



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Unidad de Biotecnología y Prototipos  
Laboratorio de Biogeoquímica**

**Modificación química de la estructura de  
aluminosilicatos para incrementar la capacidad de  
adsorción de la toxina T-2**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**Bióloga**

**P R E S E N T A:**

**Dalia Elizabeth Franco Valderrama**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. César Mateo Flores Ortiz**

**Los Reyes Iztacala, Estado de México 2012.**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Índice

<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>2</b>
1.1 Generalidades de las micotoxinas.....	2
1.1.2 Efectos sobre los alimentos y sobre los consumidores.....	4
1.1.3 Impacto económico.....	6
1.1.4 Normatividad para las micotoxinas en alimentos.....	7
<b>1.2 Tricoticeños.....</b>	<b>9</b>
1.2.1 Toxina T-2 características generales, estructura química y clasificación....	11
1.2.2 Efectos de la toxina T-2 sobre el alimento y los consumidores.....	12
<b>1.3 Adsorción de las micotoxinas.....</b>	<b>13</b>
1.3.1 Adsorción de las micotoxinas mediante aluminosilicatos.....	15
1.3.2 Zeolita y bentonita.....	16
<b>1.4 Isotermas.....</b>	<b>19</b>
1.4.1 Modelos de adsorción.....	21
1.4.2 El modelo de Langmuir.....	23
<b>2. Antecedentes.....</b>	<b>26</b>
<b>3. Justificación.....</b>	<b>28</b>
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>29</b>
4.1 Objetivo general.....	29
4.2 Objetivos particulares.....	29
<b>5. Materiales y métodos.....</b>	<b>30</b>
5.1 Purificación y preparación de aluminosilicatos (bentonita y zeolita).....	30
5.1.1 Homoionización a Na <sup>+</sup> .....	30
5.1.2 Modificación química de aluminosilicatos.....	30
5.1.3 Morfología y composición elemental.....	31
5.1.4 Adsorbentes.....	31

5.2 Capacidad de intercambió catiónico por adsorción de Azul de Metileno.....	32
5.3 Mezcla de adsorción <i>in vitro</i> de toxina T-2.....	32
5.3.1 Derivatización de la toxina T-2.....	33
5.4 Análisis cromatográfico.....	33
5.5 Isotermas de adsorción.....	33
5.5.1 Aplicación del modelo de Langmuir.....	34
<b>6. Resultados y discusión.....</b>	<b>35</b>
6.1 Morfología y composición de aluminosilicatos .....	35
6.2 Hominización a Na <sup>+</sup> .....	39
6.3 Capacidad de intercambió catiónico por adsorción de Azul de Metilen.....	41
6.4 Isotermas de adsorción de azul de metileno (AM).....	42
6.5 Adsorción de T-2.....	45
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>50</b>
<b>8. Bibliografía.....</b>	<b>51</b>

## RESUMEN

Un grupo de micotoxinas que se encuentra de forma frecuente como contaminantes naturales en los alimentos para animales y humanos son los tricoticenos, particularmente la toxina T-2. En el presente trabajo se realizó la modificación de dos tipos de aluminosilicatos (bentonita y zeolita) con octadecildimetilbencil amonio (ODMBA), utilizando dos procesos (húmedo y seco) para comparar la capacidad de adsorción *in vitro* de la micotoxina T-2. Los resultados demuestran que el proceso de modificación húmedo y seco cambia la composición química, la estructura y la polaridad de los aluminosilicatos. Mediante el modelo de equilibrio de adsorción se muestra que bentonita y zeolita modificación en húmedo presentan valores de 2,000 y 33,333 en cuanto al número de sitios disponibles ( $Q_{max}$ ), y en las modificaciones en seco los valores son 12,500 y 2,000 respectivamente. Los valores de las constantes de adsorción (K) de bentonita y zeolita modificación húmeda son 0.714 y 0.0058, en cuanto a modificación en seco son 0.018 y 0.108, respectivamente. Mientras que la modificación realizada con ODMBA incrementa la capacidad de adsorción de la micotoxina T2, incrementándose de 30% a 49.9% para zeolita y de 44.9 % a 54.5% para bentonita, sin diferencias significativas entre los materiales. Los datos obtenidos se evaluaron por medio de ecuaciones isotermas con el modelo de Langmuir obteniendo que la zeolita con modificación seca presenta una capacidad máxima de adsorción con 105.26 nM, en tanto que la bentonita modificada en seco presentó una capacidad máxima de 3.66 nM. A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que la modificación química de los aluminosilicatos son es un proceso efectivos para incrementar la capacidad de adsorción de la micotoxina T-2, en particular la modificación en seco se muestra como alternativa de mayor interés práctico.

# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1 GENERALIDADES DE LAS MICOTOXINAS.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunas especies de hongos en condiciones apropiadas de humedad y temperatura. Se han determinado de 300 a 400 especies de hongos capaces de producir micotoxinas, de las cuales la mayoría de importancia agropecuaria son producidas por los géneros de hongos: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* y *Alternaria* (Huwig *et al.*, 2001).

Las micotoxinas son producidas por hongos saprófitos durante el almacenamiento o durante el crecimiento de las plantas por los hongos endófitos. Las micotoxinas son generalmente lipófilicas (excepto para FB) y por lo tanto, tienden a acumularse en la fracción de grasas de plantas y animales (Husseini *et al.*, 2001). Por otro lado, una misma especie de hongo puede producir más de una micotoxina, como es el caso del *Fusarium graminearum* que puede producir zearalenona (ZEA) y deoxinivalenol (DON). También puede ocurrir que se detecte la micotoxina sin la presencia del hongo, esto se debe a que las formas vegetativas y germinativas pueden ser inactivadas o destruidas por tratamiento, permaneciendo inalteradas las toxinas en el sustrato. Se debe tener en cuenta que la mayoría de las micotoxinas son termoresistentes, manteniendo su toxicidad luego de procesos como la peletización (Bauza, 2007).

La formación de micotoxinas depende de la cepa específica del hongo que prolifere en el sustrato y de factores ambientales como la humedad, la temperatura y el oxígeno. Por lo tanto, la contaminación con micotoxinas puede variar según las condiciones geográficas, climáticas, métodos de producción, tipos de almacenamiento y también según el tipo de sustrato (Lara, 2003).

Otros de los factores que favorecen la proliferación de los hongos productores de micotoxinas, es el grado de integridad física de los granos: cuando las testas de las semillas están intactas se dificulta el acceso de los hongos al almidón endospermico, por lo que los granos partidos son más susceptibles que los enteros. En este aspecto pueden jugar un papel muy importante los insectos y roedores que atacan a los granos almacenados.

Se han identificado de 300 a 400 micotoxinas, sin embargo las que se encuentran de forma más frecuente como contaminantes naturales en los alimentos para animales y humanos son: aflatoxinas (AFA), ocratoxina A (OTA), tricoticeos como Toxina T-2, zearalenona (ZEA), fumonisinas (FUMO), toxinas termogenicas, y alcaloides del cornezuelo (Hussein *et al.*, 2001). En el cuadro 1 se mencionan las diferentes especies de hongos y las micotoxinas que producen, especialmente aquellas de interés biológico y económico (D’Mello y McDonald., 1997). En general, se clasifican por especies de hongos, su estructura, y el modo de acción.

**Cuadro 1.** Principales especies productoras de micotoxinas.

MICOTOXINAS	ESPECIES FÚNGICAS
<i>Aspergillus Flavus</i> y <i>A. Parasiticus</i>	Aflatoxinas
<i>A.ochraceus</i> , <i>Penicillinium viridicatum</i> y <i>P. cyclopium</i>	Ocratoxina A
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> y <i>F. poae</i>	Zearalenona
<i>F. sporotrichioides</i> y <i>F. poae</i>	T-2
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> y <i>F. sporotrichioides</i>	Deoxinivalenol
<i>F. proliferatum</i> y <i>F. verticillioides</i>	Fumonisinias

### **1.1.2. EFECTOS SOBRE LOS ALIMENTOS Y SOBRE LOS CONSUMIDORES.**

Cuando las micotoxinas son producidas en granos y alimentos destinados a la alimentación se convierten en un peligro potencial para la salud. Estas se pueden encontrar de modo natural en un gran número de productos agrícolas, utilizados como materias primas para la preparación de alimentos balanceados para animales o como contaminantes o residuos tóxicos de los productos de las explotaciones zootécnicas (leche, huevo y carne). La contaminación del producto puede ocurrir en cualquier punto de la cadena alimenticia, desde la cosecha, pasando por la recolección, almacenaje, transporte, elaboración y conservación (Requena *et al.*, 2005).

El consumo de dietas contaminadas con micotoxinas llegan afectar sistemas específicos del organismo pero generalmente dañan el hígado o los riñones, por lo que alteran los procesos metabólicos del animal produciendo condiciones adversas que llevan a efectos como hígado pálido, agrandado y friable, inflamación de riñones, lesiones orales, disminución de la respuesta inmunológica, mala adsorción de nutrientes, reducción del crecimiento, alteración de la fertilidad; no solo en animales; también en el ser humano (Lara, 2003).

Los diferentes efectos biológicos dependen de la especie del hongo, la cantidad de micotoxina, así como de la sensibilidad de cada organismo; las enfermedades y los daños en los animales y en el ser humano son diferentes (Cuadro 2). Por ejemplo, La ZEA tiene fuertes efectos estrogénicos, así como características hematotóxicas y genotóxicas. El cerdo es la especie más afectada y más sensible a esta micotoxina, en comparación con otras especies como aves de corral (Richard, 2007 cita a Prelusky *et al.*, 1994). Otro ejemplo, es la fumonisina B<sub>1</sub> (F<sub>B1</sub>) que inhibe la síntesis de esfingolípidos, dañando así a las células (Wang *et al.*, 1998). De igual manera, las fusariotoxinas son conocidas por la gran importancia en la medicina veterinaria, ya que es el agente causal de la enfermedad de los caballos provocándoles un ablandamiento de la materia blanca del cerebro (Leucoencefalomalacia equina), del edema pulmonar

porcino, hepatotóxico, y hepatocarcinogeno en animales de laboratorio (Conkova *et al.*, 2003).

El cuadro de intoxicación producido por la ingestión de alimentos contaminados con micotoxinas o la exposición dérmica o pulmonar a ellas se le conoce como micotoxicosis. Por consiguiente, es una intoxicación, que puede ser aguda o crónica, dependiendo del nivel de contaminación de los alimentos ingeridos.

**Cuadro 2.** Efectos de las diferentes micotoxinas en humanos y en animales.

Micotoxina	Efecto en humanos	Efecto en animales
<b>Aflatoxina</b>	Cáncer hepático	Disminución en la producción. Alteración del sistema inmunológico. Cáncer hepático.
<b>Ocratoxina A</b>	Nefropatía , daño renal irreversible.	Daño renal. Disminución en la producción. Cáncer renal.
<b>Zearalenona</b>	No se conocen	Hiperestrogenismo. Vulvovaginitis porcina.
<b>Tricoticonos</b>	Severa irritación dérmica. Usados en la “guerra química”	Disminución de peso. Efectos adversos en la salud y la producción.
<b>Fumonisinás</b>	Cáncer esofágico.	En cerdos, edema pulmonar. En equinos, encefalomalacia. En primates, cáncer.

En caso de micotoxicosis, el diagnóstico resulta complicado, ya que por lo regular no se presenta una micotoxina sola y la intoxicación es casi siempre de tipo crónica, por lo que no se presenta un cuadro clínico definido. La enfermedad resultante de la intoxicación no es contagiosa y además puesto que las micotoxinas se encuentran de manera heterogénea en el alimento, algunas veces puede observarse contaminación

micotica en el alimento. La micosis es el crecimiento de un hongo patógeno en un tejido vivo y no se debe confundir con micotoxicosis.

El diagnóstico definitivo para la micotoxicosis, se basa en el hallazgo de las micotoxinas en el alimento, en el contenido intestinal o sus residuos o metabolitos en tejidos, sangre y orina. Cabe mencionar que el cuadro clínico se complica porque se presentan otras enfermedades oportunistas, ya que las micotoxinas al ser inmunosupresoras hacen más susceptibles al animal a las infecciones oportunistas. Por lo que normalmente el diagnóstico es más presuntivo, basado en la características de la intoxicación, en la experiencia y en descartar otro tipo de enfermedad (Lara, 2005).

### **1.1.3 IMPACTO ECONÓMICO**

La contaminación de alimentos pecuarios con micotoxinas es un problema mundial para los ganaderos, ya que la ingestión de estas, reduce la productividad de especies pecuarias y disminuye la calidad sanitaria de productos derivados, lo cual trae como consecuencias pérdidas económicas por la imposibilidad de comercializar los productos contaminados con toxinas, así como granos ó las materias primas (Bhatnagar *et al.*, 1991). La economía de países en desarrollo puede ser severamente afectada incluso cuando se presentan toxinas en pequeñas cantidades, en productos para la exportación que no son aceptados en países con normas reguladoras estrictas (Flores *et al.*, 2006).

Así mismo, el impacto económico incluye la pérdida de recursos humanos y la vida animal, el aumento de la atención de la salud, de igual manera, los costos de atención veterinaria, la reducción de la producción ganadera, la eliminación de alimentos contaminados y los forrajes y la inversión en investigación y tecnologías para reducir la gravedad del problema de micotoxicosis.

#### **1.1.4 NORMATIVIDAD PARA LAS MICOTIXINAS EN ALIMENTOS.**

Debido a los efectos y problemas que las micotoxinas pueden tener sobre los seres humanos y los animales, muchos países han establecido reglamentos para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones como forma de proteger la salud humana y los intereses económicos de los productores. Por lo que diferentes organismos internacionales como la OMS, The Food and Drug Administration (FDA) y Food and Agriculture Organisation (FAO) han establecido los límites permitidos de micotoxinas en los forrajes y los alimentos.

Los reglamentos y límites establecidos de niveles de tolerancia aceptables son importantes, ya que facilitan el comercio y la adopción de medidas comunes entre países. Los primeros límites establecidos fueron fijados en los años 60 para las aflatoxinas. A finales del 2003, aproximadamente 100 países habían establecido límites específicos de micotoxinas en los alimentos e ingredientes para la alimentación animal. Los parámetros que son considerados en la adopción de estos niveles son las fuentes y propiedades toxicológicas de las micotoxinas, los efectos sobre la salud humana, la salud y productividad animal. Otro de los factores a tomar en cuenta son la información recogida sobre datos toxicológicos, consumo de alimentos, incidencia y concentración de micotoxinas en los ingredientes, las metodologías analíticas más utilizadas; así como las implicaciones económicas más importantes para el comercio internacional principalmente de cereales y otros alimentos (Denli *et al.*, 2006).

En América Latina aproximadamente 19 países cuentan con los límites reglamentarios respectivos para diversas micotoxinas (Figura 1). Un bloque comercial integrado por Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay (MERCOSUR) presentan reglamentos armonizados para las aflatoxinas y otros países indican que siguen también los reglamentos del MERCOSUR. Los reglamentos para aflatoxinas en los alimentos son a menudo fijados para el total de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. Cada país establece los límites máximos permitidos de micotoxinas en alimentos para animales, de acuerdo a lo ya mencionado. En nuestro país, la NOM-188-SSA1-2002 establece el límite máximo de tolerancia es de 20 ppb de aflatoxina totales (AFT) en grano de maíz para consumo humano. El Cuadro 3 muestra el límite máximo establecido para consumo animal (FAO 2004).

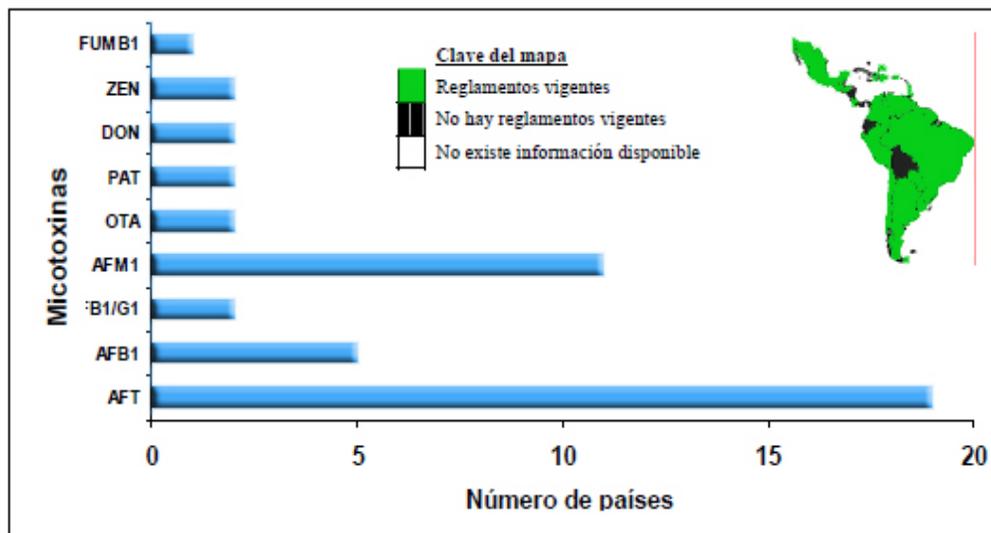


Fig. 1 Micotoxinas en los alimentos reglamentados de América Latina (Denli *et al.*, 2006).

**Cuadro 3.** Límite máximo establecido de aflatoxina en consumo animal.

ESPECIE /ETAPA DE REPRODUCCIÓN	LÍMITE MÁXIMO AFT (ppb)
Aves (excepto pollos de engorda)	100
Cerdos en engorda/ entre 25 y 45 Kg.	100
Cerdos en engorda/ mayores de 45 Kg.	200
Cerdos / para reproducción	100
Rumiantes/para reproducción	100
Rumiantes en engorda /finalización	300

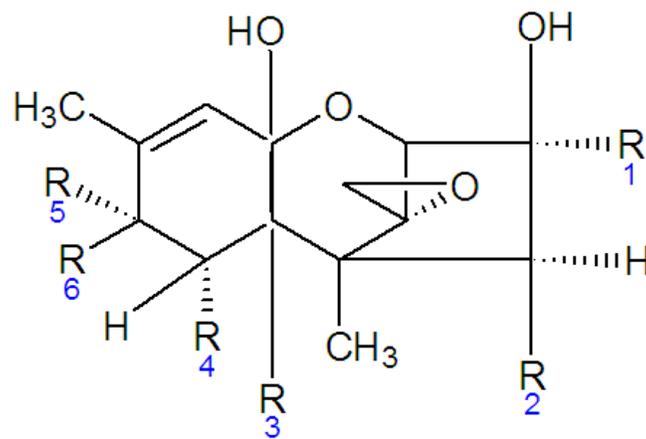
## 1.2 TRICOTICENOS.

A nivel internacional se han encontrado tricoticenos en un 57% de muestras de trigo, 40% de maíz, 68% de avena, 59% de cebada, 48% de centeno y 27% de las muestras de arroz analizadas. También se han encontrado tricoticenos a base de trigo y maíz, como por ejemplo: en harina, pan y cereales. Un caso famoso de intoxicación por tricoticenos es la Aleukia Tóxica Alimentaria, la cual provocó una mortalidad de aproximadamente 100,00 personas en Rusia entre 1942 y 1947, la causa fue que consumieron trigo almacenado al aire libre contaminado por *Fusarium* (Denli y Pérez, 2006).

Los tricoticenos, son producidos por una gran variedad de géneros de hongos como; *Fusarium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Cylindrocarpon* y *Trichothecium*, siendo de este último de donde toman su nombre. Se distribuyen en cosechas de cereales (trigo, maíz, cebada, avena, sorgo, arroz y centeno), así como diferentes subproductos agrícolas, en regiones específicas y siendo poco tóxicas y por su baja concentración no representan una amenaza inmediata. Mientras todos los tricoticenos son letales por ingesta en suficiente cantidad, el mayor problema se presenta en la cantidad de alimentos contaminados con tendencia a riesgo de intoxicaciones crónicas. Aunque todos los animales son afectados después de una exposición a los tricoticenos, el grado de intoxicación depende del tipo de toxina, el grado y duración de la exposición, así como las especies de animales involucrados (Miller *et al.*, 1987).

A pesar de la identificación de más de 150 tricoticenos, los datos sobre su ocurrencia natural en alimentos se refieren principalmente a la toxina de T-2, al nivalenol (NIV), deoxinivalenol también conocida como vomitoxina (DON) y al diacetoxiscirpenol (DAS). Por su toxicidad, los tricoticenos se clasifican como toxinas gastrointestinales, dermatóxicas, inmunotóxicas, hematóxicas, y toxina génica.

Los tricoticenos presentan un anillo epóxido y una doble ligadura en el carbono 12-13 y 9-10 respectivamente, por lo que son llamados 12,13-epoxytricoticenos-9-eno. Los tricoticenos se dividen en macrocíclicos y no macrocíclicos. Los tricoticenos macrocíclicos tienen un doble enlace en la posición 9-10, un anillo epóxido en el carbono 12-13 y un número variable de hidroxilos y acetoxi. En cambio, los tricoticenos no macrocíclicos se clasifican en 4 grupos A, B, C y D de acuerdo a su estructura básica. El tipo B se caracteriza por tener un grupo carbonílico en la posición 8 e incluye entre otros al deoxinivalenol (DON), nivalenol y fusarenona-X, en tanto que los tricoticenos del tipo A carecen de oxígeno en la posición 8, los principales son la T-2, HT-2, NEO y DAS, rara vez tienen grupo carbonilo. El tipo C se caracteriza por un segundo epóxido y el tipo D son compuestos macrocíclicos (Langseth y Rundberget, 1992). Por lo que, dependiendo de los radicales sustituyentes se obtiene los distintos tipos de micotoxinas (Figura 2).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
<b>Scirpeno</b>	OH	OH	H	H	H	H
<b>Tricodermol</b>	H	OH	H	H	H	H
<b>Diacetoxiscirpenol</b>	OH	OAc	OAc	H	H	H
<b>Nivalenol</b>	OH	OH	OH	OH		= CO
<b>Toxina T-2</b>	OH	OAc	OAc	H	Isoval	H
<b>Vomitoxina</b>	OH	H <sub>2</sub>	OH	OH		= O

Isoval = COCH=CHCH<sub>3</sub>

**Figura 2.** Estructura química de los principales tricoticenos.

Los tricoticenos se caracterizan por ser antibióticos, antifúngicos y presentan actividad citoestática (Hsia *et al.*, 1988). También producen fitotoxicidad, ya que inhiben la germinación de semillas, induce la deficiencia de la clorofila en plantas, tienen influencia sobre el crecimiento, el contenido citoplasmático, la movilidad de los organelos, el metabolismo celular, el transporte de auxinas, permeabilidad de las membranas, etc. (Miller *et al.*, 1987).

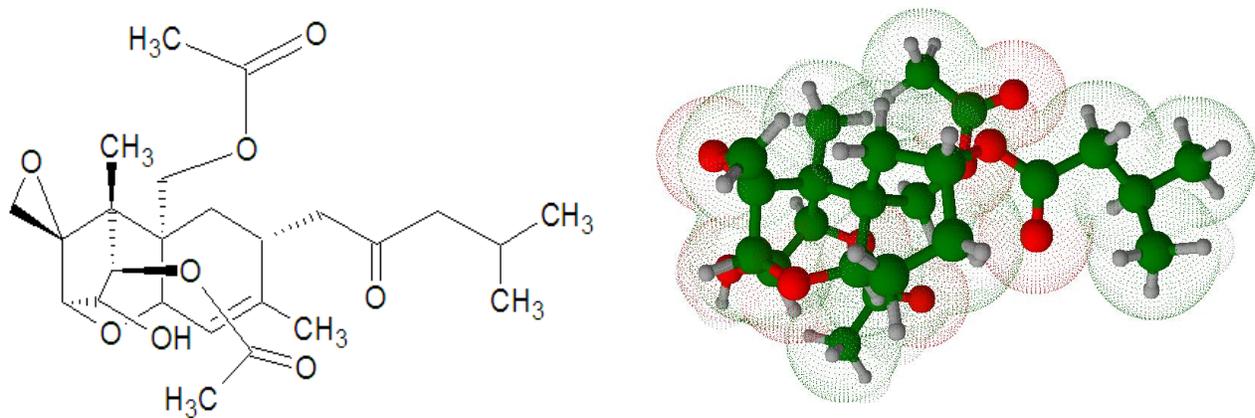
Los efectos crónicos de micotoxicosis son manifestados por la atrofia o la hiperplasia del sistema hematopoyético, tumores de la tiroides, conducto biliar, e hipotálamo, hiperqueratosis inflamación estomacal, así como papilomas y efectos inmunosupresivos (Conkova *et al.*, 2003). De los efectos bioquímicos más importantes que presentan los tricoticenos se encuentran, la inhibición de la síntesis del Ácido Desoxirribonucleico (ADN), del Ácido Ribonucleico (ARN) y proteínas, además presentan efectos inmunosupresores y hemorrágicos (Miller *et al.*, 1987).

### **1.2.1 TOXINA T-2 CARACTERÍSTICAS GENERALES, ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN.**

La ocurrencia natural de la toxina T-2 ha sido reportada en Asia, África, América del Sur, Europa y Norte América. Se han reportado cosechas de cereales como granos, trigo, centeno, arroz, avena, cebada y otras contaminadas por toxina T-2. Los niveles naturales son de 0 a 10 µg/g y algunas excepciones a niveles de 40 µg/g (Richard, 2007). En México sea reportado la ocurrencia natural de T-2 en granos y alimentos balanceados empleados en la producción de aves, cerdos y ganado que muestran niveles por arriba de la norma, el valor máximo encontrado fue de 109 µg kg<sup>-1</sup>, mostrando una incidencia de 51.1%.

La Toxina T-2 es un tricoticeno perteneciente al grupo de los terpenoides, pertenece a la clase A de tricoterpenos. Es producida por especies de hongos como: *Fusarium tricinctum*, *F. nivale*, *F. poae*, *F. solani*, *Trichoderma lignorum*, *F. sporotrichioides*.

La estructura química de la toxina T-2 es  $C_{24}H_{34}O_9$  (Figura 3), presenta un anillo sesquiterpeno y pertenece a los tricotínicos del grupo A, su peso molecular es de  $466.2202 \text{ g mol}^{-1}$ , el punto de fusión es de  $151\text{-}152^\circ\text{C}$ , sus medidas: altura  $7.21 \text{ \AA}$ , ancho  $7.69 \text{ \AA}$ , largo  $14.58 \text{ \AA}$ . Su estructura cristalina es de agujas blancas. Es soluble en metanol, etanol, acetona, diclorometano, tolueno y octano (Betina, 1994).



**Figura 3.** Estructura química plana y en 3D de la toxina T-2.

### 1.2.2 EFECTOS DE LA TOXINA T-2 SOBRE EL ALIMENTO Y LOS CONSUMIDORES.

Las manifestaciones más claras que se presentan en los animales de explotación pecuaria afectados esta toxina incluyen la pérdida de peso, diarrea con sangre, necrosis dermal, lesiones de boca o pico, hemorragia y disminución en la producción de leche y huevos. Los tricotínicos de tipo A son más tóxicos para aves de corral, que los tricotínicos de tipo B. Los daños en los paladares son característicos de esta micotoxina y suelen causar placas amarillas que ocurren en el margen del pico, mucosa en el paladar y en el ángulo de la lengua, características típicas de lesiones orales (Figura 4). Estas se pueden presentar en dietas con niveles de  $4 \text{ mg/Kg}$  después de una semana,  $0.4 \text{ mg/kg}$  después de siete semanas y con  $1\text{-}4 \text{ mg/kg}$ , las lesiones orales ó en el pico ocurren acompañadas con la disminución de peso después de 3 semanas. El mayor efecto de toxina T-2 es inhibir la síntesis de proteínas seguido de la destrucción secundaria de la síntesis de DNA y RNA. Afecta la actividad de división de las células elitroides. Esto puede disminuir los niveles de anticuerpos, inmunoglobulinas

y otros factores hormonales (Richard, 2007). En los cerdos, las dietas que contenían 2 a 3 mg de toxina T-2 por kilogramo fueron asociadas a una reducción significativa en el número de glóbulos rojos y blancos, y concentración de la hemoglobina. También se observó una disminución de linfocitos, incluso en dosis de solamente 0.5 y 1.0 mg de T-2 por kilogramo (Conkova *et al.*, 2003). En los pollos el consumo con 20 µg de toxina T-2 por gramo de dieta, mostró una disminución del plasma total proteína y lípidos (Wyatt *et al.*, 1975). Una toxicosis aguda, inducida experimentalmente por administración de 5 mg de toxina T-2 por kilogramo en ratones, demostró una destrucción celular masiva en el timo y el bazo, con evidente condensación de la cromatina.

También se encontró que la T-2 induce fuertemente apoptosis en el timo y el bazo, y rápidamente en el hígado, comparado con otros órganos. Esto ha demostrado que las células de Kupffer desempeñan un papel importante en la separación de apoptosis. Un 82% de toxina T-2 y sus metabolitos de hidroxilación se eliminan del organismo en 48 h, particularmente en las heces. Los experimentos de inhalación demostraron que la exposición de 33 ppb de toxina T-2 por un mínimo de 160 y 140 ppb por 30 min llevan a la muerte a los ratones (Conkova *et al.*, 2003).



**Figura 4.** Lesiones orales y en el paladar en pollos ocasionadas por la toxina T-2.

### 1.3 ADSORCIÓN DE LAS MICOTOXINAS.

La prevención y la eliminación de la contaminación producida por micotoxinas implican el conocimiento de cuales son las de mayor incidencia, de su estructura química y de la capacidad de reacción con otras moléculas que permitan su transformación en otras estructuras químicas no tóxicas. En los últimos años se han realizado estudios *in vivo* e *in vitro* enfocados principalmente en la adsorción de micotoxinas. La característica principal para la adsorción radica en la estructura física del adsorbente, la carga total y la distribución de carga, el tamaño de los poros y el área superficial accesible.

Se han realizado estudios de diferentes métodos enfocados a remover las micotoxinas con diferentes absorbentes agregándolos a las dietas contaminadas por estas, en espera de que sean efectivos en el tracto gastrointestinal de una manera preventiva. En la actualidad esta es la forma que más se aplica para proteger animales de los efectos dañinos de alimentos contaminados (Huwig *et al.*, 2001).

Entre los diversos estudios que se han realizado para la adsorción de micotoxinas, encontramos a las levaduras o sus paredes celulares, que pueden ser utilizadas como adsorbentes de estas. La adsorción *in vitro* de OTA por levadura (que consiste en 40% de levadura hidrolizada y 60% del residuo de la fermentación que se utiliza para producción de cerveza) depende del pH, y es máxima en soluciones ácidas. Sin embargo, en ensayos *in vivo* han demostrado que agregando un suplemento alimenticio de un 5% de levadura en los cerdos, sólo obtuvieron una ligera reducción en la concentración de OTA en el plasma sanguíneo, la bilis y los tejidos. Por otra parte el uso exclusivo de las paredes celulares de levadura en lugar de la célula completa, la adsorción de micotoxinas puede ser mayor. Las paredes de las células pueden guardar polisacáridos, proteínas y lípidos (Huwig *et al.*, 2001). Sin embargo, otro estudio demostró que la levadura eliminó toxinas que fueron absorbidas por los polisacáridos y no por las proteínas o los ácidos grasos de las paredes celulares de levadura, y que esta adsorción es inespecífica, ya que la celulosa y el glucógeno no fueron capaces de atrapar y eliminar toxinas.

Entre otros de los adsorbentes, se encuentra el carbón activado que es obtenido mediante pirolisis de materiales orgánicos, se caracteriza por ser muy poroso, no soluble y tener una gran superficie de contacto de relación de masa (más de 500 m<sup>2</sup>/g). En ensayos con cabras, se ha demostrado que altas dosis de carbón activado son benéficas en una intoxicación aguda provocada por la ingesta de altas cantidades de aflatoxinas. De igual manera en las soluciones acuosas, pueden adsorber micotoxinas eficientemente, mientras que diferentes carbonos activados tienen menos o ningún efecto contra la micotoxicosis; esto puede deberse a que el carbón activado no es un adsorbente específico y algunos nutrientes esenciales también son adsorbidos, particularmente si sus concentraciones en los alimentos son mucho más altas comparadas a la de las micotoxinas (Huwig *et al.*, 2001).

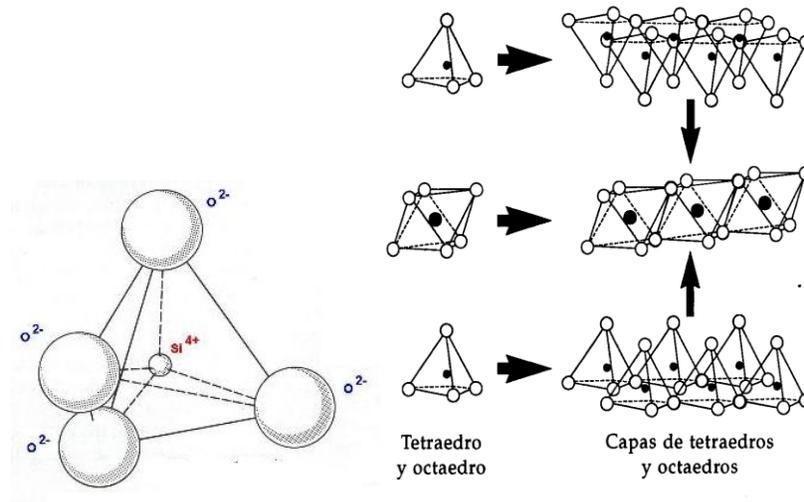
### **1.3.1 ADSORCIÓN DE LAS MICOTOXINAS MEDIANTE ALUMINOSILICATOS.**

En los últimos años se han realizado estudios *in vivo e in vitro* enfocados principalmente en la adsorción de micotoxinas evaluando su eficacia, especificidad y a los mecanismos del proceso de adsorción. La característica principal para la adsorción radica en la estructura física del adsorbente, la carga total y la carga de distribución, el tamaño de los poros y el área superficial accesible.

Muchos de los estudios realizados están relacionados con micotoxicosis y el uso de adsorbentes están más enfocados a silicatos de aluminio, principalmente zeolitas y de arcillas, ambos contienen silicatos de aluminio y algunos iones intercambiables, principalmente metales alcalinos e iones de metales alcalinos (Huwig *et al.*, 2001)

La capacidad de adsorción de los aluminosilicatos se explica por la deficiencia de cationes y aniones que forman un enlace químico para estabilizar la estructura; tal deficiencia determina un comportamiento intercambiador que interacciona con partículas polares y con carga positiva formal. Por lo que el arreglo laminar en capas de este tipo de aluminosilicatos (Figura 5), permite la exposición de una gran superficie

especifica que incrementa su capacidad de adsorción debido a la presencia las cargas disponibles del material (Flores *et al.*, 1999).



**Figura 5.** Tetraedro de silicato  $(\text{SiO}_4)^{4-}$  y sus diferentes estructuras.

### 1.3.2 ZEOLITA Y BENTONITA

Las zeolitas son materiales microporosos con diámetro de poro  $< 2$  nm, cristalinos constituidos principalmente de átomos de Si y Al cada uno de los cuales está unido de forma tetraédrica a los átomos de oxígeno, su fórmula química es  $(\text{AlSi}_3\text{O}_8)^-$ . Debido a que este tipo de materiales son cristalinos, presentan distribuciones de tamaño de poro estrechas (Figura 6). Gracias sus características estructurales, las zeolitas presentan muchas aplicaciones donde el tamaño y la selectividad de forma son indispensables, tales como catálisis, intercambio iónico y adsorción. Los poros en las zeolitas son clasificados por el número de átomos  $\text{SiO}_4$  y  $\text{AlO}_4$  contenidos en los anillos que rodean a los poros. Las zeolitas que contienen poros limitados por anillos de 8, 10 y 12 átomos Si y Al son consideradas como zeolitas de poro pequeño, mediano y grande respectivamente (Corona, 2009).

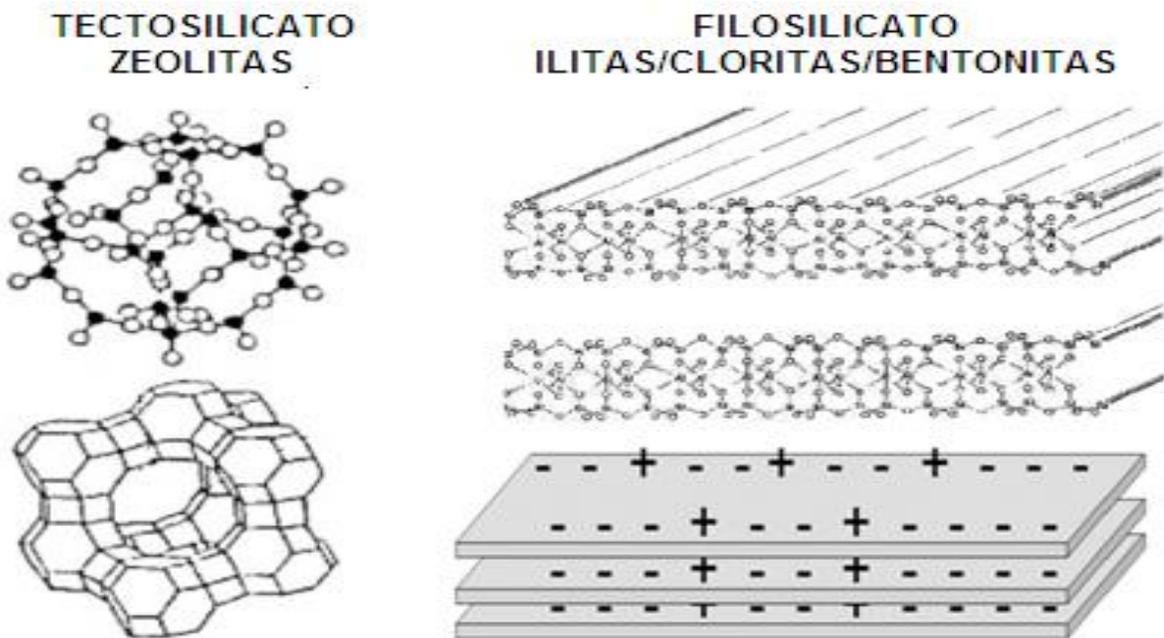
En la naturaleza se han identificado más de 40 especies de zeolitas diferentes y a su vez existen varias especies de zeolitas sintetizadas artificialmente. Cada especie de zeolita tiene un patrón de intercambio cationes específico, por lo que unos cationes son intercambiables más fácilmente que otros. La alta capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) de algunas zeolitas sintéticas pueden alcanzar valores de 1000 meq/100 g, pero las zeolitas naturales (clinoptilolita y heulandita etc.) suelen tener valores inferiores. La más comúnmente encontrada en el mercado de alimentación animal es la zeolita tipo clinoptilolita (aluminio-silicato sódico potasio hidratado) y sus valores de C.I.C. pueden estar de los 200 meq/100 g (Castaing, 1998).

Los aluminosilicatos hidratados de sodio calcio contienen iones de Ca y protones, los cuales son intercambiables por iones de sodio (Huwig *et al.*, 2001). En las zeolitas y montmorillonitas algunos de los silicios tetravalentes son remplazados por aluminios trivalentes dando un aumento en la deficiencia de la carga positiva, la cual es balanceada por la presencia de aniones tales como el cloro (Daković *et al.*, 2005).

Por otro lado, la esmectitas que es el nombre general para este grupo de arcilla. En muchos casos se denomina bentonita, que es el nombre de la roca en Estados Unidos, o bien montmorillonitas, que es el nombre de la roca en Francia, han sido empleadas como aglomerantes desde los comienzos de fabricación industrial de alimentos balanceados. Sin embargo, en la actualidad para el uso de las bentonitas se considera de acuerdo a su capacidad de intercambio catiónico y su posible interferencia con otros componentes de alimento. Estas son fácilmente modificadas por el intercambio de sus cationes inorgánicos, con largas cadenas de iones amonio cuaternario, lo que resulta en un incremento en el espacio interlaminar y una exposición de nuevos sitios de adsorción en la arcilla (Figura 6). Considerado, que los cationes orgánicos substituidos están hidratados débilmente. Como los cationes inorgánicos son progresivamente remplazados por los cationes orgánicos, las propiedades de la superficie de la arcilla cambian considerablemente de hidrófila a cada vez más hidrófoba. De igual manera las modificaciones con iones amonio cuaternarios en zeolita (clinoptilolita) producen un

adsorbente que se une a compuestos orgánicos no polares en solución (Castaing, 1998).

En las bentonitas todos los sitios de intercambio de cationes son igualmente disponibles para el intercambio iónico de cationes orgánicos con largas cadenas, mientras en las clinoptiolitas los cationes orgánicos son también largos para entrar a los canales de la zeolita, y solo ocupan las posiciones externas de intercambio catiónico, así que la superficie de las zeolitas pueden ser modificadas con muy bajas cantidades de fase orgánica, esta característica es muy importante para la aplicación práctica de estos minerales modificados como aditivos para alimentos adsorbentes de micotoxinas.



**Figura 6.** Estructuras de los aluminosilicatos zeolita y bentonita.

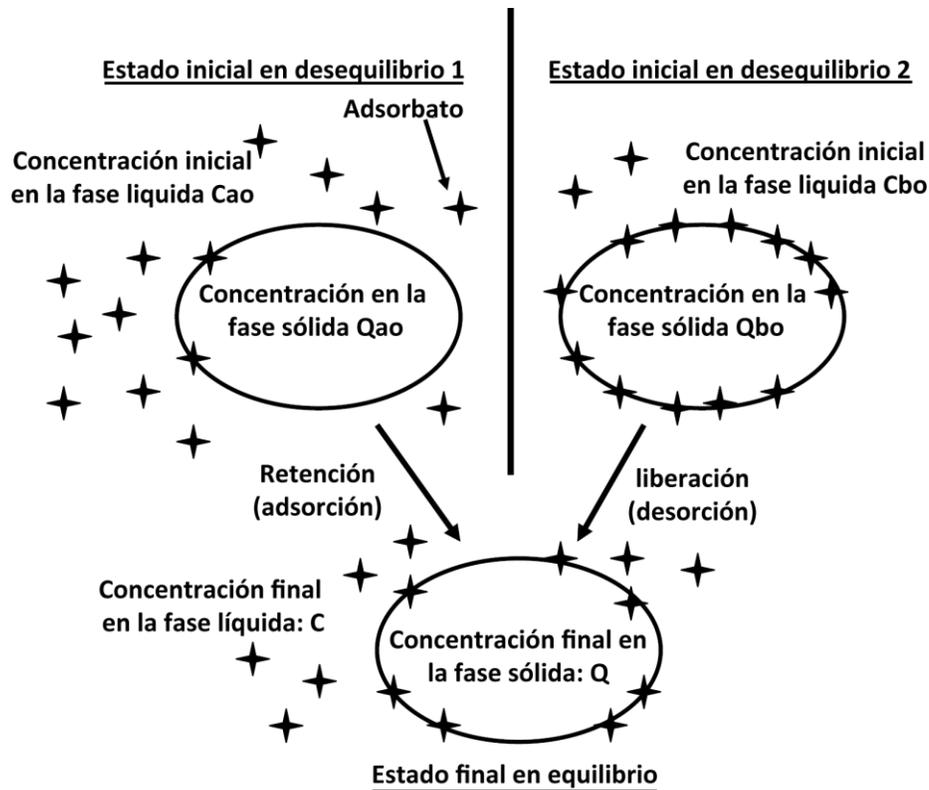
## 1.4 ISOTERMAS.

Entre todos los fenómenos que regulan la movilidad de las sustancias en medios porosos y entornos acuáticos, la transferencia de sustancias desde una fase móvil (líquido o gas) a una fase sólida es un fenómeno universal. Las isotermas de adsorción es una de las maneras más eficientes para describir una gran diversidad de fenómenos de liberación y retención. La curva de una isoterma describe la retención de una sustancia sobre una superficie sólida en diferentes concentraciones a una temperatura constante, siendo así una herramienta importante para describir y predecir la movilidad de una sustancia en el medio ambiente (Limousin *et al.*, 2007).

Cuando la retención de un soluto en partículas sólidas es investigado, la concentración del compuesto no retenido  $C$  ( $\text{molL}^{-1}$  o  $\text{kgL}^{-1}$ ) puede ser comparado con la concentración de este compuesto retenido en las partículas sólidas  $Q$  ( $\text{molKg}^{-1}$  o  $\text{KgKg}^{-1}$ ). La relación  $Q=f(C)$  es a lo que se llama "isoterma de adsorción". La concentración del compuesto retenido se calcula por diferencia entre la concentración inicial del soluto  $Ca_0$  y entre la concentración final del soluto  $C$ . En el caso de la etapa de retención, la concentración de sólidos en equilibrio  $Q$  ( $\text{kg mol}_1$ ) viene dado por la Eq.1 (1)

$$Q = \frac{V}{m} (Ca_0 - C) + Qa_0 \quad (1)$$

Siendo  $V$  el volumen de la solución (L),  $m$  es la masa sólida y  $Qa_0$  ( $\text{mol 1kg}$ ) es la concentración del compuesto inicialmente retenido por el sólido, que debe ser medido o demostrado. En el caso de una etapa de liberación de un compuesto que está presente inicialmente en la fase sólida, la cantidad del compuesto retenido inicial  $Qb_0$  debe medirse previamente. La concentración solida en equilibrio se puede entonces calcular por encima de la ecuación, en sustitución de  $Ca_0$  por  $Cb_0$  y  $Qa_0$  por  $Qb_0$  Figura 7 (Limousin *et al.*, 2007).



**Figura 7.** Esquema del fenómeno de adsorción y desorción. También muestra que la concentración final de sólidos  $Q$  se puede calcular con la diferencia entre la concentración inicial de líquidos ( $C_{a0}$  o  $C_{b0}$ ) y la concentración final de líquidos  $C$  sólo si la concentración inicial de sólidos ( $Q_{a0}$  o  $Q_{b0}$ ) es insignificante o medida con anterioridad

Los modelos isotérmicos se clasifican en cuatro tipos de curvas, denominadas C, L, H, y S, las cuales representan diferentes mecanismos de adsorción y se relación con el comportamiento de las concentraciones (Figura 8) (Grant y Phillips, 1998). La curva "C" se caracteriza por la relación entre la concentración del compuesto que queda en la solución y la adsorbida en el sólido es el mismo en cualquier concentración. Por otro lado, la curva de tipo "S" tiene una forma sigmoidea por lo que presenta un punto de inflexión, este ilustra la concentración por la cual la adsorción supera la formación de complejos. Este tipo de isoterma es siempre el resultado de al menos dos mecanismos opuestos. Los compuestos orgánicos no polares son un caso típico: presentan una baja afinidad con las arcillas. Pero tan pronto la superficie de arcillas este cubierta por estos compuestos, otras moléculas orgánicas son adsorbidas con mayor facilidad. Este fenómeno es llamado "adsorción cooperativa" y también se observa para las sustancias tensioactivas (Limousin *et al.*, 2007). La curva "L" de Langmuir es la más generalizada

en el caso de la adsorción de colorantes compuestos de agua, y se caracteriza por una región inicial, que es cóncava al eje de concentración. También sugiere que no hay una fuerte competencia entre el adsorbato y el disolvente para ocupar los sitios de adsorción. Sin embargo, la curva "H" presenta una alta afinidad de adsorción a concentraciones bajas, dando intercepción evidente en la ordenada (Gimbert *et al.*, 2008).

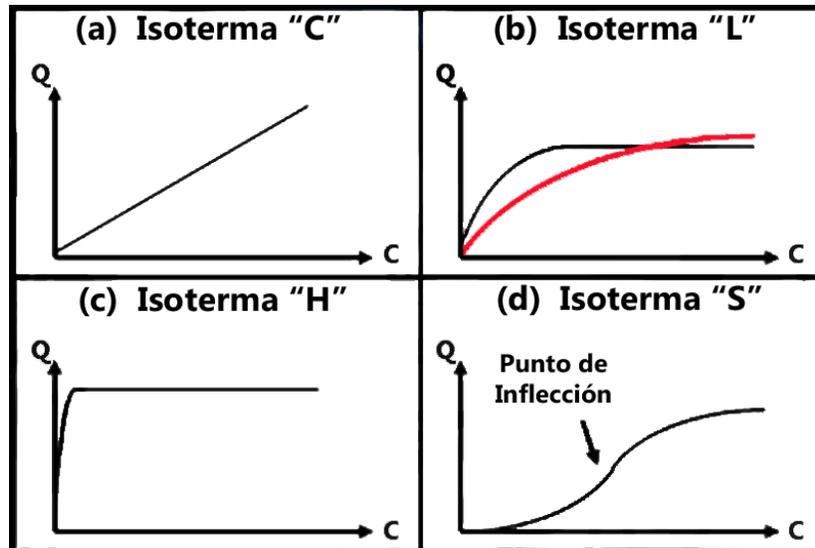


Figura 8. Los 4 tipos de isothermas Según Giles *et al.*, 1974

#### 1.4.1 MODELOS DE ADSORCIÓN.

Existen varios modelos para el análisis de datos de isothermas experimentales y para describir el equilibrio de adsorción, incluidos los de Langmuir, Freundlich, Toth, y Temppkin, Redlich-Peterson. Por lo que hay múltiples ecuaciones para isothermas que han sido propuestas para los modelos de adsorción en soluciones acuosas, de compuestos a superficies sólidas. Estas ecuaciones contienen variables similares y difieren principalmente en el ordenamiento de estas (Cuadro 4). La diferencia de los parámetros en las ecuaciones y las hipótesis termodinámicas subyacentes de estos modelos suelen dar una idea de los mecanismos de adsorción, las propiedades superficiales y la afinidad del adsorbente. Sin embargo, las dos ecuaciones frecuentemente aplicadas en los sistemas sólido/líquido para describir las isothermas de adsorción son los modelos de Lagmuir y Frenlundlich, que se utilizan comúnmente

para la adsorción de colorantes en biopolímeros, aunque estos modelos fueron desarrollados inicialmente para el modelo de adsorción de solutos de gas en las superficies metálicas, y se basa en la hipótesis de adsorción física (Gimbert *et al.*, 2008).

**Cuadro 4.** Los diferentes modelos de isotermales.

Isoterma	Ecuación
Modelo de Langmuir	$q = Q_{\max} \left( \frac{K_d C_0}{1 + K_d C_0} \right)$
Modelo Langmuir-Freundlich	$q = Q_{\max} \left( \frac{(K_d C_0)^n}{1 + (K_d C_0)^n} \right)$
Transformado Linewear-Burk	$C_0 / q = (1 / K_d Q_{\max}) + (1 / Q_{\max}) C_0$
Modelo generalizado de Freundlich	$q = Q_{\max} \left( \frac{(K_d C_0)}{1 + (K_d C_0)} \right)^n$
Modelo Toth	$q = Q_{\max} \left( \frac{(K_d C_0)}{1 + (K_d C_0)^n} \right)^{1/n}$

### 1.4.2 EL MODELO DE LANGMUIR.

Uno de los modelos más utilizados para describir la adsorción de solutos en superficie es el modelo de Langmuir, basado en la hipótesis de adsorción física. La cual asume que el sólido tiene un límite de capacidad de adsorción  $Q_{max}$ , así como la afinidad ( $K_d$ ) constante de distribución, dadas las siguientes hipótesis:

- Adsorción en monocapa (una capa adsorbida es del espesor de una molécula);
- la adsorción tiene lugar en sitios homogéneos específicos dentro del adsorbente;
- un sitio es ocupado una vez por adsorbato, y no se puede llevar a cabo otra adsorción por este sitio;
- la energía de adsorción es constante y no depende del grado de ocupación de los centros activos del adsorbente;
- la intensidad de las fuerzas de atracción moleculares se cree, que disminuyen rápidamente con la distancia;
- el adsorbente tiene una capacidad finita para el adsorbato (en el equilibrio, el punto de saturación es alcanzado cuando ninguna otra adsorción puede ocurrir);
- todos los sitios son idénticos y energéticamente equivalentes;
- el adsorbente es estructuralmente homogéneo;
- no hay interacción entre las moléculas adsorbidas en los sitios vecinos.

La ecuación de Lagmuir (Figura 9) donde  $q$  es la concentración de la fase adsorbida (mol/Kg)  $Q_{max}$  es la capacidad máxima de adsorción (mol/kg),  $K_d$  es la constante de distribución,  $C_w$  es la concentración de equilibrio de la fase.

$$C_0 / q = \left( K_d Q_{max} \right) + \left( Q_{max} \right) \left( C_0 \right)^{-1}$$

Figura 9. Ecuación lineal de Lagmuir

La ecuación se genera a partir de la ecuación General del Equilibrio Químico expresada en la ecuación 1

$$K_C = \frac{F^c P^a}{A^a B^b} \tag{1}$$

En el caso de la adsorción de compuestos orgánicos ( $C_o$ ) en aluminosilicatos (Al) se expresa en términos de equilibrio, en la ecuación 2



Donde  $C_oAl$  es la fracción de compuesto orgánico adsorbida en el aluminosilicato. La constante de Equilibrio Químico para este fenómeno de adsorción se muestra en la ecuación

$$K = \frac{[C_oAl]}{[C_o][Al]} \quad (3)$$

Reordenando tenemos que la concentración total de compuesto orgánico unida al polímetro en equilibrio es:

$$K[C_o] = \frac{[C_oAl]}{[Al]} \quad (4)$$

Lo cual nos permite definir  $q_e$  como la concentración máxima de adsorción de compuesto orgánico sobre el aluminosilicato

$$q_e = K[C_o] \quad (5)$$

Y considerando que los sitios de unión son idénticos e independientes, para un número máximo  $Q_{max}$  de sitios, se puede demostrar lo siguiente:

$$q_e = \frac{Q_{max}K[C_o]}{1+K[C_o]} \quad (6)$$

La ecuación anterior fue derivada por primera vez por Langmuir, para la adsorción de gases en sólidos (Tinoco, 1988), sin embargo, experimentalmente se ha demostrado que describe adecuadamente el fenómeno de adsorción de compuestos orgánicos (Grant y Phillips, 1998; Flores et al., 1999)

Una de las soluciones gráficas que se han dado para este equilibrio de adsorción es la linealización de Lineweaver-Burk, la cual consiste en obtener los recíprocos de ambos lados de la ecuación

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1+K[C_0]}{Q_{max}K [C_0]} \quad (7)$$

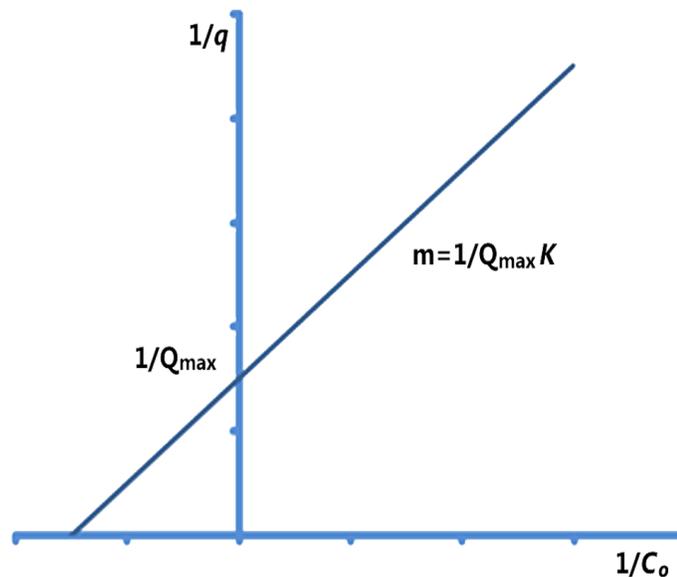
Reordenando la ecuación tenemos la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{Q_{max}K} \frac{1}{C_0} + \frac{1}{Q_{max}} \quad (8)$$

La cual es una de las formas lineales del equilibrio de adsorción. Gráficamente, se pueden resolver los parámetros de adsorción para este equilibrio graficando

$$\frac{1}{q_e} \text{ vs } \frac{1}{C_0} \quad (9)$$

La ecuación se puede relacionar con una gráfica del siguiente tipo:



**Figura. 9** Linealización de Lineweaver-Burk.

Donde la ordenada al origen ( $1/Q_{max}$ ) es el inverso del número total de sitios de unión y la pendiente es ( $m=1/Q_{max}K$ ) es el inverso del producto de la constante de adsorción y el número total de sitios de unión.

## 2. ANTECEDENTES

Por más de 20 años se ha estudiado la aplicación de materiales adsorbentes siendo los aluminosilicatos los más utilizados en dietas de alimento para animales debido a que no causan problemas digestivos al mezclarse con alimento contaminado y no dejan residuos, ya que no son adsorbidos en ningún proceso digestivo (Cevallos *et al.*, 2007). Investigaciones y estudios *in vivo* e *in vitro*, tales como los de Lindemann *et al.* (1993), Flores *et al.* (1999), Schall *et al.* (2000) Huwig *et al.* (2001) entre otros, han demostrado que zeolita y la bentonita son materiales complejos de una familia ampliamente diversa de aluminosilicatos con propiedades funcionales capaces de adsorber micotoxinas tales como aflatoxina, ocratoxina, zeralenona y siendo poco eficaces para deoxynivalenol, nivalenol y T-2. En el 2009 Dakovic *et al.* realizaron un estudio para la adsorción de la toxina T-2 con hectorita utilizando diferentes pH. Los resultados de adsorción máxima de la toxina T-2 se realizaron utilizando el modelo de Lagmuir, indicando que la adsorción de toxina T-2 con hectorita es dependiente del pH. Mostrando que la hectorita posee determinados sitios activos para la adsorción de T-2. Por otro lado, el estudio realizado por Huwing *et al.* (2001), menciona que la eficiencia de adsorción va a depender principalmente de la estructura química tanto de él adsorbente como el de la micotoxina. De igual manera un estudio realizado con bentonitas por Papaioannou *et al.* 2005 y Magnoli *et al.* en el 2008 señalan que deben tomarse en cuenta la composición mineral, la estructura y propiedades físicas (la carga total y distribución de carga, el tamaño del poro, la superficie de área accesible, etc.) y también considerar las propiedades físico químicas de la micotoxina (polaridad, solubilidad, forma, distribución de cargas, constante de disociación, etc.).

Garcia *et al.* en el 2003 evaluaron la capacidad de dos adsorbentes comerciales empleados para reducir la toxicidad de dietas de pollos engorde que tienen granos contaminados con las toxinas ocratoxina y T-2. Los estudios de adsorción *in vivo* no contrarrestaron los efectos tóxicos de ocratoxina y sólo uno de los adsorbentes contrarresto parcialmente los efectos tóxicos de la toxina T-2. En el mismo año

Tomašević-Čanović *et al.* realizaron un estudio *in vitro* de adsorción de micotoxinas con zeolitas naturales modificadas con diferentes cantidades de cloruro octadecilmetilbencil amonio (Do) y cloruro de dioctadecildimetil amonio (Pr). La modificación de organozeolita (OZs) se realizó por medio de dos procesos: seco y húmedo.

Obteniendo como resultado una adsorción máxima de micotoxinas por la modificación de zeolitas con Pr y Do. Posteriormente junto con Dakovic *et al* en los años 2005 y 2007 realizan estudios semejantes acerca de la adsorción de micotoxinas por organosilicatos. Demostrando que la zeolita modificada con diferentes cantidades de cloruro de octadecilmetilbencil amonio es efectiva en la adsorción de las micotoxinas ionizables (ZEA y OTA). Los datos del experimento concordaron con los cálculos de los momentos dipolares de las moléculas neutras de micotoxinas, dichos resultados indican que los diferentes índices de adsorción por ZEA, OTA y AFB1 están relacionados con los diferentes grupos funcionales y difieren de las formas de sus moléculas, sugiriendo que las propiedades físicas y químicas de las micotoxinas influyen en la adsorción en los minerales. Las investigaciones realizadas por Dakovic *et al.* en el 2007, 2008 y 2009 demuestran que el tratamiento químico de filosilicatos bentonitas y zeolitas con cationes orgánicos de cadena larga, tales como: el cetilperidimina (CP), hexadecildimetilamonio (HDTMA) y octadecil dimetil bencil amonio (ODMBA) los resultados aumentan la hidrofobicidad de la superficie del material, proporcionando una alta afinidad por las moléculas orgánicas hidrofóbicas, tales como la mayoría de las micotoxinas.

### **3. JUSTIFICACIÓN.**

De acuerdo a los estudios realizados que consideran la contaminación que se presenta en los de granos y alimentos balanceados, lo cual trae como consecuencia grandes pérdidas económicas, y principalmente genera un gran riesgo de salud pública, y a los estudios realizados sobre la capacidad de adsorción de micotoxinas tales como AFB1, ZEA, OTA mediante aluminosilicatos y organoaluminosilicatos, y considerando que en la actualidad han sido pocos los estudios que se enfocan a reducir a los tricoticeños que se presentan con mayor frecuencia, tales como la toxina T-2; En el presente trabajo se evalúa el efecto de la modificación química y estructural de un aluminosilicatos sobre la capacidad de adsorción de la toxina T-2.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL:**

- Modificar químicamente la estructura de los aluminosilicatos (bentonita y zeolita) para incrementar la capacidad de adsorción de la toxina T-2.

### **4.2 OBJETIVOS PARTICULARES:**

- Reconocer las condiciones óptimas de modificación química.
- Modificar las propiedades superficiales de los aluminosilicatos mediante la sustitución con cationes orgánicos.
- Determinar los parámetros de constante de adsorción y el número de sitios disponibles para la toxina T-2 en los diferentes tratamientos mediante el modelo de equilibrio de adsorción en sólidos de Langmuir.
- Determinar la estabilidad de la adsorción de la toxina T-2.
- Analizar la adsorción de T2 mediante modelos isotermales de adsorción al equilibrio en sólidos.

## **5. MATERIALES Y METODOS**

### **5.1 Purificación y preparación de aluminosilicatos (bentonita y zeolita).**

Las muestras de zeolitas y bentonitas fueron obtenidas de depósitos naturales ubicados en el Altiplano Mexicano. Las muestras se pulverizaron mediante un molino de rodillos y se tamizaron con una malla de 200  $\mu\text{m}$  de apertura de poro para ser utilizados en la adsorción de la micotoxina T-2

#### **5.1.1 Homoionización con Sodio $\text{Na}^+$ .**

Para la obtención de los materiales homoionizados se suspendieron 30g de aluminosilicatos en su forma natural en 500 ml de una solución de 1M de NaCl se colocaron en agitación mecánica horizontal constante durante 24 hrs. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante fue remplazado por una solución nueva de NaCl 1M. Este procedimiento se realizó 3 veces continuas seguido de 3 lavados con 500 ml de agua destilada, de esta forma se eliminó el exceso de Cl. Finalmente los aluminosilicatos sódicos obtenidos fueron secados a 60°C durante 24 hrs. Posteriormente fueron pulverizados y almacenados para los análisis posteriores.

#### **5.1.2 Modificación química de aluminosilicatos.**

Para la modificación química de los aluminosilicatos se utilizó el catión orgánico cloruro de octadecildimetilbencil amonio al 80% y se emplearon dos procedimientos:

1.-El proceso de modificación húmeda.- Se pesaron 10 g de zeolita y de bentonita homoionizadas por separado y a cada uno se le agregó 100 ml de agua destilada y 0.08 g de cloruro de octadecildimetilbencil amonio, quedando a una concentración del 0.8% realizándose en condiciones controladas a una temperatura 25°C con una velocidad de agitación de 500 rpm y durante un tiempo de reacción de 10 min. Una vez finalizada la reacción la suspensión se centrifugo a y se seco 60°C.

2.-El proceso de modificación seca.- Se pesaron 10g de zeolita y 10 g bentonita por separado y a cada uno se le agrego 100 µg del catión orgánico cloruro de octadecildimetilbencil amonio al 80% (ODMBA) en su forma solida y fueron molidas en un mortero hasta obtener una forma pulverizada quedando a una concentración del 0.8%.

### 5.1.3 Morfología y composición elemental.

Los análisis químicos se realizaron con fracciones obtenidas de cada una de los tratamientos de aluminosilicatos determinando la morfología y composición de la superficie mediante imágenes tomadas por microscopia electrónica de barrido JEOLJSM-6380 modelo 7582 con accesorio de rayos X EDS InCA x-sight Oxford Instruments. Con barrido de 3 campos distintos de muestra con los siguientes parámetros: voltaje mínimo 15 kV, aumento de 30 a 6500 X y distancia de trabajo 10 mm.

### 5.1.4 Adsorbentes.

En la Tabla 1 se muestran los tipos de zeolita y bentonita obtenidos de acuerdo al tratamiento efectuado, los cuales fueron empleados para los análisis químicos y de adsorción de Toxina T2.

**Tabla 1.** Clasificación de las muestras de zeolita y bentonita de acuerdo al tratamiento.

ZEOLITA	BENTONITA
1. Natural <b>(ZN)</b>	1. Natural <b>(BN)</b>
2. Homoionizada <b>(ZH)</b>	2. Homoionizada <b>(BH)</b>
3. Modificación húmeda <b>(ZMH)</b>	3. Modificación húmeda <b>(BMH)</b>
4. Modificación seca <b>(ZMS)</b>	4. Modificación seca <b>(BMS)</b>

## **5.2 Capacidad de intercambió catiónico (CIC) por adsorción de Azul de Metileno.**

Para determinar las propiedades de los adsorbentes bentonita y zeolita en las diferentes etapas, se realizó un ensayo de adsorción de azul de metileno. Se elaboro una solución stock de azul de metileno diluido en agua para obtener una concentración de  $25 \text{ mg L}^{-1}$ , la cual se utilizó para realizar una curva patrón con concentraciones de 1.76, 3.52, 5.28, 7.04, 8.80, 12.32, 15.840, 19.36 y 22.88  $\mu\text{M}$  y se hicieron los registros de absorbancia antes de aplicar el adsorbente. Las concentraciones fueron medidas en un Espectrometro UV-Vis Perkin Elmer modelo Lamnda 2S y una celda analítica de cuarzo de 1cm de diámetro espesor, a una longitud de onda de 665 nm, utilizando como blanco una solución sin azul de metileno. Posteriormente se les agregó 0.1 ml de la solución con el adsorbente ( $0.25 \text{ gL}^{-1}$ ) a cada uno de los tubos, se agitaron vigorosamente y se dejaron en reposo 15 min. Después se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min y se midió el sobrenadante a la longitud de onda antes mencionada. Finalmente se hizo el análisis de datos para obtener los valores de CIC por azul de metileno y también se aplicó la ecuación isotermal, en cada una de las formas de los aluminosilicatos.

## **5.3 Mezcla de adsorción *in vitro* de toxina T-2.**

Para los ensayos de adsorción *in vitro* se preparó un stock de la toxina T-2 a 8.2 nM ( $1000 \text{ mgL}^{-1}$ ) en metanol. Posteriormente se preparó la mezcla de adsorción en tubos de polipropileno a los cuales se les adicionaron 3 mg de cada una de las diferentes muestras de adsorbentes por separado, tanto de zeolita y bentonita (natural, tamizada, homoionizada, modificación húmeda y modificación en seco) obteniéndose una suspensión de cada uno de los materiales a una concentración de 0.3% con 10 ppm de toxina T-2 con buffer de fosfatos 25 mM a pH 7 en un volumen final de 1 ml en cada una de las muestras. Una vez formada la mezcla de adsorción se incubó durante 60 min. a  $41^{\circ}\text{C}$  en una incubadora con agitación mecánica horizontal. Al finalizar el periodo de incubación se centrifugo en una microcentrifuga a 14,000 rpm durante 3 minutos.

### **5.3.1 Derivatización de la toxina T-2.**

La derivatización de la Toxina T2 se realizó de acuerdo a la publicación de Tanaka *et al*, 2000. Se prepararon 100 $\mu$ L de la mezcla de Trimetilsililimidazol (TMSI) y Trimetilclorosilano (TMCS) (6:2), y se adicionaron 20 $\mu$ L a cada uno de las tubos que contenían 50 $\mu$ L de la mezcla de adsorción, se dejó reposar 15 min a temperatura ambiente agitando cada 3 min. Posteriormente, se adicionaron 100  $\mu$ L de tolueno y 100 $\mu$ L de agua desionizada, se agitó en el vortex durante 30 segundos y finalmente se dejó en reposo hasta la separación de las fases. La fase orgánica fue empleada para el análisis de la Toxina T2 derivatizada en Cromatografía de Gases acoplado al Espectrómetro de Masas.

### **4.4 Análisis cromatográfico.**

Para el análisis se utilizó un cromatografo de gases (modelo 6850 Agilent Technologies) acoplado a un espectrofotometro de masas (5975C Agilent Technologies) con una columna capilar (HP-5MS, longitud 30 m con un diámetro de 250  $\mu$ m, 0.25  $\mu$ M de película), se realizó inyección manual modo splitless. La temperatura inicial de la columna fue de 120 °C durante 2 min, con dos rampas de calentamiento la primera de 8°C/ min hasta 270 °C y la segunda rampa de 10 °C /min hasta 290°C y se mantenía así durante 3 min. El gas acarreador fue helio con un flujo constante de 1.2 ml/min. La temperatura del inyector fue de 270°C. Para el espectrofotómetro de masas se empleo ionización por impacto electrónico a 69.92 eV, la temperatura de la fuente de ionización a 230°C y la temperatura del cuádrupolo a 150°C.

## 5.5 Isotermas de adsorción

El modelo de Langmuir se aplicó a los datos de concentración de azul de metileno y de micotoxina T-2 residual para calcular la constante de equilibrio en la isoterma de adsorción, en el cual se determina el efecto de las concentraciones crecientes de la micotoxina T-2 sobre la capacidad de adsorción en las diferentes muestras de aluminosilicatos. Para determinar los parámetros de adsorción se utilizó el modelo de Lineweaver-Burk obteniendo la constante de afinidad para la toxina T-2 y el número total de sitios de unión.

### 5.5.1 Aplicación del modelo de Langmuir.

Los datos de adsorción de azul de metileno y de la micotoxina T-2 se analizaron mediante el modelo de Langmuir, el cual se expresa con la siguiente ecuación (Giles *et al.*, 1974):

$$C_0 / q = (1 / K_d Q_{\max}) + (1 / Q_{\max}) C_0$$

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

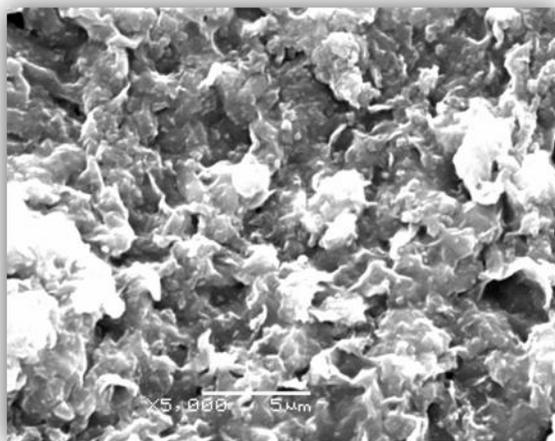
### 6.1 Morfología y composición de aluminosilicatos.

Cada uno de los tratamientos de aluminosilicatos fueron caracterizados por el análisis de fluorescencia de Rayos X, mostrando la composición química de la superficie de los materiales (Tabla 2). También se aprecia que  $\text{SiO}_2$  y  $\text{Al}_2\text{O}_3$  son los constituyentes más abundantes y que no difieren significativamente en la cantidad (w%) en cualquiera de los tratamientos utilizados y que presentan otros óxidos en cantidades más pequeñas. Dakovic *et al.*, 2009 presenta cantidades (w%) similares en un tipo diferente de bentonita (hectorita), de igual manera García *et al.*, 2003 menciona a estos elementos como constituyentes principales en la heulandita-clinoptilolita. Sin embargo, no observa un cambio significativo en la cantidad de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en uno de sus tratamientos al aplicar NaCl, mencionando que por lo tanto no hay diferencia en la estructura cristalina de heulandita-clinoptilolita, en contraste, en las muestras analizadas en este estudio, la homoionización (BH y ZH) muestra que si existe una diferencia en la cantidad (w%) de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  al ser comparada con la natural.

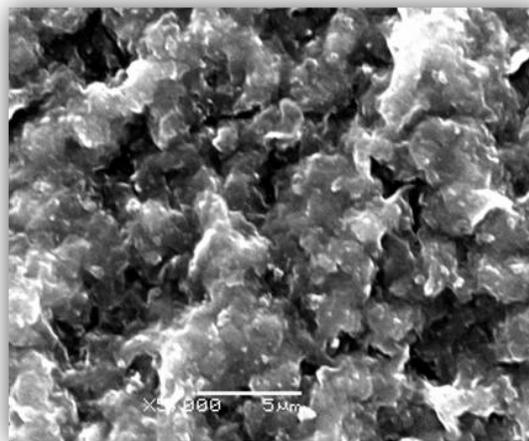
**Tabla 2.** Composición química de los aluminosilicatos en las diferentes formas utilizadas (w%).

Material		$\text{SiO}_2$	$\text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{Na}_2\text{O}$	CaO	MgO	$\text{CO}_2$
ZEOLITA	Natural	27.57	4.57	0.25	1.29	0.45	7.34
	Homoionizada	25.96	6.21	2.25	0.47	1.41	6.67
	Modificación húmeda	29.785	6.665	1.43	0.505	1.505	4.435
	Modificación seca	21.62	5.83	0.65	1.18	1.02	8.38
BENTONITA	Natural	32.1	6.35	0.22	1.62	0.4	2.73
	Homoionizada	27.37	6.57	2.85	0.4	1.67	5.42
	Modificación húmeda	28.26	6.44	1.32	0.56	1.56	6.03
	Modificación seca	22.6	6.62	1.52	1.23	1.65	8.45

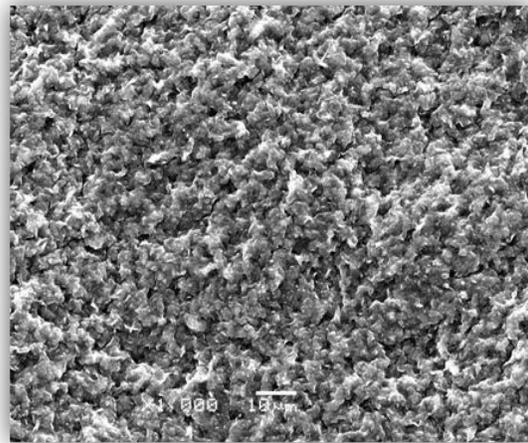
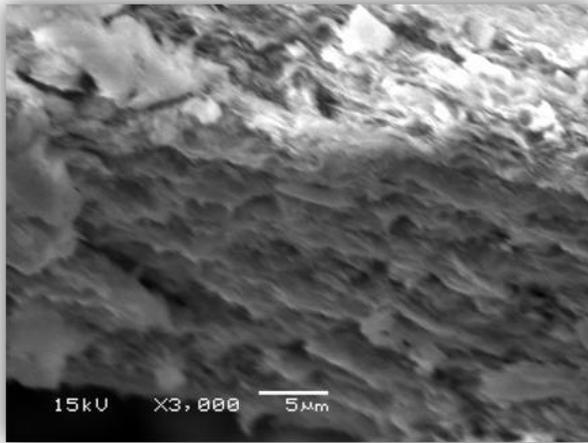
Por otro lado, se realizó una comparación en la morfología de superficie de las diferentes formas de tratamiento de aluminosilicatos con las imágenes tomadas por microscopía electrónica de barrido. Las imágenes tomadas de bentonita natural (Figura 10) comparadas con las imágenes de bentonita modificada seco (Figura 12) muestran claramente una diferencia en la estructura del arreglo laminar de las capas subyacentes teniendo una tenue separación entre ellas haciéndola más porosa, lo cual permite la exposición de una gran superficie específica incrementando la capacidad de adsorción debido a la presencia las cargas disponibles del material (Flores *et al.*, 1999) lo cual, no se logra apreciar claramente en la modificación húmeda (Figura 13), sin embargo, se ve un recubrimiento en su estructura, por la disponibilidad de cargas es posible que sea el catión orgánico adherido. Por otro lado, se observa un mayor brillo en la estructura de bentonita homoionizada (Figura 11), debido a la cantidad presente de átomos de  $\text{Na}^+$ , ya que la luz emitida por la energía de los electrones del haz incidente se intensifica comparada con bentonita natural que presenta menor cantidad de átomo de  $\text{Na}^+$  donde la energía de los electrones del haz incidente es menor. También se aprecia el recubrimiento sódico en la estructura, ya que el cambio iónico modifica la superficie sólida de la monocapa de bentonita, lo que concuerda con lo obtenido por Lazo *et al.*, 2008.



**Fig. 10** Micrografía electrónica de barrido de BN.



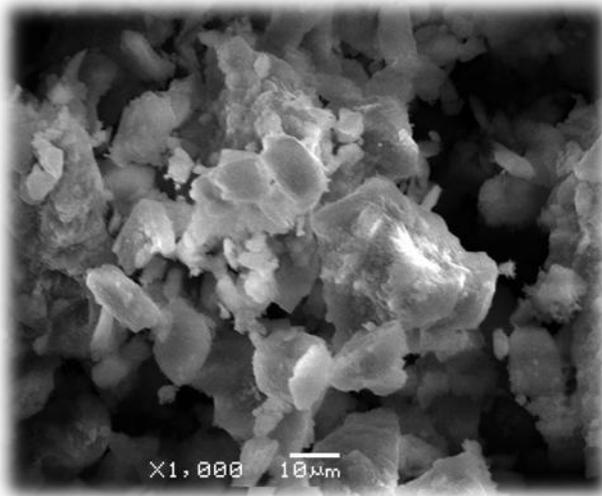
**Fig. 11** Micrografía electrónica de barrido de BH.



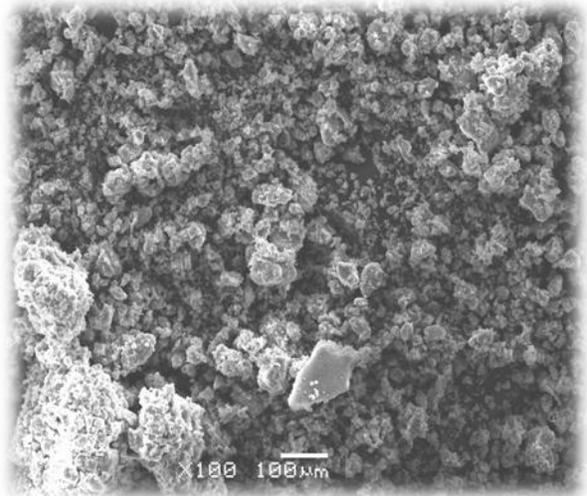
**Fig.12** Micrografía electrónica de barrido de BMS.

**Fig.13** Micrografía electrónica de barrido de BMH.

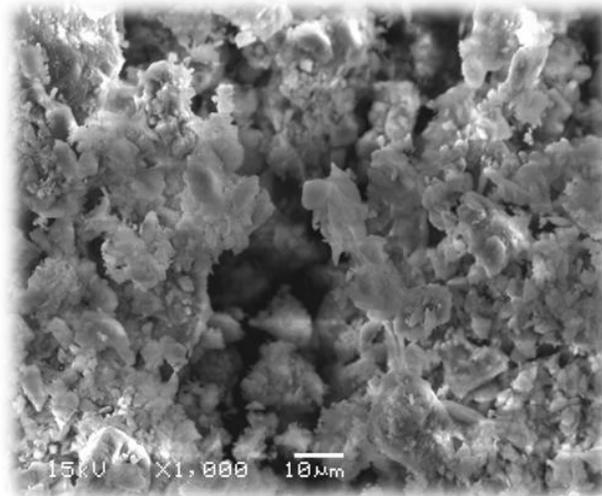
En la micrografía electrónica de zeolita natural (Fig.14) se observa una morfología más detallada de la red cristalina con una estructura porosa, con poros que corren en forma perpendicular uno del otro, en comparación con la modificación seca y húmeda en zeolita (Fig.16 y Fig. 17) donde la porosidad en la estructura no se observa con claridad debido a que la mayoría de zeolitas no son perfectamente cristalinas y pueden exhibir mesoporosidad ( $2 < 50 \text{ nm}$ ) y consecuentemente presentan áreas externas mucho más altas que sus áreas geométricas aparentes (Corona *et al.*, 2009 ). Sin embargo, se aprecia que la cantidad de recubrimiento que presenta la modificación seca es mayor que la húmeda, esto puede deberse a que hay mayor cantidad de catión orgánico. Por otro lado, al igual que en bentonita la hominización realizada en zeolita (Fig. 15) genera un cambio en la morfología de su estructura, observando principalmente el recubrimiento sódico comparada con la zeolita natural (Fig. 14).



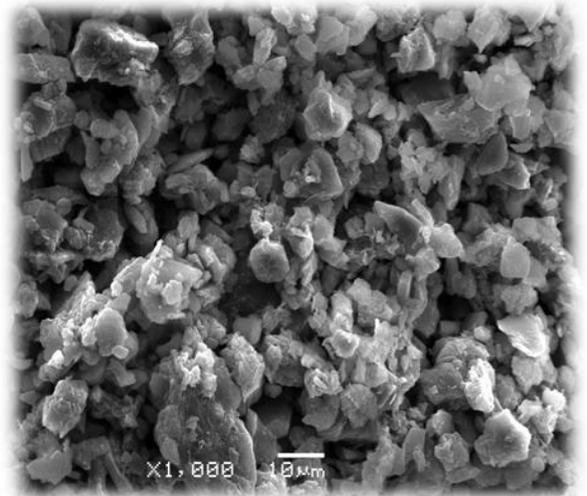
**Fig. 14** Micrografía electrónica de barrido de ZN.



**Fig. 15** Micrografía electrónica de barrido de ZH.



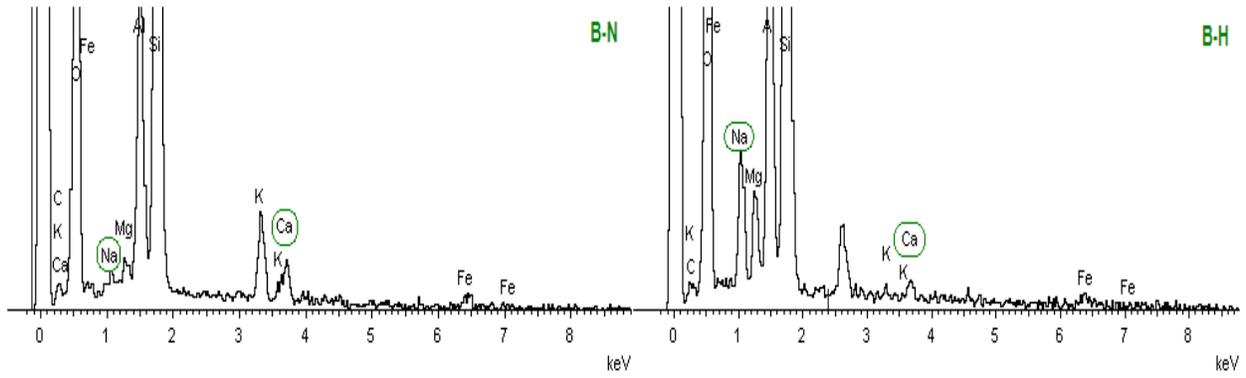
**Fig. 16** Micrografía electrónica de barrido de ZMS



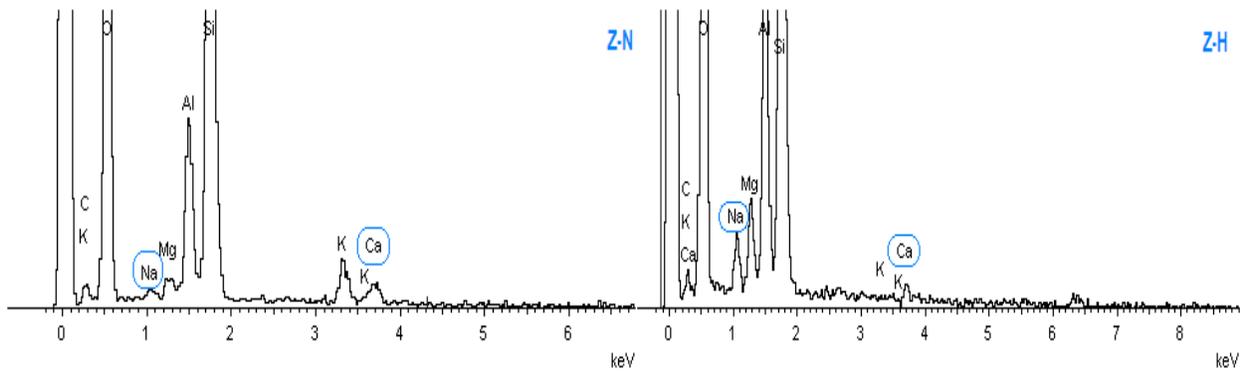
**Fig.17** Micrografía electrónica de barrido de ZMH.

## 6.2 Homoionización a Na<sup>+</sup>.

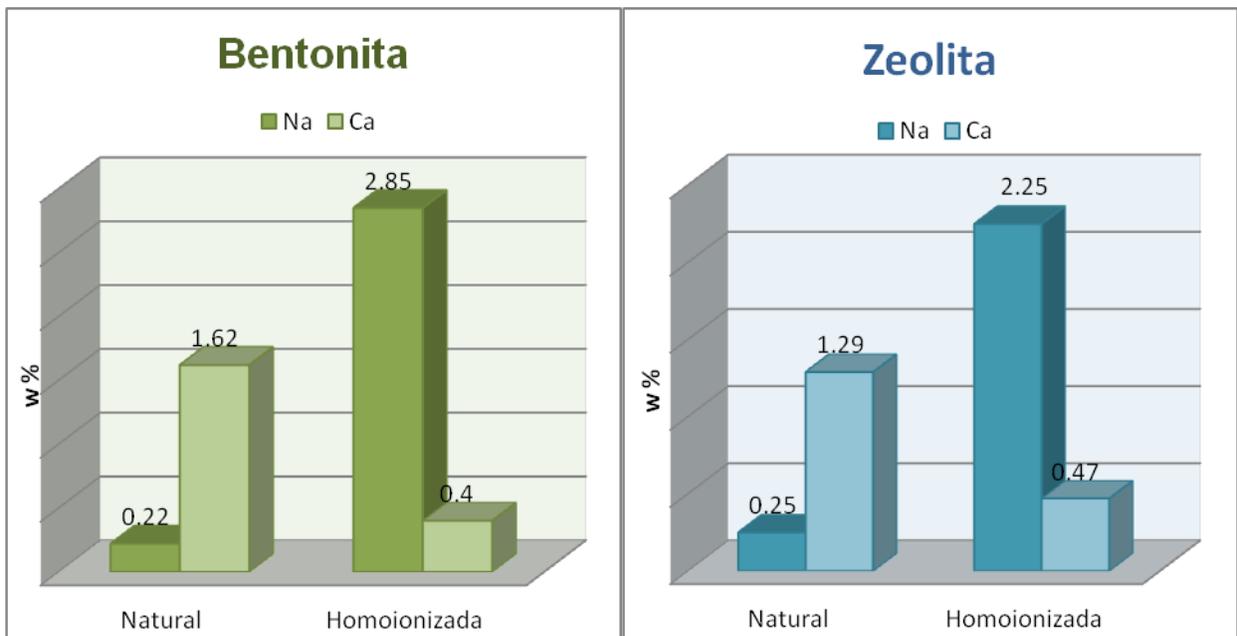
En los espectros (Figura 19 y Figura 20) los picos de difracción correspondientes Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>, muestran que la cantidad (w) % de Na<sup>+</sup> aumenta en los aluminosilicatos homoinizados BH y ZH en comparación con BN y ZN, por lo que presentan una modificación en la composición química de la superficie en los aluminosilicatos de acuerdo a su forma natural. Debido a las propiedades que estos presentan, pueden ser modificados por un simple cambio de iones con cationes (Dakovic *et al.*, 2003). La disminución de Ca<sup>2+</sup> y el aumento considerable del Na<sup>+</sup> se hace más notable cuando el material fue tratado con NaCl, este aumento es debido al intercambio de los cationes del material con los iones de Na<sup>+</sup>. Dicho comportamiento es el esperado debido al proceso de intercambio iónico, ya que debido a su composición química los aluminosilicatos presentan unidades de Si<sup>4+</sup> que son eléctricamente neutras, pero las unidades de Al<sup>3+</sup> generan una deficiencia de carga positiva en sus estructuras, esta carga eléctrica negativa es compensada por cationes inorgánicos como el Na<sup>+</sup>. Esta modificación incrementa la exposición de sitios nuevos de adsorción (Daković *et al.*, 2003 y García *et al.*, 2003). Los resultados de este proceso se muestran en la gráfica 2, en el cual se aprecia el aumento al doble de los iones intercambiables Na<sup>+</sup> de 0.22 a 2.85 y 0.25 a 2.25 en los aluminosilicatos bentonita y zeolita respectivamente, incrementando su capacidad de intercambio catiónico (Tabla 3) y de esta forma hace más eficiente el intercambio por los cationes de ODMBA. A medida que los cationes inorgánicos son sustituidos por los cationes orgánicos, las propiedades superficiales de los aluminosilicatos cambian considerablemente de hidrófilico a cada vez más hidrofóbico, generando un adsorbente que se une a compuestos orgánicos no polares (Dakovic *et al.*, 2005).



**Figura 18.** Comparación de los espectros de fluorescencia de rayos X de B-N y BH, considerando los cationes  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ .



**Figura 19.** Comparación de los espectros de fluorescencia de rayos X de Z-N y ZH, considerando los cationes  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ .



**Gráfica 2.** Comparación de BN con BH y ZN con ZH en composición de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ .

### 6.3 Capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) por adsorción de Azul de Metileno.

La adsorción es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapados o retenidos en la superficie de un material. Existen diferentes métodos para determinar las propiedades adsorbentes de los aluminosilicatos. Una de las técnicas más utilizadas es el índice de azul de metileno, ya que es un ensayo de decoloración que indica la capacidad de un sólido poroso de adsorber una molécula que, por su tamaño no puede acceder a todos los microporos (Giraldo *et al.*, 2007). La molécula de azul de metileno (AM)  $C_{16}H_{18}ClN_3S \times H_2O$  o ion 3,7 bis (dimetilamino) fenazationio cloruro (Figura 20) tiene un peso molecular de 319 g/mol, punto de fusión 180 °C, tamaño de 0.84 nm aprox. y presenta cargas positivas, esta aumenta en las soluciones acuosas, siendo una molécula muy polar.

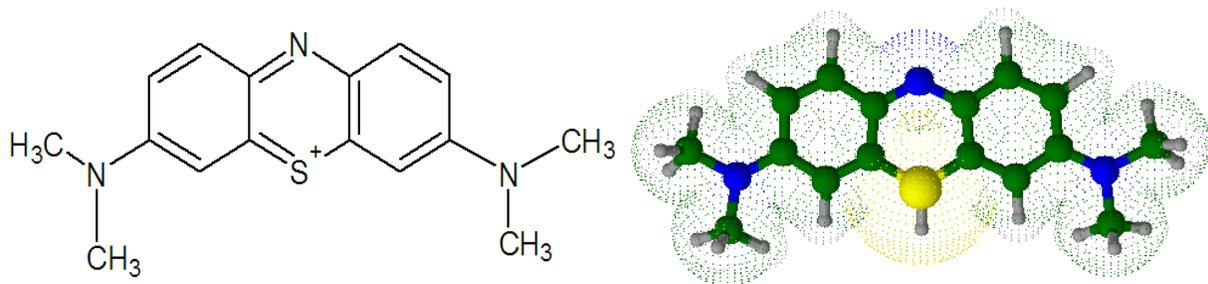


Figura 20. Estructura química de azul de metileno.

En la tabla 3 se muestran los resultados de la CIC de los diferentes tratamientos con AM, se observa que BN es el material con mayor C.I.C. con 0.698 meq/g, este resultado es similar al estudio que realizó Dakovic *et al.* en el 2009 con hectorita 0.892 meq/g. Por otro lado, Castaing, 1998 menciona que las zeolitas naturales de tipo clinoptilonita son las más comunes en el mercado de alimentación animal y alcanzan valores de 2 meq/g. De la misma forma Tomasevic'- Canovic' en el 2003 menciona en zeolita clinoptilonita-heulandita tiene una CIC total de 1.45 meq/g, lo cual no concuerda con lo encontrado en los tratamientos utilizados para el zeolita, ya que el valor máximo encontrado es 0.578 meq/g en ZMH.

**Tabla 3.** Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) de los diferentes tratamientos utilizados

Material		meq/g
Bentonita	Natural	0.698
	Homoionizada Na	0.562
	Modificada Húmeda	0.586
	Modificada Seca	0.371
Zeolita	Natural	0.160
	Homoionizada Na	0.431
	Modificada Húmeda	0.578
	Modificada Seca	0.125

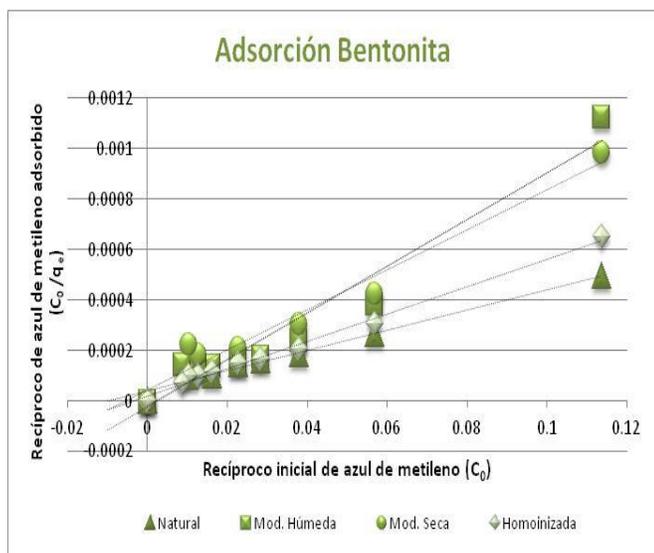
#### 6.4 Isotermas de adsorción de azul de metileno (AM).

Las isotermas de adsorción de azul de metileno es una técnica utilizada para deducir el área superficial a partir de la adsorción en equilibrio bajo condiciones isotérmicas, aplicando generalmente el modelo de Langmuir. Los resultados obtenidos se ajustaron a la isoterma lineal y se obtuvieron buenos coeficientes de correlación de  $r^2$ , tanto para bentonita como para zeolita, lo cual indica que la adsorción de AM sobre los aluminosilicatos en sus diferentes tratamientos se ajusta al comportamiento isoterma de Langmuir. Las constantes de Langmuir fueron calculadas a partir de las isotermas que se muestran en las gráficas 3 y 4. La tabla 4 muestra los datos obtenidos de las isotermas lineales.

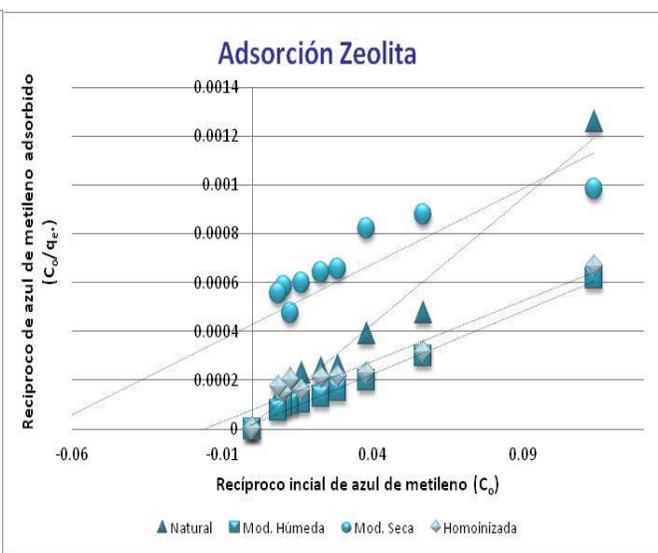
**Tabla 4.** Parámetros de la adsorción de azul de metileno en los diferentes tratamientos utilizados en zeolita y bentonita.

	Material	Pendiente	Ordenada	$Q_{max}$	$K_d$	$R^2$	% adsorción
Bentonita	Natural	0.004	0.00004	25,000	0.0100	0.9797	58.25
	Homoionizada	0.0054	0.00002	50,000	0.0370	0.9921	61.77
	Modificada Húmeda	0.005	0.00007	20,000	0.7140	0.9	69.55
	Modificada Seca	0.0074	0.00008	12,500	0.0180	0.9095	52.66
Zeolita	Natural	0.0103	0.00002	50,000	0.0019	0.9681	58.25
	Homoionizada	0.0047	0.0001	10,000	0.0270	0.9536	51.84
	Modificada Húmeda	0.0051	0.00003	33,333	0.0058	0.9937	68.26
	Modificada Seca	0.0046	0.00005	2,000	0.1086	0.8267	98.90

En la tabla 4 se muestran que bentonita y zeolita en su forma natural tienen valores de 25,000 y 50,000 en cuanto al número de sitios disponibles ( $Q_{max}$ ), estos valores son mayores comparando con las modificaciones en húmedo que presentan valores de 2,000 y 33,333, también las modificaciones en seco se reducen a 12,500 y 2,000, respectivamente. Respecto a las constantes de adsorción (K) de bentonita y zeolita en su forma natural muestran valores de 0.01 y 0.0019, en comparación con las modificaciones la afinidad que presenta el adsorbente disminuye, 0.108 para zeolita modificación seca y 0.714 bentonita modificación húmeda, sin embargo los valores de bentonita modificación seca 0.018 y zeolita modificación húmeda 0.0058 no muestran una disminución considerable en la afinidad de adsorción en comparación con valores en sus formas naturales, por lo que la disminución de la afinidad del adsorbente depende del tipo de modificación utilizada (húmedo ó seco) así como del aluminosilicatos. Finalmente los resultados muestran que las formas de modificación realizadas disminuyen la capacidad de adsorción en las moléculas de azul de metileno, esto se debe al cambio de polaridad que ocurre al agregar el catión orgánico ODMBA. A medida que los cationes inorgánicos son sustituidos por los cationes orgánicos, las propiedades superficiales de los aluminosilicatos cambian considerablemente de hidrofílico a cada vez más hidrofóbico, generando un adsorbente que se une a compuestos orgánicos no polares (Dakovic *et al.*, 2005).

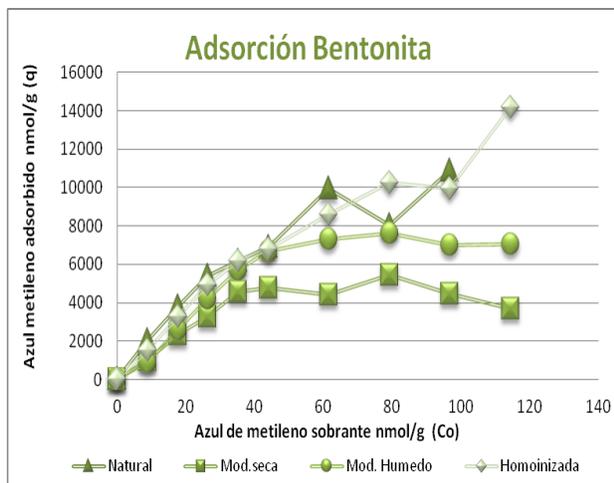


Gráfica 3. Isotermas lineales de AM de los 4 tratamientos en bentonita.

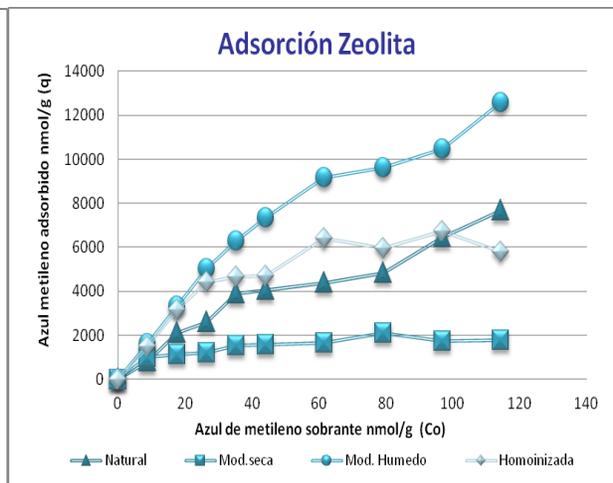


Gráfica 4. Isotermas lineales de AM de los 4 tratamientos de zeolita.

Por otro lado, el comportamiento que se observa en las isothermas de acuerdo a Giles *et al.*, 1974, la mayoría mostro un comportamiento diferente de acuerdo al tipo de material, así como del tratamiento al cual fue sometido. En el grafico 5 y 6 se observa que tanto en BN y ZN la isoterma es de tipo “S”, se observa una curva sigmoidea, el comportamiento inicial consiste en formar una monocapa dejando muchos huecos, para luego mostrar comportamiento de formación de multicapas, se observa que el adsorbato muestra poca afinidad con el adsorbente y va aumentando considerablemente al ser mayor la concentración (Gimbert *et al.*, 2008). En cambio, BH y ZMH muestran una isoterma de tipo “C” en donde la concentración de AM queda en la solución y la adsorbida en los aluminosilicatos es el mismo en cualquiera de las concentraciones. En las modificaciones de BMH, BMS y ZMS la isoterma es tipo “L”, generalmente asociada con la adsorción de la monocapa, lo cual muestra que la afinidad del AM respecto a los aluminosilicatos modificados es moderada; es decir, la afinidad puede describirse en función de las fuerzas de Van der Waals. La isoterma muestra que la cantidad de AM adsorbida se incrementa con el incremento de la concentración hasta el punto de la saturación, mientras se encuentren sitios disponibles, la adsorción de AM puede incrementar; pero en cuanto los sitios ocupen la concentración de éste sobre los aluminosilicatos, ya no se incrementara. Aunque la adsorción varia en cuanto a la cantidad, se asume que el comportamiento se completa en la monocapa sobre la superficie de aluminosilicatos modificados (Grant y Phillips, 1998). Finalmente, las formas isothermas resultantes nos ayudan a encontrar una correlación tanto cuantitativa y cualitativa del sistema de adsorción y saber que tratamiento, así como el aluminosilicato es favorable o desfavorable, ayudando a la elección adecuada del material para la adsorción de la micotoxina T-2.



Gráfica 5. Isotermas de adsorción de AM de los 4 tratamientos en bentonita.



Gráfica 6. Isotermas de adsorción de AM de los 4 tratamientos en zeolita.

## 6.5 Adsorción de T-2.

La Toxina T2 fue identificada a través de su espectro de masas, el cual se muestra en la Figura 21. En este espectro de masas se identifican los picos que son característicos del tricoteceno. Así mismo, se confirmó la identidad química de la micotoxina mediante la comparación del espectro obtenido con la base de datos de la biblioteca NIST, la cual contiene el espectro típico de masas de la micotoxina T2 obtenida de un estándar primario.

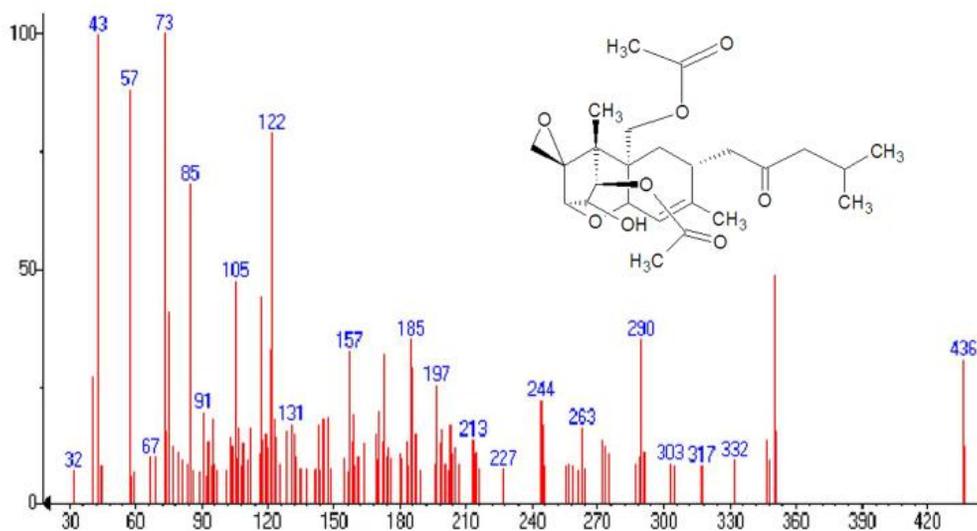
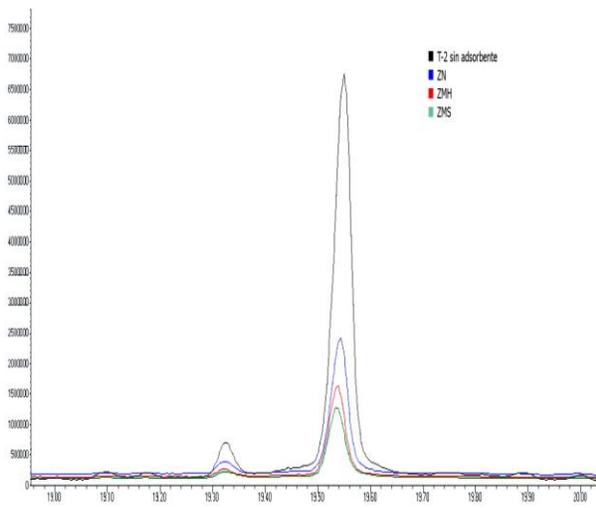
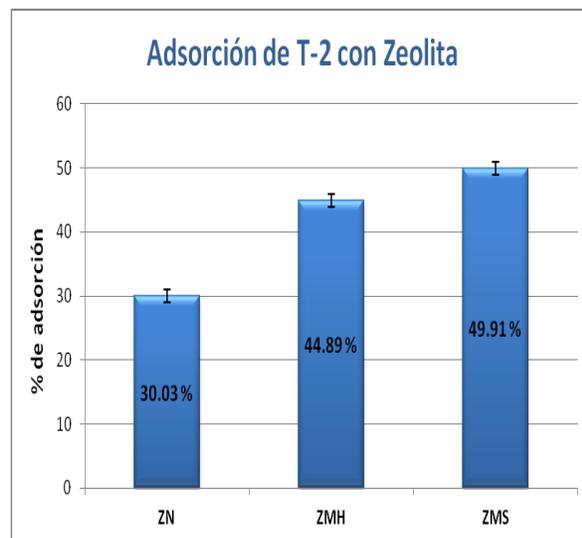


Figura 21. Espectro de masas de la toxina T-2.

Por otro lado, en la figura 22 se muestran los cromatogramas de Toxina T2 residual obtenidos al aplicar los materiales derivados de zeolita, en este cromatograma se observa que la mayor integración de Toxina T2 se registra con el tratamiento control, en tanto que la mayor adsorción de micotoxina se presenta con el tratamiento de Modificación en Seco (ZMS). Así mismo, el porcentaje de adsorción de Toxina T2 se muestra en la Gráfica 7, donde se puede observar que las capacidades de adsorción de la toxina son de 30, 44 y 49%, para ZN, ZMH y ZMS, respectivamente. La mayor capacidad de adsorción de toxina en los materiales de zeolita modificados concuerdan con los resultados esperados, donde la menor polaridad de la superficie del material incrementa su capacidad de adsorción de compuestos orgánicos no polares como la Toxina T2. Estos resultados están en concordancia con los reportados por Dacovikc *et al.* (2005) quienes encuentran una mayor capacidad de adsorción de micotoxinas en materiales modificados con cationes orgánicos.



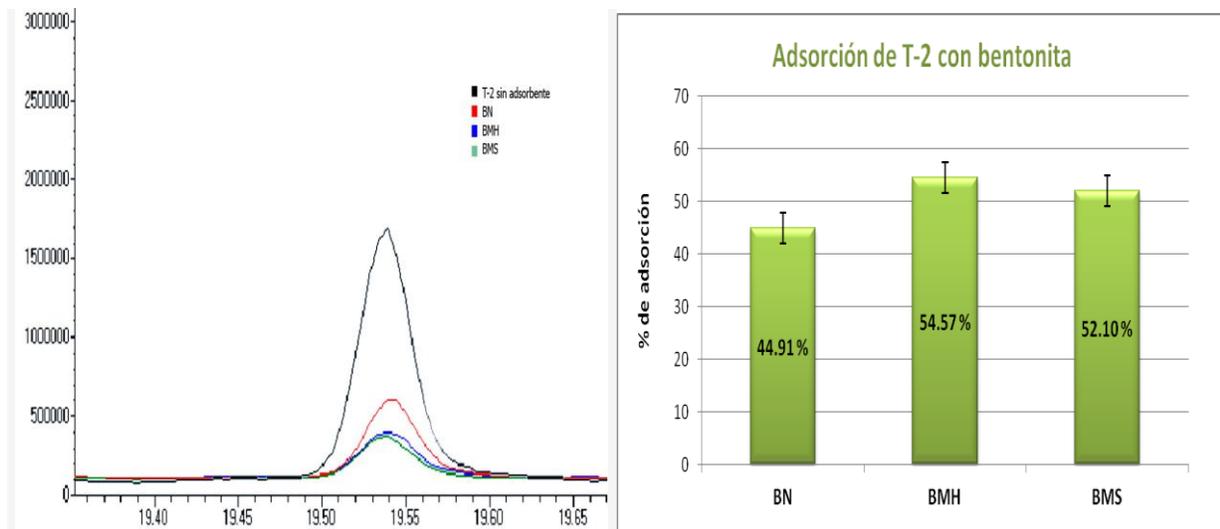
**Figura 22.** Cromatogramas de los tratamientos con zeolita T-2



**Gráfica 7.** Porcentaje de adsorción de la micotoxina en los diferentes tratamientos de zeolita.

Con relación a los resultados obtenidos con los materiales de bentonita, en la figura 23 se muestran los residuales de Toxina T2 registrados en los cromatogramas, en esta se observa que la mayor integración de Toxina T2 se registra con el tratamiento control de bentonita natural (BN), en tanto que la modificación en seco y la modificación húmeda muestran valores similares en la integración. Así mismo, el porcentaje de adsorción de

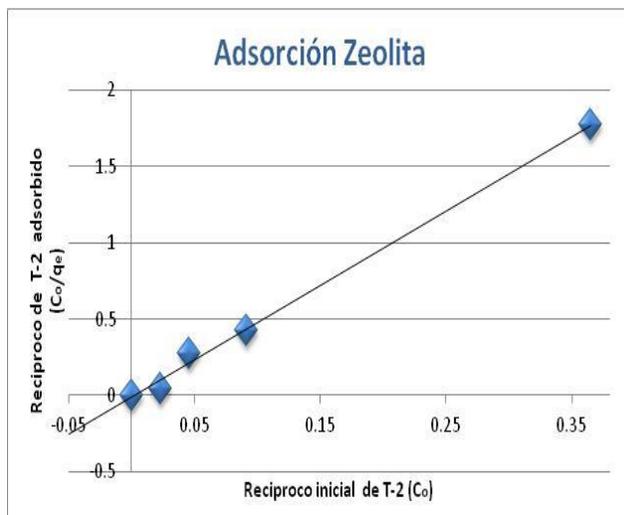
Toxina T2 se muestra en la Grafica 8, donde se puede observar que las capacidades de adsorción de la micotoxina son de 44, 54 y 52%, para BN, BMH y BMS, respectivamente. Con los materiales de bentonita se presenta un comportamiento similar al observado con las zeolitas, donde la menor polaridad de la superficie del material incrementa su capacidad de adsorción de compuestos orgánicos no polares como la Toxina T2.



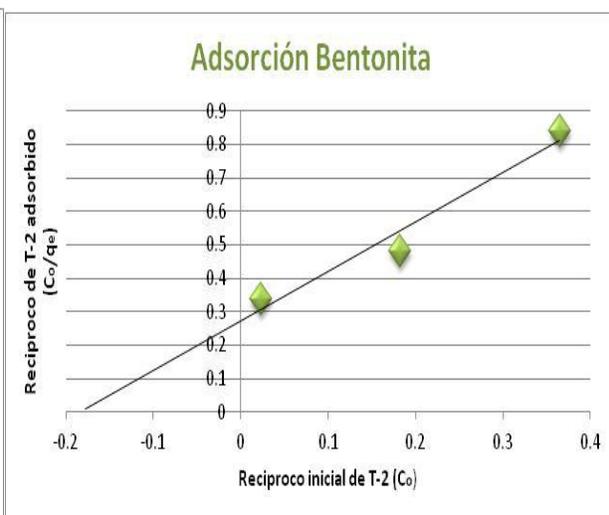
**Figura 23.** Cromatogramas de los tratamientos con bentonita.

**Gráfica 8.** Porcentaje de adsorción de la micotoxina T-2.

El análisis de los datos de adsorción de Toxina T2 mediante el modelo isotermal de Lagmuir se muestran en las figuras 9 y 10 para los materiales modificados en seco de zeolita y bentonita, respectivamente. Los datos termodinámicos de la isoterma indican que la constante de adsorción es mayor para la BMS con 0.40 y 0.043 para ZMS. Así mismo, a partir de la linearización de la isoterma se registró que la ZMS presenta una capacidad máxima de adsorción con 105.26 nM en comparación con la bentonita que presenta 3.66 nM de capacidad máxima de adsorción. Estos resultados indican que la ZMS tiene una mayor afinidad por la Toxina T2, lo cual se confirma por los valores tan bajos de la constante de afinidad ( $K_d = 0.043$ ). En este sentido, la mayor capacidad de adsorción de toxina T2 de la ZMS se podría explicar en función de la menor polaridad que presenta en el material de inicio en su estado natural, lo cual se confirma con los valores más bajos de capacidad de intercambio catiónico registrados por los materiales en su estado natural.

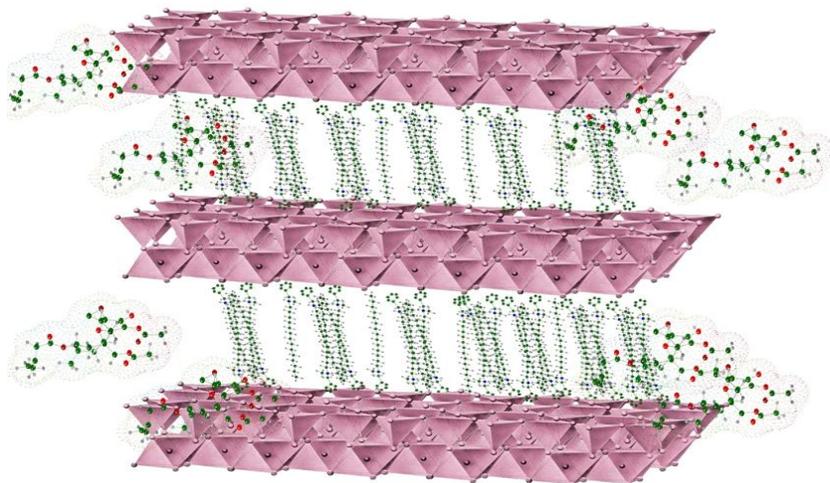


**Grafica 9.** Isoterma lineal de T-2 por zeolita



**Grafica 10.** Isoterma lineal de T-2 por bentonita

La Fig. 24 ilustra a través de un modelo molecular la interacción propuesta entre la molécula de la micotoxina T-2 y la superficie en bentonita modificada con ODMBA. En este modelo se presenta un posible mecanismo de incorporación de los cationes orgánicos en la estructura del aluminosilicato, con lo cual, se expanden las distancias entre las laminas de bentonita y se recubren con una película monomolecular de cationes orgánicos con largas cadenas hidrocarbonadas, que confieren baja polaridad al material modificado. Lemke *et al.* (1998) menciona que la eficacia de la adsorción está relacionada con la longitud de la cadena alquílica, así como la hidrofobicidad medida a través del intercambio catiónico. De igual manera, Dakovic *et al.* (2003) reportan que se obtiene una mejor adsorción en aluminosilicatos modificados con mayor número de cadenas alquilo.



**Fig. 24** Modelo molecular sobre la interacción propuesta de la adsorción de la micotoxina T-2 por bentonita modificada con CnBDA.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la modificación química y estructural de los aluminosilicatos de zeolita y bentonita es un procedimiento que incrementa significativamente la adsorción de Toxina T2. Lo anterior se establece a través de los resultados obtenidos en cada etapa de modificación de los materiales, donde se hace evidente el incremento del comportamiento hidrofóbico del material, lo cual se traduce en una mayor eficiencia en la adsorción de la micotoxina. Así mismo, las evidencias encontradas a través del análisis de la microestructura y fluorescencia, permiten confirmar la modificación química efectiva del material, que cambia significativamente su perfil de composición elemental. Adicionalmente, los procesos de modificación del material son efectivos para la adsorción de la toxina, en particular, la modificación en seco se muestra como una alternativa de mayor interés práctico, debido a que este proceso genera un menor costo ya que no es necesaria la deshidratación del material, una vez modificado.

Finalmente, el presente trabajo contribuye al limitado marco del conocimiento que se tiene sobre el uso de los materiales adsorbentes de micotoxinas, brindando una validación científica de los fundamentos químicos y fisicoquímicos que participan en el proceso de desintoxicación de los alimentos.

## 7. Conclusiones

- El proceso de modificación húmedo y seco cambian la composición química, la estructura y la polaridad de los aluminosilicatos.
- La homoionización incrementa los valores de CIC en los materiales del 0.698 al 0.160 en zeolita y 0.371 a 0.125 en bentonita
- La modificación química con ODMBA de los materiales incrementa la capacidad de adsorción de toxina T2, incrementándose de 30% a 49.9% para zeolita y de 44.9 a 54.5 para bentonita.
- El material de zeolita modificada en seco presenta una capacidad máxima de adsorción con 105.26 nM, en tanto que la bentonita modificada en seco presentó una capacidad máxima de 3.66 nM.
- Los resultados demuestran que no hay diferencia significativa entre los materiales modificados con el proceso húmedo y seco de bentonita y zeolita para la adsorción de la micotoxina T-2.

## 8. Bibliografía

- Betina, V. 1994. Bioactive secondary metabolite of micro-organisms. Elsevier Science B.V. 30:98-120.
- Bhatnagar, D. 1991. Biological detoxification of mycotoxins. En: Mycotoxins and Animal Foods. Smith, J.E.; Henderson, R.S. Editores. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. pp. 815-822.
- Castaing, J. 1998. Uso de las arcillas en alimentación. XIV Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal. Asociación general de productores del maíz (Pau, Francia).
- Conkova, E.; Laciakova, A.; Kovac, G.; Seidel, H. 2003. Fusarial Toxins and their Role in Animal Diseases. Elsevier Science. The Veterinary Journal 165:214–220.
- Corona, O. L.; Hernandez, M. A.; Hernandez, F.; Rojas, F.; Portillo, R.; Lara, V.H. 2009. Propiedades de adsorción en zeolitas con anillos de 8 miembros I. Microporosidad y superficie externa. Revista Materia 14(3):918 – 931.
- Daković, A.; Tomašević-Čanović, M.; Rottinghaus, G.; Dondur, V.; Mašić, Z. 2003. Adsorption of ochratoxin A on octadecyldimethyl benzyl ammonium exchanged-clinoptilolite-heulandite tuff. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 30:157-165.
- Daković, A.; Tomašević-Čanović, M.; Dondur, V.; Rottinghaus, G. E.; Medaković, V.; Zarić, S. 2005. Adsorption of mycotoxins by organozeolites. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 46: 20–25.

- Daković, A.; Matijasević, S.; Rottinghaus, G. E.; Dondur, V.; Pietrass, T.; Clewett, C. F. M. 2007. Adsorption of zearalenone by organomodified natural zeolitic tuff. *Journal of colloid and interface Science*. 311:8-13.
- Daković, A.; Sekulić, Z.; Rottinghaus, G. E.; Stojanović, A.; Milićević, S.; Kragović, M. 2009. T-2 toxin adsorption by hectorite. *Journal of the Seberian Chemical Society*. 74 (11):1283–1292.
- Denli, M.; Pérez, J. F. 2006. Contaminación de micotoxinas en piensos: efectos, tratamiento y prevención. XXII Curso de Especialización FEDNA.
- D’Mello, J. P. F. y McDonald A. M. C. 1997. Commission Regulation (EC) No. 472/2002 of 12 March 2002 amending Regulation (EC) No. 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Communities*, L75/18-20. *Animfeed Sci. Technol*. 69: 155-166.
- FAO, 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Flores, C. M.; Domínguez, J. M.; Díaz de León, J. 1999. Modelling and experimental comparison of the differential adsorption of B1 and G1 aflatoxins on mineral aluminosilicates surfaces. *Journal of Environmental, Toxicology and Oncology*. 18(3):213-220.
- Flores, O. C. M.; Hernández, P. L. B.; Vázquez, M. J. 2006. Contaminación con micotoxinas en alimento balanceado y granos de uso pecuario en México en el año 2003. *Tecnica Pecuaria México*. 44(2):247-256.

- García, A. R.; Ávila, E.; Rosiles, R.; Petrone, V. M. 2003. Evaluation of Two Mycotoxin Binders to Reduce Toxicity of Broiler Diets Containing Ochratoxin A and T-2 Toxin Contaminated Grain. *Avian Diseases*. 47: 691–699.
- Giraldo, L.; García, V.; Moreno, J. C. 2007. Caracterización superficial en fase gas y líquida de carbones activados. *Revista de Ingeniería*. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia 27:45-53.
- Gimbert, F.; Morin-Crini, N.; Renault, F.; Badot, P. M.; Crini, G. 2008. Adsorption isotherm models for dye removal by cationized starch-based material in a single component system: Error analysis. *Journal of Hazardous Materials*. 157(1):34-46.
- Grant, P. G.; Phillips, T. D. 1998. Isothermal Adsorption of Aflatoxin B1 on HSCAS Clay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(2):599-605.
- Hussein, H.S.; Brasel J. M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of micotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 167: 101-134.
- Hsia, C. C.; Wu, J. L.; Lu, X. Q.; Li, S. 1998. Natural occurrence and clastogenic effects of nivalenol, deoxinivalenol, 3-acetyl- deoxinivalenol, 15-acetyl- deoxinivalenol, and zearalenone in corn from a high-risk area of esophageal cancer. *Cancer Detect. Prev.* 13:79-86.
- Huwig, A.; Freimund, S.; Käppeli, O.; Dutler, H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*. 22:179-188.
- Magnoli, A. P.; Tallone, L.; Rosa, C. A. R.; Dalcero, A. M.; Chiacchiera, S. M.; Torre, S. R. M. 2008. Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. *Applied Clay Science*. 40(1-4)63-71.

- Miller, K.; Atkinson, H. A. C. 1987. The in vitro effect of trichothecenes on the immune system. Arch. Toxicol. 11:321-324.
- Langseth, W.; Clasen, P. E. 1992. Automation of a clean-up procedure for determination of trichothecenes in cereals using a charcoal-alumina column. Journal of Chromatography. 603: 290-293.
- Lara, A. J. 2003. Metodos de determinacion, identificacion y control de micotoxinas para la nutrición animal. Asociación Mexicana de Nutrición Animal.
- Lazo, J. C.; Navarro, A. E.; Sun-Kou, M. R.; Llanos, B. P. 2008. Síntesis y caracterización organofílicas y su aplicación como adsorbentes de fenol. Revista de la Sociedad de Química en Perú 74(1):3-19.
- Lemke, S. L.; Grant, P. G.; Phillips, T. D. 1998. Adsorption of Zearalenone by Organophilic Montmorillonite Clay. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(9):3789-3796.
- Limousin, G.; Gaudet, J. P.; Charlet, L.; Szenknect, S.; Barthès, V.; Krimissa, M.; 2007. Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement. Applied Geochemistry 22:249–275.
- Tanaka, T.; Atsushi, Y.; Shigeto, I.; Yoshitsugu, S. 2000. Simultaneous determination of trichothenece mycotoxins and zearalenona in cereal by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 882:23-28.
- Tomasevic´- Canovic´, M.; Dakovic´, A.; Rottinghaus, G.; Matijasevic´, S.; Duricic´, M. 2003. Surfactant modified zeolites- new efficient adsorbents for mycotoxins. Microporous and mesoporous materia9ls.61(1-3):173-180 .

- Richard, J. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An overview. *International Journal of Food Microbiology* 119(1-2):3-10.
- Wang, J.; Fitzpatrick, D. W.; Wilson, J. R.; 1998. Effects of the trichothecene mycotoxin T-2 on neurotransmitters and metabolites in discrete areas of the rat brain. *Food and Chemical Toxicology* 36:947-953.