

Identificación fisicoquímica de algunos aluminosilicatos y de su actividad adsorbente sobre aflatoxina B₁ *in vitro*

David Lechuga Gálvez*
René Rosiles Martínez*
Juan M. Horta Ramírez*

Resumen

Se tomaron muestras de 6 aluminosilicatos comerciales distribuidos en México. A cada muestra se le practicaron los siguientes análisis: contenido de potasio (K), calcio (Ca), sodio (Na), aluminio (Al) y silicio (Si), por medio de espectrofotometría de absorción atómica; el contenido de K en las muestras analizadas varía de 0 a 0.89%, el Ca de 0 a 0.76%, el Na de 0.42 a 1.68%, el Al de 0.90 a 8.15% y el de Si de 13.29 a 62.71%. Resalta la muestra de Fusox en cuanto a contenido de Si (62.7%). La proporción de Al/Si en las muestras analizadas fue la siguiente: Milbond, 0.416; Trisil, 0.356; Quibenzil, 0.13; Rekasil, 0.276; Boldclay, 0.337; Fusox, 0.14. Se midió el tamaño de las partículas por microscopía electrónica de barrido y se encontró que Milbond, Trisil, Quibenzil y Rekasil según el tamaño de sus partículas corresponden a una zeolita, a diferencia de Boldclay, con 72.62 μ . Los resultados obtenidos en la confrontación *in vitro*, de los 6 aluminosilicatos comerciales, mostraron que sólo dos de ellos presentaron actividad adsorbente de aflatoxina B₁. El porcentaje de esta actividad fue de 97.5 en Milbond y de 90 en Fusox. Después de la medición del pH se encontró que no existe relación entre la capacidad adsorbente de aflatoxina B₁ y el pH del aluminosilicato.

Introducción

Las micotoxinas causan diversos efectos, así como severas pérdidas económicas a la industria ganadera. Los efectos a menudo son resultado de interacciones con otros factores. Las micotoxinas se producen en el alimento y en los ingredientes aun antes de ser cosechados, durante su almacenamiento, manufactura y transportación, y antes de ser consumido por los animales. En México se ha hecho muy poco para establecer los niveles seguros de micotoxinas en alimento para animales, aunque existen medidas de control muy útiles para el ganadero, como la limitación de

humedad en el alimento y en sus ingredientes, y el uso efectivo de retardantes del crecimiento de hongos, como los ácidos grasos de cadena corta. Estos productos no podrán prevenir indefinidamente la producción de micotoxinas, pero sí la reducirán.^{5,7,11}

Dentro de los métodos para inactivar aflatoxinas, existe radiación ultravioleta, inactivación térmica, degradación biológica y tratamiento con hidróxido de amonio y otros químicos.^{10,13}

Uno de los sistemas actuales para reducir la toxicidad de la aflatoxina B₁ (AB₁) es el uso de los aluminosilicatos (AlSiCas).¹³

Los AlSiCas se emplean como adsorbentes de AB₁. Esta familia abarca una gran variedad de compuestos, entre los cuales se encuentran: zeolitas, alúminas, sílicas y los aluminosilicatos, que se han utilizado para adsorber aflatoxinas *in vitro*. Estos compuestos poseen propiedades como antiapelmazantes y adsorbentes de aflatoxina B₁.^{2,5,13,16}

Las zeolitas se componen de un amplio espectro de minerales caracterizados por sus estructuras tridimensionales de tetraedros de SiO₄ y AlO₄ (tectosilicatos) enlazados por Na, K y Ca, dejando entre ellos cavidades interconectadas conocidas como poros. Esta estructura les confiere, además de una baja densidad (2.0 a 2.3), la posibilidad de admitir o perder moléculas de agua y gases, así como cationes, sin que su estructura se descomponga.⁷

Todas las moléculas son siempre polares y por lo tanto, tendrán una atracción con la superficie del AlSiCa. Esta atracción se efectúa por fuerzas secundarias o de Van der Waals. En el momento en que la molécula está más cerca del AlSiCa, sus radicales químicos de superficie reaccionan con ellas formándose entonces un quelato.⁷

Algunos de los AlSiCas ofrecen mejor adsorción. Las sales de sodio-calcio tienen una alta afinidad para adsorber AB₁.¹³ Los AlSiCas reducen la biodisponibilidad de la AB₁, ya que forman un compuesto estable e impiden su absorción en el intestino, por lo que disminuyen significativamente la cantidad de AB₁ en hígado, riñón y tejido muscular, protegiendo así a los animales contra sus efectos negativos.^{4,6,8,9,10}

La venta comercial de AlSiCas como adsorbentes ha ido en aumento y se hace necesario un control de calidad.

Recibido para su publicación el 9 de noviembre de 1994.

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

La variación en los diferentes lotes de producción de AlSiCas como adsorbentes de AB₁ hizo sospechar de su eficiencia. Así que la evaluación *in vitro* de estos compuestos permitirá identificar el grado de actividad y facilitar su control de calidad; de aquí surge el objetivo del presente trabajo que es: conocer el contenido elemental y la forma y tamaño de la partícula de 6 AlSiCas, así como la eficiencia adsorbente de AB₁.

Material y métodos

Los siguientes análisis se realizaron con el fin de identificar los elementos que componen a los AlSiCas comerciales (Milbond, Quibensil, Rekasil, Boldclay, Trisil y Fusox), así como el tamaño de las partículas:

1. Análisis elemental para conocer los átomos que componen la muestra por medio de espectrofotometría de absorción atómica.¹²

2. Microscopía electrónica de barrido para evaluar el tamaño de las partículas presentes en las muestras.¹¹

Con los análisis obtenidos en esta investigación fue posible conocer los elementos que se encuentran presentes en la muestra, qué tipo de AlSiCas son, así como el tamaño de las partículas que los forman.

Una vez hecha la identificación química y física de los AlSiCas, se procedió a la confrontación *in vitro*. En este caso, el alimento comercial para pollo de engorda fue contaminado con 200 ppb de AB₁ usando el sustrato de arroz inoculado con *Aspergillus flavus*. Se mezcló por separado con 0.5% de cada uno de los AlSiCas comerciales. Al día siguiente, se tomó una muestra de 25 g de cada tratamiento para someterla a extracción con disolventes orgánicos y por separación líquido-líquido con el fin de obtener las aflatoxinas no adsorbidas por los AlSiCas.

Para la identificación de las aflatoxinas se usó el método de Stollof *et al.*¹⁵ Una vez hecho el extracto de micotoxinas, éste fue desarrollado en cromatografía de capa fina frente al estándar de AB₁ y se compararon las concentraciones de AB₁ obtenidas de cada muestra. De forma complementaria, se realizó un análisis potenciométrico de cada AlSiCa y de cada tratamiento, para evaluar su pH y compararlo con la capacidad adsorbente de AB₁.

Resultados

La Figura 1 muestra la concentración de potasio, calcio, sodio, aluminio y silicio en los AlSiCas Milbond, Quibensil, Rekasil, Boldclay, Trisil y Fusox. Ahí se observa que la mayoría son AlSiCas de sodio, potasio y calcio, y sólo uno es exclusivo de sodio y otros de sodio y calcio. En el Cuadro 1 se resumen los resultados de la proporción entre los átomos de Al con respecto de los de Si en los AlSiCas.

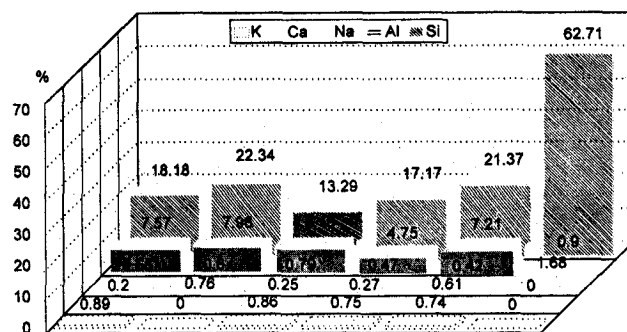


Figura 1. Análisis elemental de algunos aluminosilicatos expendidos en México.

Cuadro 1
PROPORCIÓN DE ÁTOMOS DE AL CON RESPECTO A LOS ÁTOMOS DE SI EN 6 ALUMINOSILICATOS MEXICANOS

Muestra	Al/Si	Proporción
Milbond	7.57/18.18	0.46
Trisil	7.96/22.34	0.356
Quibensil	8.15/13.29	0.13
Rekasil	4.75/17.17	0.276
Boldclay	7.21/21.37	0.337
Fusox	0.90/62.71	0.14

En cuanto a los resultados del estudio de microscopía electrónica de barrido para conocer el tamaño, éstos se obtuvieron al multiplicar la longitud del eje mayor por la longitud del eje menor (Cuadro 2).

Cuadro 2
TAMAÑO DE LA PARTÍCULA EN MICRAS DE ALGUNOS ALUMINOSILICATOS POR MEDIO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Muestra	Tamaño de la partícula
Milbond	8.94 μ
Trisil	2.59 μ
Quibensil	14.0 μ
Rekasil	5.60 μ
Boldclay	72.62 μ

La capacidad adsorbente de AB₁ se obtuvo de la interpretación de los análisis por cromatografía de capa fina. De las 6 muestras, sólo el Milbond y el Fusox presentaron una capacidad adsorbente del 97.5% y de 90% respectivamente, en relación con las 200 ppb de AB₁ con que originalmente fue contaminado

el alimento comercial. El resto de las muestras no presentó esta característica (Figura 2).

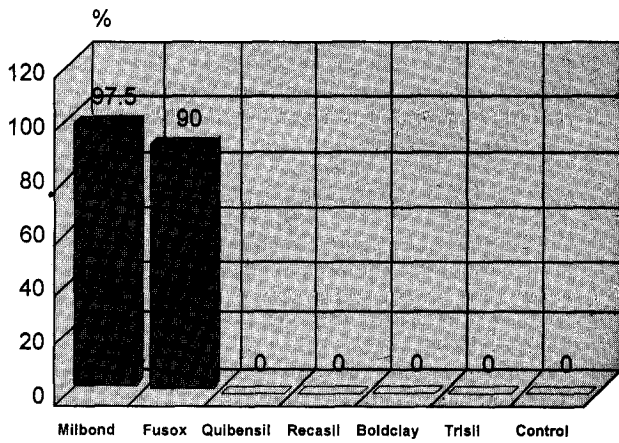


Figura 2. Adsorción de aflatoxina B₁ por aluminosilicatos expendidos en México.

En el análisis potenciométrico se encontró que la muestra de Milbond tiene un pH de 9.01 que supera en alcalinidad al resto de los AlSiCas evaluados. En cuanto a la mezcla de alimento con 0.5% de AlSiCa se observó un descenso en el pH con respecto al testigo (Figuras 3 y 4).

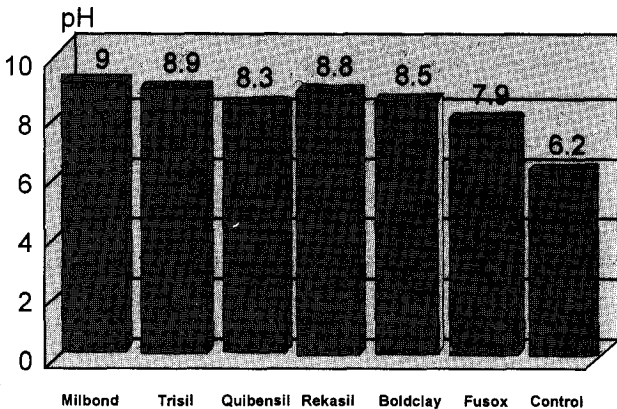


Figura 3. Análisis potenciométrico de aluminosilicatos mexicanos.

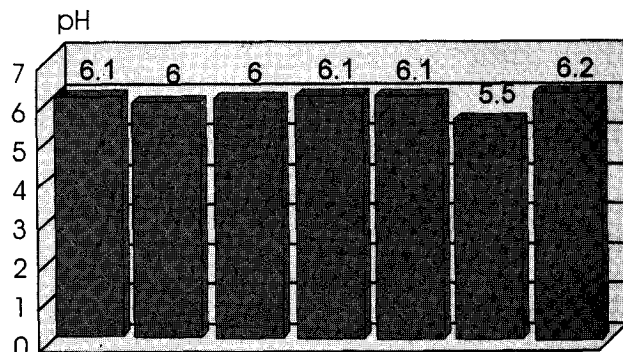


Figura 4. Análisis potenciométrico de alimento para pollo con aluminosilicatos.

Discusión

El uso de los AlSiCas es muy amplio en la industria, se aplica en la purificación de gases, en la reducción de la radiactividad del agua empleada en plantas nucleares, en la reducción de nitrógeno amoniacal en plantas tratadoras de agua y para la inhibición de la toxicidad del amonio en granjas piscícolas. Recientemente se utilizan también dentro de la industria pecuaria como aditivos en el alimento para remover toxinas (AB₁) y para mejorar la ganancia de peso en ganado y aves.^{4,9}

De acuerdo con Kubena *et al.*,⁸ los AlSiCas empleados como adsorbentes de AB₁ denotan protección hacia los efectos de 3.5 ppm de esta micotoxina. Andrade,¹ dosificó 0.3 ppm de AB₁ y 0.5% de un AlSiCa aunque éste no protegió de los efectos negativos de la micotoxina. Es notoria la diferencia en los resultados encontrados por estos dos autores.

El presente experimento se realizó confrontando *in vitro* 6 AlSiCas comerciales expendidos en México. De los resultados obtenidos en el análisis elemental se encontró que los AlSiCas son de calcio, potasio y sodio, coincidiendo estos resultados con los notificados por Willie *et al.*,¹⁶ que también coinciden con los de Scheideler.¹⁴

La proporción de átomos de Al con respecto de los de Si en las muestras analizadas no coinciden con la proporción de Al/Si de una zeolita (0.408). La muestra más próxima a esta proporción es el Milbond con 0.416.^{3,14}

En cuanto al tamaño de las partículas, la muestra Milbond fue de 8.94 μ , Trisil, de 2.59 μ , Quibenzil, de 14.03 μ , y Rekasil, de 5.60 μ . Estos hallazgos coinciden con lo que Kuppusamy¹⁰ notifica. Sin embargo, el Boldclay, de 72.62 μ , no se puede considerar como Zeolita, ya que es mayor a 50 μ .

La capacidad adsorbente de AFB₁ por parte de los 6 AlSiCas evaluados no concuerda con lo notificado en la etiqueta de los productos comerciales. De acuerdo con estos resultados, los productos comerciales expendidos en México no son eficientes para adsorber *in vitro* la AB₁.

En cuanto al pH encontrado, se comprobó que todas las muestras son alcalinas, que es una de las características de las zeolitas, lo cual concuerda con los resultados de Kuppusamy.¹⁰

Los resultados muestran que Milbond presenta mayor alcalinidad y que la proporción de Al/Si es próxima a una zeolita; asimismo, se observa que el tamaño de sus partículas es menor a 50 μ y que presentó mayor eficiencia en cuanto a la adsorción de AB₁. Por otra parte, Fusox presenta un alto contenido de Si y una capacidad adsorbente del 90% de AB₁.

Se puede concluir que existe una falta de control de calidad en los AlSiCas (Trisil, Quibensil, Rekasil y Boldclay) y, en general, una falta de normatividad en la producción y expedición de los certificados de los AlSiCas expendidos en México como adsorbentes de AB₁.

Abstract

Milbond, Trisil, Quibensil, Rekasil, Boldclay and Fusox trademark aluminosilicates were sampled for physical, chemical and *in vitro* aflatoxin B₁ adsorbent efficacy analysis. Each sample was analysed for potassium, sodium, calcium, silicium and aluminum content throughout atomic absorption spectrophotometry. Potassium content varied from zero to 0.89%; calcium from zero to 0.76%; sodium from 0.42% to 1.68%; aluminum from 0.9% to 8.15% and silicium from 13.3% to 62.7%. These findings indicate that some aluminosilicates contain neither potassium nor calcium, but all of them contain sodium, silicium and aluminum. Silicium and aluminum relationship was as follows: Milbond, 0.416; Trisil, 0.356; Quibensil, 0.13; Rekasil, 0.276, Boldclay, 0.337 and Fusox, 0.146. Particle size of Milbond, Trisil, Quibensil and Rekasil corresponded to the zeolite mineral, but Boldclay did not. *In vitro* adsorbent efficacy of aflatoxin B₁ was positive with Milbond and Fusox. These results indicate that there is no control of efficacy in the trademark aluminosilicates used as adsorbent agents of aflatoxin B₁ in Mexico.

Literatura citada

1. Andrade, O.F.: Efecto de los aluminosilicatos como secuestrantes de aflatoxina B₁, evaluado por conversión alimenticia y concentración de Ca, P y Zn en pollo de engorda. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1993.
2. Brake, J.: Field results on broiler chickens with a selected aluminosilicate. In: Recent Development in the Study of Mycotoxins. Edited by: Harris, S. B., Baker, T. B., 47-51. *Kaiser Aluminum and Chemical Corporation*, Cleveland, Ohio, 1987.
3. Bosch, P. y Schifter, I.: La Zeolita, una Piedra que Hierve. *Fondo de Cultura Económica*, México, D.F., 1988.
4. Colvin, B.M. and Sangster, L.T.: Effect of a high affinity aluminosilicate sorbent on prevention of aflatoxicosis in growing pigs. *Vet. Hum. Toxicol.*, 31: 46-48 (1989).

5. Chávez, N.: Aislamiento e identificación de hongos y sus micotoxinas a partir de sorgo con alto grado de humedad y sus efectos en animales experimentales. Tesis de maestría. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
6. Chung, T.K., Erdman, J.W. and Baker, D.H.: Hydrated sodium, calcium aluminosilicate: Effects on zinc, magnesium, vitamin A and riboflavin utilization. *Poult. Sci.*, 69: 1364-1370 (1990).
7. Humphreys, D.J.: *Veterinary Toxicology*. 3rd ed. *Bailliere-Tindall*, London, 1984.
8. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Huff, W.E. and Corrier, D.E.: Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin B₁ and T-2 toxin. *Poult. Sci.*, 69: 1078-1086 (1990).
9. Kubena, L.F., Huff, W.E., Harvey, R.B., Yersin, A.C., Elissalde, M.H, Witzel, D.A. and Giroir, L.E.: Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poults during aflatoxicosis. *Poult. Sci.*, 70: 1823-1830 (1991).
10. Kuppusamy, I.: Heavy metal removal by zeolites. Primer Mini Simposio Internacional sobre Remoción de Contaminantes de Aguas y Suelos. México, D.F. 1993. 23-28. *Instituto de Ingeniería de la Facultad de Química*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1993).
11. Moss, M.O.: Mycotoxins of *Aspergillus* and other filamentous fungi. *J. Appl. Bacteriol.*, 89: 69-81 (1989).
12. Perkin-Elmer: Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. *Perkin-Elmer*, Norwalk, Connecticut, 1982.
13. Phillips, T.D.: Novel approaches to detect and detoxification of mycotoxins. In: Recent Development in the Study of Mycotoxins. Edited by: Harris, S. B., Baker, T. B., 52-58. *Kaiser Aluminum and Chemical Corporation*, Cleveland, Ohio, 1987.
14. Scheideler, S.E.: Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin B₁ on aflatoxin toxicity, chick performance and mineral status. *Poult. Sci.*, 72: 282-288 (1993).
15. Stollof, L., Neshein, S., Yin, L., Rodricks, Y. V., Stack, M. and Campbell, A. D.: A multimycotoxin detection method for aflatoxins, ochratoxin, zearalenone, sterigmatocystin and patulin. *J. Ass. Off. Anal. Chem.*, 54: 91-97 (1971).
16. Willie, L.W., Carey, L.Q., Fagerberg, J.D. and Schutze, V.J.: Evaluation of zeolites fed to male broiler chickens. *Poult. Sci.*, 61: 438-442 (1982).