounds from fungi growth in grains and other raw materials for foods. Aflatoxins, trichotecens and ochratoxin A (OA) are some of the most important.¹ The latter is particularly toxic for young birds, leading to a decrease in weight gain, immune depression and poor pigmentation.^{1,2} Mycotoxin binders is one way to control mycotoxins in feed. These binders are basically aluminum and silicon clay in combination with other minerals in a tridimensional structure resulting in a wide contact surface and porosity.^{3,4} Recently, new products based on yeast cell walls are available in the market.⁵ These products are widely used in feed industry, especially for birds.^{6,7} Their efficiency in mycotoxin binding has been tested *in vitro* and *in vivo* studies only with aflatoxins.^{8,9} Other products are available in the market because of the need to control other mycotoxins, such as OA. Quality control is needed for greater efficiency.⁶ *In vitro* studies with such products are used in order to simulate conditions found in side birds, such as pH of the environment and contact time between the binder and the mycotoxin. Such evaluation does not necessarily mean that the product will behave the same way under field conditions. However it is the most common method of evaluation by binder manufacturers and often the only one used before the product is in the market. In addition, the mineral content in these clays is quite variable,³ so it is very difficult to get standard conditions even though these products are chemically modified in the laboratory.^{6,7}

The objective of this study was to identify the basic composition of mycotoxin binders as well as their OA binding ability. Three extraction methods were tested. Free OA left over was measured by high performance liquid chromatography once challenge binder capacity had been conducted.

Material and methods

Nine aluminosilicates and one cell wall product samples were prepared to determine aluminum, silicon, calcium, sodium and potassium content as follows: a known amount of binders was digested in hydrofluoric acid at hydrochloric 75°C for two hours. Additional 10 ml of acid were added and digestion continued for one more hour. The samples were filtered and brought to a known volume with bi-distilled water. Calcium and aluminum were measured by atomic absorption spectroscopy using the corresponding lamp and air-acetylene flame for calcium, and acetylene-nitrous oxide for aluminum. Sodium, potassium and

Introducción

Las micotoxinas son compuestos tóxicos derivados del crecimiento de hongos en el grano y otras materias primas destinadas a la alimentación. Entre las más importantes se encuentran las aflatoxinas, los tricotecenos y la ocratoxina A (OA).¹ Esta última resulta particularmente tóxica para las aves jóvenes, en las cuales produce disminución de la ganancia de peso, inmunosupresión y mala pigmentación.^{1,2} Como una herramienta para combatir a las micotoxinas en los alimentos para animales se recurre al uso de secuestrantes de micotoxinas. Éstos consisten básicamente en arcillas de aluminio y silicio combinados con otros minerales en arreglos tridimensionales. Este arreglo forma estructuras con amplia superficie de contacto y porosidad, denominadas aluminosilicatos.^{3,4} Recientemente, nuevos productos a base de paredes celulares de levaduras han surgido en el mercado.⁵ Ambos productos se utilizan ampliamente en la industria de los alimentos balanceados para animales y en especial para aves.^{6,7} Su eficiencia en el secuestro de micotoxinas ha sido comprobada solamente en el caso de aflatoxinas en estudios *in vitro* e *in vivo*.^{8,9} Con la necesidad del secuestro de otras micotoxinas, como OA, diversos productos han surgido en el mercado; en esta tesitura, se hace necesario un control de calidad,⁶ por la falta de eficiencia comprobada. La evaluación *in vitro* de tales productos busca simular las condiciones encontradas en el ave, tales como pH del medio y el tiempo de contacto entre secuestrante y micotoxina. Sin embargo, tal evaluación no refleja el comportamiento del producto en condiciones de campo. No obstante, es el tipo de evaluación más frecuentemente utilizada por los fabricantes de secuestrantes, y en muchos casos, el único sistema de evaluación con que estos productos cuentan antes de salir a la venta. Aunado a esto, el contenido mineral de estas arcillas es muy variable,³ por lo que es muy difícil obtener condiciones estándar aun cuando estos productos sean modificados químicamente en laboratorio.^{6,7}

El objetivo de la presente investigación es identificar la composición elemental de los secuestrantes de micotoxinas, así como su capacidad de secuestro por la OA libre y extracción de ésta con tres metodologías. La cantidad de OA libre se midió por cromatografía de líquidos de alta resolución.

Material y métodos

La preparación de la muestra de nueve aluminosilicatos y un producto de paredes celulares para conocer el contenido de aluminio, silicio, calcio, sodio

silicon were measured by atomic emission using air-acetylene flame for the first two and acetylene-nitrous oxide for silicon,¹⁰ under the manufacturer operation conditions.

For the *in vitro* assays 500 mg of the binders were added plus 20 ml of a 0.2% pepsin A solution (1: 10 000 activity) in hydrochloric acid 0.075 N (method to determine protein digestibility in pepsin, AOAC 971.09 11) and 2 g of standard OA (SIGMA ®) in a propylene tube. A tube without binders was used as control to measure OA non binder derived losses. Using a similar procedure, binders were challenged with 250 mg of 5 ppm of OA contaminated wheat.

Mixtures were incubated at 37°C for 3 h under dark conditions and constant shaking. After this time, the pepsin solution was filtered and the free (non bound) OA was extracted by three different methods: Stoloff¹² method (essay II), the Nesheim method for HPLC¹³ (essay III), and the Nesheim¹³ method without sample filtration (essay IV). Sample extracts were injected in a high performance liquid chromatographer with automated sampler and with a fluorescence detector Perkin Elmer®; at 333 nm excitation and 460 nm emission wavelength; using a mobile phase flow of 1 ml/min. Special software was used to calculate the area under the curve for each chromatogram. A simple lineal regression curve was used to calculate the concentrations using three OA known amounts. Sample weight and volume were considered to estimate the final concentration. To calculate the binding rate: the free amount detected plus the amount lost during extraction were restored from the added one. The amount recovered in the non binder essay was considered 0% binding and the difference from the amount recovered from the binder was the binding rate.

Binder pH was measured in a constantly shaken distilled water suspension using a potentiometer. Since the *in vitro* adsorption results did not meet the requirements for a parametric statistical analysis, the non parametric Friedman test was used, considering the adsorption test in block, with a $\alpha = 0.05$ statistical significance.

Results

All aluminosilicates included in this study showed an alkaline pH, whereas the yeast cell wall binder had an acid pH (Table 1). Concerning mineral content, calcium was low, ranging from 0.02% to 0.56% (Table 1), but silicon was high, which in fact is the most abundant mineral in these products. Zeotek had the lowest Ca value, whereas the highest was found in aflatox. Comalit had the highest sodium concentration (3.66%) and Mycoad the lowest (0.4054%). Mycoad

y potasio fue como sigue: Se digirió una cantidad conocida en ácido fluorhídrico al calor del baño María a 75°C por dos h. Posteriormente se adicionaron 10 ml de ácido clorhídrico y se continuó la digestión durante 1 h más. Las muestras fueron filtradas y aforadas con agua bidestilada a un volumen conocido. La medición de calcio y aluminio se realizó por espectroscopia de absorción atómica utilizando la lámpara correspondiente y flama de aire-acetileno para calcio y acetileno-óxido nitroso para aluminio. El sodio, potasio y silicio se midieron por emisión atómica, utilizando flama aire-acetileno para los dos primeros y acetileno-óxido nitroso para el silicio,¹⁰ bajo las condiciones de operación del fabricante del equipo.

Para los ensayos de secuestro *in vitro*, en un tubo de polipropileno se adicionaron 500 mg de secuestrante más 20 ml de una solución de pepsina A 0.2% (actividad 1:10 000) en ácido clorhídrico 0.075 N (solución para determinación de digestibilidad de la proteína en pepsina, método AOAC 971.0911) y 2 g de estándar de OA (SIGMA ®). Se utilizó un tubo sin secuestrante como testigo para conocer la pérdida de OA por efecto no derivado del secuestrante. Mediante un procedimiento similar, los secuestrantes fueron confrontados con 250 mg de trigo contaminado con 5 ppm de OA.

Las mezclas fueron incubadas en baño María a 37°C durante tres h en oscuridad y con agitación constante. Al término de este tiempo, la solución de pepsina fue filtrada, y a partir de ella se realizó la extracción de OA libre (no secuestrada) siguiendo tres diferentes metodologías: La metodología recomendada por Stoloff¹² (ensayo II), la metodología descrita por Nesheim para HPLC¹³ (ensayo III), y la misma metodología de Nesheim¹³ sin filtración de la muestra (ensayo IV). Para la cuantificación de la OA, los extractos de las muestras fueron inyectadas a un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con automuestreador y detector de fluorescencia Perkin Elmer®: longitud de onda de excitación: 333 nm; de emisión: 460 nm; flujo de la fase móvil: 1 ml/min. El cálculo de la concentración del área bajo la curva para cada cromatograma fue realizado por medio de un software especializado. Los cálculos de concentraciones fueron realizados mediante la curva de regresión lineal simple, con tres concentraciones conocidas de OA. Para el calculo de la concentración final se consideró: Peso de las muestras y volúmenes de aforo. Para el cálculo del porcentaje de secuestro se le restó la cantidad libre a la adicionada y se le sumó la cantidad perdida por el manejo de la muestra durante la extracción. La cantidad recuperada en el ensayo sin secuestrante se consideró como 0% de secuestro, y las diferencias con la recuperación con cada adsorbente el porcentaje de secuestro.

is the aluminosilicate with the highest silicon value (Figure 1).

The OA adsorption rate was widely variable depending on the extraction method and the type of product, ranging from zero to 98.36% (Table 2). In essay I the results were very variable, since in some cases the free OA concentration was greater in the binder than in controls (without binder) (Table 3). Therefore, it was not possible to compare the concentrations obtained in the different essays. In essays II to IV Zeotek proved to be the most consistent binder for OA, with the highest mean binding rate *in vitro*. Figure 2 shows the chromatography of some essays.

Discussion

Statistical analysis with Friedman test did not show significant evidence that OA adsorption was different among binders. The differences were only numerical and in most cases inconsistent with the manufacturers' claims. On the other hand, due to the variability of the results obtained with the different extraction methods the reliability of the *in vitro* assay as an evaluation method is questionable, which is in agreement with Osuna⁷ about *in vitro* tests. It is important to consider the use of a negative control with the same contact solution and mycotoxin, but without binder, which must be processed and quantified as any sample.

Para la medición del pH los secuestrantes se suspendieron en agua bidestilada y mantenidos en agitación constante mientras se les determinó el pH con un potenciómetro.

Los resultados de adsorción *in vitro*, dado que no se cumplieron los supuestos necesarios para realizar una prueba estadística paramétrica, fueron analizados utilizando una prueba de estadística no paramétrica de Friedman, considerando el ensayo de adsorción como bloque, con una significancia de $\alpha = 0.05$.

Resultados

Todos los aluminosilicatos mostraron un pH alcalino, mientras que el producto a base de paredes celulares de levaduras mostró un pH ácido (Cuadro 1). En cuanto al contenido de minerales, se observó un bajo contenido de calcio, variando desde 0.02% a 0.56% (Cuadro 1), pero un alto contenido de silicio, que es, de hecho, el mineral más abundante en estos productos. Zeotek presenta el valor más bajo de Ca, mientras el más alto es aflatox. Comalit presenta la concentración de sodio más alta (3.66%) y Mycoad el más bajo (0.4054%). Mycoad es el aluminosilicato con el valor de silicio más elevado (Figura 1).

El porcentaje de adsorción de OA resultó ampliamente variable según el método de extracción y el tipo de producto. Los porcentajes varían desde cero hasta 98.36 (Cuadro 2) En el ensayo I, los

Cuadro 1
pH, CALCIO, SODIO, POTASIO, ALUMINIO, SILICIO, RELACIÓN Al/Si Y CAPACIDAD ADSORTIVA (% Ads) DE ALUMINIOSILICATOS COMERCIALES SOBRE OCRATOXINA A

pH, CALCIUM, SODIUM, POTASSIUM, ALUMINIUM, SILICON, Al/Si RATIO AND OCHRATOXIN A BINDING ABILITY (% Abs) OF COMMERCIAL ALUMINOSILICATES

<i>Product</i>	<i>pH</i>	<i>Ca</i>	<i>Na</i>	<i>K</i>	<i>Al</i>	<i>Si</i>	<i>Al/Si</i>	<i>% Ads</i>
Promisil	9.6	0.15	0.60	0.27	4.70	26.86	1/5.7	27.5
Zeotek	8.3	0.02	0.54	0.74	5.81	20.87	1/3.5	84.9
Mycoad	8.4	0.07	0.41	0.81	5.81	37.76	1/6.5	61.9
Klin sil	9.6	0.37	0.52	1.05	3.10	24.75	1/7.9	46.3
Neosil	9	0.48	0.42	1.62	3.75	23.03	1/6.3	22.6
Trisox	9.3	0.30	0.83	0.69	4.97	25.77	1/5.2	0.3
Trisox II	8	0.08	1.09	0.74	4.54	33.76	1/7.4	31.5
Aflatox	8.2	0.56	0.54	1.82	5.08	31.66	1/6.3	31.2
Comalit	8.5	0.02	3.64	3.66	6.10	37.25	1/6	21.4
Mycosorb	5.6	-	-	-	-	-	-	61.9

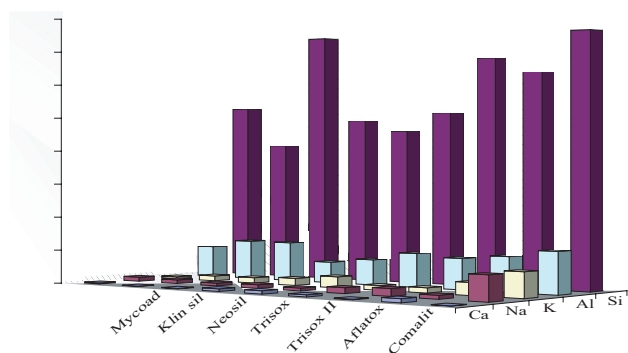


Figura 1. Calcio, sodio, potasio, aluminio y silicio en aluminosilicatos comerciales.

Calcium, sodium, potassium, aluminum and silicon concentration in commercial aluminosilicates.

Thus, the amount of the recovered toxin in the control will be considered as 100% mycotoxin and used as a starting point from which all binder calculations should be made. Otherwise, the mycotoxin lost during the extraction will be considered as bound mycotoxin, giving a false result.

The binder that numerically had the greatest OA binding ability was Zeotek, which is widely recommended by the manufacturers, and in accordance with this study, at least for *in vitro* conditions. The rest of the binders, including the

resultados son ampliamente variables, dado que en algunos casos la concentración de OA no secuestrada por el adsorbente fue mayor que en el control mismo (sin secuestrante) (Cuadro 3). No es posible, por tanto, establecer comparación entre las concentraciones obtenidas en los diferentes casos. El secuestrante que se mantiene constante en el secuestro de OA en los ensayos II a IV es Zeotek, siendo en promedio el de mayor secuestro *in vitro* (Figura 2).

Discusión

Mediante la prueba de Friedman, no se encontró evidencia estadísticamente significativa de que la adsorción de OA por parte de alguno de los secuestrantes sea diferente. Esta diferencia resultó únicamente numérica, y en la mayoría de los casos no coincide con lo mencionado para cada secuestrante por parte de sus fabricantes. Por otra parte, dada la variabilidad de los resultados obtenidos por diferentes métodos extracción de la muestra, la confiabilidad del ensayo *in vitro* como método de evaluación de un secuestrante es cuestionable, lo cual coincide con lo mencionado por Osuna⁷ respecto de las pruebas *in vitro*. Es importante considerar el uso de un testigo negativo, conteniendo la misma solución de contacto y micotoxina, pero sin secuestrante, que debe ser

Cuadro 2

PORCENTAJE PROMEDIO DE ADSORCIÓN *in vitro* DE OCRATOXINA A POR SECUESTRANTES COMERCIALES EN TRES ENSAYOS EXTRACTIVOS DE LA TOXINA

AVERAGE OCHRATOXIN A *in vitro* BINDING PORCENTAGES OF COMMERCIAL BINDERS WITH THREE TOXIN EXTRACTION ASSAYS

Product	Essay II	Essay III	Essay IV	Average
Control	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00
Mycosorb	78.98 ^a	66.57 ^a	41.78 ^a	48.53
Trisox	0.00 ^a	0.00 ^a	0.93 ^a	0.31
Comalit	56.66 ^a	0.00 ^a	7.77 ^a	21.48
Trisox II	30.36 ^a	54.36 ^a	10.07 ^a	31.60
Zeotek	93.07 ^a	98.36 ^a	63.31 ^a	84.91
Klinsil	95.55 ^a	43.54 ^a	0.00 ^a	43.26 ^a
Mycoad	80.05 ^a	62.73 ^a	43.18 ^a	61.99 ^a
Aflatox	66.50 ^a	0.00 ^a	27.21 ^a	31.24 ^a
Promisil	63.43 ^a	0.00 ^a	19.31 ^a	27.58 ^a
Neosil 4	45.10 ^a	10.94 ^a	11.92 ^a	31.33 ^a

Values with different letters indicate statistically significant difference ($P < 0.05$)

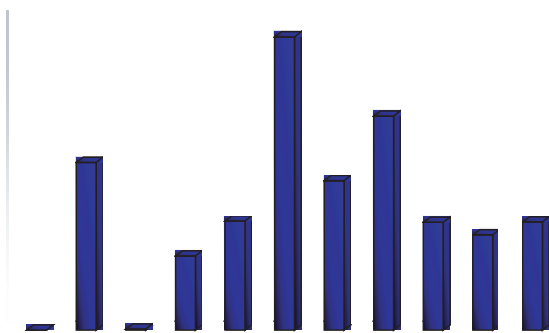


Figura 2. Adsorción promedio *in vitro* de ocratoxina A por secuestrantes comerciales.

Mean *in vitro* adsorption of ochratoxin A by commercial binders.

product made from yeast walls (Mycosorb), did not show good OA binding ability, as reported in different studies with other mycotoxins.¹⁴ Since there is no widely accepted method for *in vitro* mycotoxin binding, different methods have been used by different laboratories.¹⁵⁻¹⁷ When binders were used with OA contaminated grains in this study, the results were very variable, since the distribution of mycotoxins is not uniform in such grains. Therefore, it is not recommended to use them in this manner because results might be erroneous. Using a pure mycotoxin standard is a procedure that warrants the amount of mycotoxin to which the binder is exposed, but it is a costly procedure not comparable to current conditions of *in vivo* experiments.

Most of the binders studied have an alkaline pH, which could promote binding of certain toxins. The literature mentions that pH conditions that change from acid to alkaline are required for OA extraction.¹⁸ However, OA binding seems unaffected by aluminosilicate pH when suspended in bi-distilled water. Therefore, according to our observations, binder pH and OA binding ability are unrelated. This finding is consistent with Lechuga¹⁹ in his report about aflatoxin B1 (AFB1).

Mineral content of aluminosilicates is quite variable considering that these products are obtained from natural clay deposits, where of course the chemical composition cannot be controlled.³ Labels in commercial products include a guaranteed mineral composition, basically aluminates, silicates, and sodium, potassium and calcium salts.⁴ Some authors have stated that aluminosilicates might work as growth promoters,²⁰ and others have reported egg quality improvement in layers because of extra calcium in the diet.²¹ It is therefore important for aluminosilicate buyers to know the mineral content, which is sometimes not possible.

procesado y cuantificado como cualquiera de las muestras. De esta manera, el valor de la toxina recuperada en este testigo será considerada 100% de micotoxina de la cual partimos, y los cálculos para cada secuestrante deben ser realizados con base en dicho testigo. De no hacerlo así, la micotoxina perdida durante el proceso de extracción será considerada como secuestrada, lo cual dará un resultado falso.

El secuestrante que numéricamente presentó mayor capacidad de secuestro *in vitro* de OA fue Zeotek, que es ampliamente recomendado por sus fabricantes para el secuestro de OA, situación que, al menos para condiciones *in vitro*, coincide con lo obtenido en este estudio. El resto de los secuestrantes, incluyendo el producto compuesto de paredes de levaduras (Mycosorb), no presentaron buena capacidad de secuestro de OA, lo cual coincide con los estudios realizados al respecto para otras micotoxinas.¹⁴ Dado que no existe una metodología bien establecida para la realización del ensayo de secuestro de micotoxinas *in vitro*, existe cierta diversidad en los métodos desarrollados por cada laboratorio.¹⁵⁻¹⁷ Los resultados observados en este estudio, cuando se confrontaron los secuestrantes con alimento contaminado con OA, resultaron ampliamente variables, dado que la distribución de cualquier micotoxina no es homogénea en el grano, por lo que no es recomendable realizarlo de esta manera, dado que puede producir un resultado falso. El utilizar estándar de micotoxina pura es un procedimiento que garantiza la cantidad de micotoxina con la que se confronta el secuestrante, pero es un procedimiento costoso que no es comparable con las condiciones presentes en experimentos *in vivo*.

La mayor parte de los secuestrantes evaluados presenta pH alcalino, lo cual podría favorecer el secuestro de ciertas micotoxinas. La literatura menciona que para la extracción de OA se requieren condiciones de pH en que existan cambios de acidez a alcalinidad.¹⁸ Sin embargo, la adsorción de OA no parece ser afectada por el pH del aluminosilicato cuando se encuentra suspendido en agua bidestilada, por lo que, de acuerdo a lo observado, no existe relación en cuanto al pH del secuestrante y la capacidad de secuestro de la OA. Este resultado coincide con lo descrito por Lechuga¹⁹ para el caso de aflatoxina B1 (AFB1).

El contenido de minerales de un aluminosilicato es bastante variable considerando que estos productos son obtenidos de los depósitos naturales de arcillas, en los que, naturalmente, no es posible controlar la composición química.³ Los productos comerciales incluyen en su etiqueta un porcentaje de minerales garantizado para su producto, básicamente aluminatos, silicatos, y sales de sodio, potasio y calcio.⁴

Cuadro 3

CONCENTRACIÓN DE OCRATOXINA A (OA) NO SECUESTRADA EN DESAFÍOS DE SECUESTRO *in vitro* UTILIZANDO TRIGO CONTAMINADO CON OA

AMOUNT OF UNBOUND OCHRATOXIN A (OA) IN *in vitro* BINDING CHALLENGES USING OA CONTAMINATED WHEAT

<i>Product</i>	<i>Unbound OA (ppm)</i>
Control	56.44
Mycosorb	24.84
Trisox	41.74
Comalit	37.00
Trisox II	56.14
Zeotek	68.13
Klinsil	24.87
Mycoad	26.34
Aflatox	64.54
Promisil	57.17
Neosil 4	71.12

Finally, it is important to keep in mind that *in vitro* evaluation is a system that tries to simulate the conditions inside the bird, but if a binder shows good *in vitro* adsorption it does not mean the same will happen *in vivo*. Osuna⁷ has emphasized this fact, since there are other variables in animals absent under *in vitro* conditions. Therefore, *in vivo* tests are necessary to obtain more accurate and truthful results.

Referencias

1. Hoerr FJ, Micotoxicosis. In: Diseases of poultry Calnek BW, Barnes JH, Beard CH, McDougald LR, Saif YM, 10th ed. Ames (Io): Iowa State University Press, 1997.
2. Leeson S, Diaz G, Summers JD. Poultry metabolic disorders and micotoxins. Guelph, Canada: University Books, 1995.
3. Tamames F. Química de las arcillas. Industria Avícola 2000;47:20-22.
4. Camarena G, Domínguez MJ, Díaz LJ, Flores CM. Adsorción diferencial de aflatoxinas B1 y G1 por 10 materiales adsorbentes. Memorias de la XXII Convención Anual ANECA; 1997 mayo 7-11; Ixtapa, Zihuatanejo Guerrero México. México (DF): Asociación

Algunos autores han señalado que los aluminosilicatos pueden funcionar como promotores de crecimiento,²⁰ y algunos otros han informado mejorías en la calidad del huevo en gallinas de postura, dado el incremento en los valores de calcio en la dieta resultado de su inclusión.²¹ Por este motivo resulta importante para los compradores de aluminosilicatos conocer el contenido de minerales del producto, lo cual, para diversos productos, no es posible.

Finalmente, es importante considerar que la evaluación *in vitro* es un sistema de evaluación de secuestrantes que trata de simular las condiciones presentes en el organismo del ave, pero si un secuestrante presenta una buena adsorción *in vitro* no implica que sucederá lo mismo *in vivo*. Osuna⁷ ha enfatizado esta situación, dado que en los animales se presentan otras variables ausentes bajo condiciones *in vitro*. Por esta razón, la evaluación *in vivo* de estos productos se hace necesaria para obtener un resultado más preciso y cercano a la realidad.

Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, A.C., 1997:302-310.

5. Márquez MR, Madrigal SO, Madrigal BE, Villarruel

- VN, Vera GE, Tejada CI. Efecto antigenotóxico de los mananoligosacáridos (Mycosorb™) de *Saccharomyces cerevisiae* en dietas para ratón contaminadas con aflatoxina B1 (AFB1). Memorias de la XXV Convención Anual ANECA; 2000 mayo 3-6; Cancún. (Quintana Roo) México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, A.C. 2000:166-168.
6. Dale N. Mycotoxin binders: it's time for real science. *Poultry Digest* 1998;57:38-39.
 7. Osuna O. Soluciones prácticas para disminuir el impacto de las micotoxinas en la avicultura. Memorias del XVI Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura; 2000 noviembre 15-17; Panamá, Panamá: Unión Latinoamericana de Avicultores, 2000:355-361.
 8. Phillips TD, Kubena LF, Harvey RB, Taylor DR, Heidelbaugh ND. Hydratal sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Science* 1988;67:243-247.
 9. Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD, Corrier DE, Huff WE. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of hydrated sodium, calcium, aluminosilicate. *Poult Sci* 1990;69:727-735.
 10. Perkin-Elmer. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Norwalk (Ct): Perkin-Elmer, 1994.
 11. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed Washington (DC): AOAC, 1990.
 12. Stoloff L, Nesheim S, Yin L, Rodricks YV, Stack M, Campbell AD. A multimycotoxin detection method for aflatoxins, ochratoxin, zearalenone, sterigmatocystin and patulin. *J Assoc Off Anal Chem* 1971;54:91-97.
 13. Lechuga GD, Rosiles MR, Horta RJM. Identificación fisicoquímica de algunos aluminosilicatos y de su actividad adsorbente sobre aflatoxina B1 *in vitro*. *Vet Méx* 1995;26:129-132.
 14. Nesheim S, Stack ME, Trucksess MW, Eppley M. Rapid solvent-efficient method for liquid chromatographic determination of ochratoxin A in corn, barley, and kidney: collaborative study. *J Assoc Off Anal* 1992;75:481-487.
 15. Ledoux DR, Rottinghaus GE. *In vitro* and *in vivo* testing of adsorbents for detoxifying mycotoxins in contaminated feedstuffs. In: Lyons TP, Jacques KA, editors. Proceedings of the Alltech's 15th Annual Symposium. 1999 June 2-3; Nottingham (UK): University Press, 1999:369-380.
 16. Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ, Alonso-Debolt M. Efficacy of a hydrated sodium, calcium, aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult Sci* 1999;78:204-210.
 17. Flores CM, Dominguez JM, Diaz de Leon J. Modeling and experimental comparison on the differential adsorption of B1 and G1 aflatoxins on mineral aluminosilicates surfaces. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1999;18:213-220.
 18. Medina JC, Muñoz J, Lara J, Rivera L, Fierro JA. Criterios de control de calidad de aluminosilicatos comercializados como adsorbentes de micotoxinas. Memorias del XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura; 1999 agosto 24-26, Lima (Perú). Perú: Unión Latinoamericana de Avicultura 1999:2731.
 19. Dorner JW. Mycotoxins in food: methods of analysis. In: Nollet LM, editor. Handbook of food analysis. New York:Marcel Decker, 1996,1089-1146.
 20. Andrade OF. Efecto de los aluminosilicatos como secuestrantes de aflatoxina B1, evaluado por conversión alimenticia y concentración de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y zinc en pollo de engorda (tesis de licenciatura). México DF: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1993.
 21. Roland DA, Barnes DG, Laurent SM. Influence of sodium aluminosilicate, hydroxy-sodalite, carnegieite, aluminum sulfate and aluminum phosphate on performance of comercial Leghorns. *Poult Sci* 1991;70:805-811.