

<i>Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación</i>	4	77-88	Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir"	Valencia (España)	ISSN 1888-8550
--	---	-------	---	-------------------	----------------

## Neutralización de micotoxinas por sustancias adsorbentes

Fecha de recepción y aceptación: 24 de enero de 2012, 2 de febrero de 2012

Rafael Castañeda Sánchez†, Jerónimo Chirivella Martorell†, Enrique Carbonell Baldoví†

† Department of Applied and Technical Sciences, Catholic University of Valencia, 46003, Valencia



### ABSTRACT

According to data provided by FAO, more than 25% of agricultural production is contaminated by mycotoxins, secondary metabolites of different fungi groups that belong to the chemical family of alkaloids. Due to the unadmissible presence of mycotoxins in the food market, examination of raw feedstock and foodstuff products is required in order to guarantee food and feed security (CE 2174/2003 Regulation). The principal strategy employed to regulate the presence of these food contaminants is the addition of adsorbent materials to feedstuffs: clay materials, activated charcoal, and cell wall yeast extracts. We have discussed the state-of-the-art of the mode of adsorption of every adsorbent, establishing the proper correlation among the structural and physicochemical properties of mycotoxins and those of adsorbent materials. The high specific area and the possibility of enclosing mycotoxins inside adsorbents via the addition of significant weak interactions –Van der Waals, Hydrogen bonding, etc.– point to be the driving forces in the reception and retention of these food contaminants. New commercial adsorbents, belonging to the family of bentonites (Novasil Plus), and cell wall yeast extract (Bio-Mos®, TB100®), have increased the selectivity towards mycotoxin retention, avoiding the simultaneous retention of essential nutrients.

**KEYWORDS:** *Adsorption, Aflatoxins, Clay Minerals, Bentonite, Sepiolite Activated Charcoal,  $\beta$ -glucans, Mannoproteins.*

### RESUMEN

De acuerdo con los datos aportados por la FAO, más del 25% de la producción agrícola es contaminada por micotoxinas, metabolitos secundarios de diferentes grupos de hongos que pertenecen a la familia de los alcaloides. Dado que en el mercado alimentario es inadmisibles la presencia de micotoxinas, se requiere el examen de las materias primas y productos para garantizar la seguridad de los alimentos y la alimentación (Regulación CE 2174/2003). La principal estrategia utilizada para regular la presencia de estos contaminantes alimentarios es aditar materiales adsorbentes en los piensos animales. Se ha revisado el estado de la técnica en los principales grupos de materiales adsorbentes utilizados: materiales arcillosos, carbón activo y extracto de paredes celulares de levaduras. Se ha discutido el modo de acción de cada tipo de adsorbente, estableciendo una correlación entre sus propiedades fisicoquímicas y estructurales, con las de las micotoxinas. La elevada área específica y la posibilidad de ocluir las micotoxinas en el interior de estos materiales adsorbentes a través de una suma significativa de interacciones débiles –Van der Waals, puentes de hidrógeno, etc.– apuntan a ser las fuerzas determinantes de la captación y retención de estos contaminantes alimentarios. Nuevos desarrollos comerciales en el campo de los adsorbentes, derivados de bentonitas (Novasil Plus) y extractos de paredes celulares de levadura (Bio-Mos®, TB100®) han permitido aumentar la selectividad en la retención de micotoxinas, con lo que se evita la captación simultánea de nutrientes esenciales.

**PALABRAS CLAVE:** *Adsorción, micotoxinas, aflatoxinas, arcillas, bentonita, sepiolita, carbón activo,  $\beta$ -glucanos, manoproteínas.*



## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los datos aportados por la FAO, más del 25% de la producción agrícola se contamina por micotoxinas. Solo en EE. UU. esto supone, en pérdidas económicas anuales, alrededor de mil millones de euros. Asimismo, se informa de que grandes cantidades de productos alimentarios básicos como leche (620 millones de toneladas/año), aceite (88 millones de toneladas en 2000) y vino (280 millones de toneladas en 2005) se echan a perder a causa de las micotoxinas. Debido a ello muchos países han adoptado severas regulaciones para limitar la exposición a las micotoxinas, influenciando por tanto en gran medida el mercado de los cultivos de alimentos y animales. Dado que es inadmisibles la presencia de micotoxinas, se requiere el examen de las materias primas y productos para garantizar la seguridad de los alimentos y la alimentación (Regulación CE 2174/2003).

Las micotoxinas son compuestos tóxicos, de la familia de los alcaloides, producidos por hongos de los grupos *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* y *Alternaria* (Jaynes *et al.*, 2007; Huwig *et al.*, 2001). Estas toxinas son metabolitos secundarios producidos por los hongos, después de infectar los granos y otros cultivos alimentarios. Las micotoxinas pueden contaminar los cultivos de dos maneras: como parásitos de las plantas vivas, o posteriormente durante la cosecha. Los hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* son capaces de producir seis tipos de micotoxinas (Firmin *et al.*, 1994). Estas poseen una variedad de estructuras químicas que redundan en diferentes efectos biológicos (figura 8), mostrando efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, oestrogénicos, neurotóxicos o inmunotóxicos. Entre las micotoxinas, la aflatoxina B1 y la M1, producida en la leche, han demostrado ser las de mayor poder tóxico, con efectos carcinogénicos en animales y humanos.

Las aflatoxinas son un grupo de cumarinas estructuralmente similares y polisustituídas generadas por los hongos comunes *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parvisifcus* (Ramos y Hernández, 1996). En la naturaleza nos encontramos con cuatro formas principales de las aflatoxinas: la más hepatotóxica es la aflatoxina B1, y existen otras tres muy similares: la B2, la G1 y la G2. La biotransformación más común de la aflatoxina B1 es la aflatoxina M1 (Nageswara y Chopra, 2001), correspondiente derivado hidroxilado.

Sin embargo, hoy por hoy no existen soluciones prácticas a gran escala para combatir la descontaminación de subproductos fúngicos en los alimentos, utilizando metodologías de bajo coste. Una de las aproximaciones más prometedoras para resolver el problema de las micotoxinas es la adición de materiales adsorbentes no nutritivos a los lotes alimentarios, para controlar la adsorción gastrointestinal de estos metabolitos fúngicos. De hecho, estudios *in vivo* han demostrado que varios materiales adsorbentes pueden formar complejos altamente estables con varios tipos de micotoxinas, entre los que destacan las aflatoxinas (Maxwell *et al.*, 2006), y la ocratoxina A, las zearaleronas y la toxina T-2 (Ringot *et al.* 2005; Var *et al.*, 2008).

Esto se consigue con la adición en la dieta animal de agentes secuestrantes, como zeolitas, bentonitas, caolines o aluminosilicatos hidratados de sodio y calcio.

## MÉTODOS DE UTILIZACIÓN DE LOS MATERIALES ADSORBENTES

Se describirán a continuación las principales características fisicoquímicas y estructurales de los materiales adsorbentes que influyen en su reactividad:

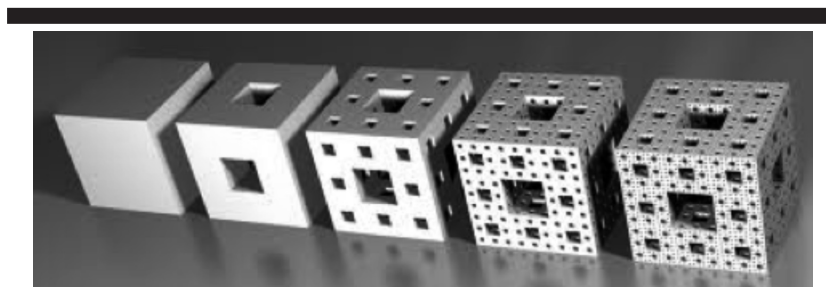


Figura 1. Ilustración de cubos de Menger.

- **Tamaño de partícula:** Los materiales adsorbentes ocluyen a los adsorbatos dentro de su matriz. Deben tener un pequeño tamaño de partícula, del orden de las micras o menor, para que empiecen a manifestarse efectos coloidales.
- **Área específica:** Se mide en metros cuadrados por gramo de material, y da un valor cuantitativo del área accesible de los diferentes materiales. Se determina a partir de medidas de adsorción de nitrógeno ( $N_2$ ). Así, a mayor área superficial, mayor número de puntos de adsorción disponibles. El incremento del área superficial aumenta la reactividad de los materiales que realizan la adsorción a través de enlaces débiles. Aproximaciones fractales como el cubo de Menger ilustran la importancia del aumento del área específica (figura 1).
- **Tamaño de los poros:** Los tamaños de los poros justifican en gran medida la reactividad y capacidades de adsorción de los materiales adsorbentes. La IUPAC los clasifica en función del radio del poro:
  - Microporo.  $r < 1 \text{ nm}$
  - Mesoporo.  $r \approx 1\text{-}25 \text{ nm}$
  - Macroporo.  $r > 25 \text{ nm}$
- **Carga de los materiales adsorbentes:** Las cargas, al igual que el área superficial, son resultado de la forma y tamaño de las partículas. Según el pH del entorno, los grupos funcionales superficiales se encontrarán en su forma ácida o en la correspondiente base conjugada. Hay que señalar que todos los materiales adsorbentes que se estudiarán tienen carácter de ácidos débiles, si bien este efecto se manifiesta en mayor medida en los aluminosilicatos, debido a las cargas de compensación que se introducen para equilibrar los defectos de carga originados por las sustituciones isomórficas.

## RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS MATERIALES ADSORBENTES

### Primer grupo: adsorbentes inorgánicos silíceos

Este grupo de materiales está constituido por derivados de aluminosilicatos y arcillas. **Arcilla** es un término granulométrico para designar aquellos materiales con un tamaño de partícula menor de 2 micras, lo que les confiere importantes propiedades reológicas. Los **minerales de arcilla** son aluminosilicatos (filosilicatos) constituidos básicamente por átomos de Si, Al y O, además de otros elementos, como Na, K, Ca, Mg, Fe, etc. Las arcillas son minerales de origen secundario con una estructura cristalina bien definida y una elevada área superficial, lo cual determina en gran medida sus propiedades físico-químicas, que determinan su utilización como adsorbentes. Poseen aplicaciones farmacéuticas debido a su elevada capacidad de adsorción, gran superficie interna, alta capacidad de intercambio catiónico y elevada inercia química (Choi *et al.*, 2007).

Desde los primeros días de la civilización se ha prestado especial atención a los minerales de arcilla, a causa de su abundancia en la naturaleza y de las amplias posibilidades que estos presentaban. En concreto, se emplea para propósitos curativos y de protección. Así, nos encontramos con la aplicación local o generalizada de lodos para curar el reumatismo, la artritis, etc., o para purificar la sangre y reducir el efecto de las infecciones, por ejemplo (Dixon *et al.*, 2008; Edrington *et al.*, 1996).

Hoy por hoy, se realiza un gran esfuerzo en estudiar minerales de arcilla tanto naturales como sintéticos, con el objeto de entender su comportamiento y desarrollar soluciones a medida en diferentes problemáticas, utilizando minerales de arcilla, dado que estos poseen excelentes posibilidades en el campo de las biociencias. En concreto, las esmectitas se han utilizado para aplicaciones diversas. En el área de la agricultura y las aplicaciones ambientales se utilizan en los piensos animales para promover efectos antiaglomerantes, adyuvantes de peletización o aditivos para la consolidación de las heces (Ferrario *et al.*, 2000). También como adsorbente de gases gastrointestinales y micotoxinas, o hepatoxinas de cianobacterias (Huwig *et al.*, 2001). Se investiga incluso la inactivación de virus y bacterias por adsorción (Auerbach *et al.*, 2004).

**Estructura de los aluminosilicatos laminares:** Como todos los silicatos, están constituidos por una unidad estructural común, un tetraedro de coordinación Si-O. El silicio situado en el centro del tetraedro de coordinación y rodeado de cuatro oxígenos situados en los vértices. Este grupo tetraédrico se encuentra descompensado eléctricamente  $(SiO_4)^{4-}$ , por lo que los oxígenos se coordinan a otros cationes para compensar sus cargas (figura 2). Los cationes que se ubican dentro de los tetraedros y octaedros, así como en la región interlaminar, caracterizan cada mineral de arcilla.

De esta manera la estructura de estos minerales está formada por un apilamiento de capas de tetraedros y octaedros, formando estructuras laminares. Las láminas con estructura 2:1 poseen dos capas de tetraedros que engloban una de octaedros (figura 3). En las capas tetraédricas y octaédricas se producen sustituciones entre cationes que cuando son de distinta valencia crean déficit de carga. Para compensarlos son atraídos otros cationes que se introducen entre las láminas: son los llamados cationes interlaminares. Estos cationes pueden ser intercambiables y definen la *Capacidad de Intercambio Catiónico* (CIC) del material. Cuando la carga de la lámina es pequeña, las láminas interaccionan entre ellas por débiles fuerzas de Van der Waals, o por



los puentes de hidrógeno formados por las moléculas de agua interlaminares. En estos casos aumenta la *expansibilidad* de las láminas, debido a que hay que vencer una menor fuerza de unión entre ellas (Auerbach *et al.*, 2004).

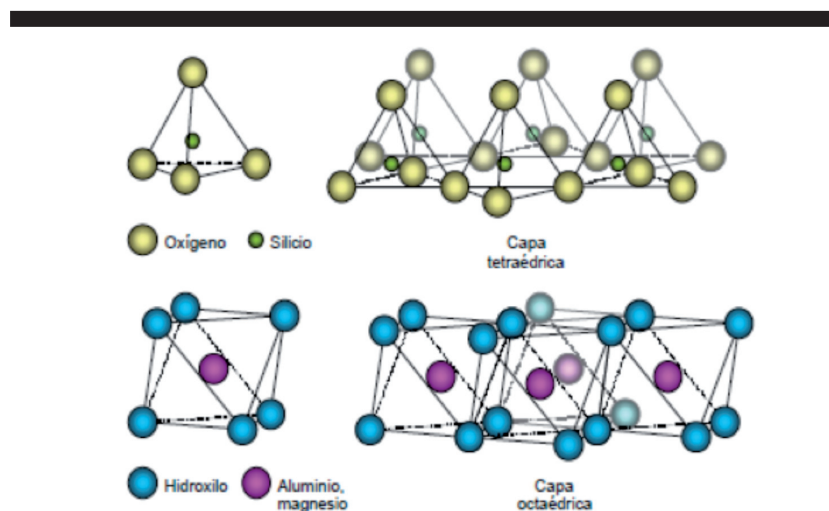


Figura 2. Ilustración de la distribución atómica en las capas tetraédrica y octaédrica.

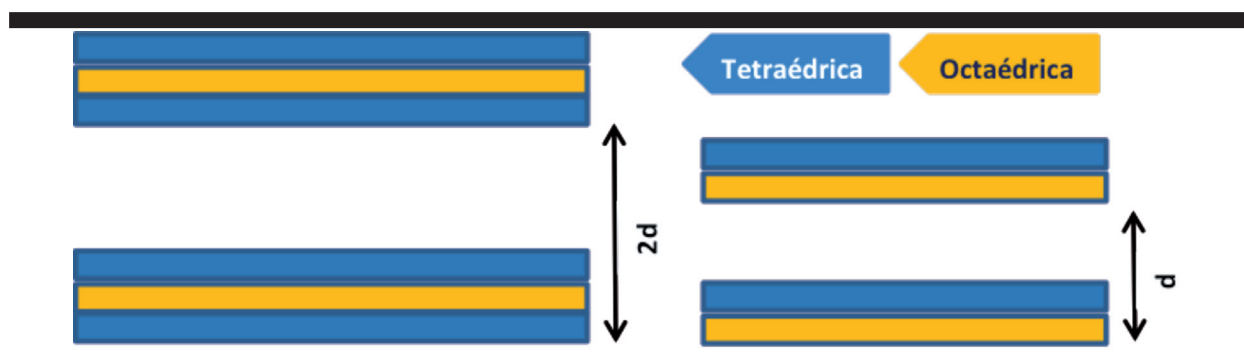


Figura 3. Estructura laminar de capas 2:1 (izquierda). Estructura laminar de capas 1:1 (derecha).

### Materiales utilizados como adsorbentes

**Caolinita.** Tiene una estructura 1:1, formada por una capa de tetraedros de  $\text{SiO}_4^{4-}$  sobre la que se sitúa otra capa de octaedros de  $\text{Al}(\text{OH})_6^{6-}$  con los vértices compartidos. Posee una baja superficie específica 10-20  $\text{m}^2/\text{g}$ . Su fórmula general es:  $\text{Si}_4\text{Al}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$ .

En las caolinitas, el silicio no se sustituye nunca. La partícula elemental es eléctricamente neutra y la CIC es muy baja (1-10 meq/100 g). Cada unidad fundamental se une a la siguiente por puentes de hidrógeno, lo que no permite que entren moléculas de agua o iones en la estructura.

**Esmectitas.** Son un grupo de silicatos laminares 2:1, cuya denominación mineralógica es bentonita. Una fórmula idealizada sería  $\text{KAl}_7\text{Si}_{11}\text{O}_{30}(\text{OH})_6$ , pero ocurre mucha sustitución isomórfica. A causa de la relativa baja carga de lámina, las esmectitas se expanden fácilmente (el enlace entre las láminas es relativamente débil). El espaciado  $c$  varía con el catión de intercambio y el grado de solvatación interlaminares. Una deshidratación completa genera un espaciado entre 0,95 y 1,0 nm, y una hidratación completa puede hinchar las láminas hasta decenas de nanómetros. El mineral predominante es montmorillonita, donde  $\text{Al}^{3+}$  es el catión octaédrico mayoritario y  $\text{Mg}^{2+}$  el minoritario. Beidelita, saponita y hectorita completan el grupo de las esmectitas.



La montmorillonita no ofrece una buena cristalización, ya que las capas se unen mediante fuerzas de Van der Waals. La entrada de agua y cationes entre las capas es muy fácil, lo que permite una fácil expansión de la red. La CIC es elevada (80-120 meq/100 g). Las montmorillonitas son arcillas hinchables que aumentan de tamaño cuando adsorben moléculas de agua. El área específica es muy elevada. Para finalizar, hay que destacar que se han obtenido preparaciones comerciales de bentonitas-NOVASIL, o HSCAS (*Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate*), enriquecidas en iones calcio y estabilizadas a través de una hidratación, muy efectivas (Robinson *et al.*, 2011).

**Sepiolita.** Son minerales de estructura 2:1, donde el área específica es semejante a la de las montmorillonitas, y su capacidad de intercambio es menor a 20 meq/100 g. El catión estructural predominante es  $Mg^{2+}$ . Su fórmula es:  $Mg_4Si_6O_{15}(OH)_2 \cdot xH_2O$ . Debido a que su capa octaédrica solo tiene periodicidad en una dimensión, la estructura final resultante es de múltiples cadenas ensambladas en una estructura tridimensional que genera diferentes poros, en una disposición tubular alternada. En este grupo se encuentran otros minerales de arcilla, como la palygorskita y la atapulgita.

**Zeolitas.** Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos microporosos, donde los tetraedros se encuentran compartiendo los cuatro vértices para generar estructuras tridimensionales rígidas con cavidades de dimensiones moleculares (Castañeda, 2005). Entre sus aplicaciones, destaca su uso como aditivo en alimentación animal (la norma europea 70/524/EEC permite utilizarla para retirar micotoxinas), donde se utilizan zeolitas naturales, principalmente clinoptilolita (figura 4). Otras utilidades de estos materiales son como filtros e intercambiadores iónicos o gaseosos, o como catalizadores. La clinoptilolita posee una superficie específica de  $40m^2/g$ , una CIC de 150-190 meq/100 g, que se presenta hidratada, y cationes alcalinos de compensación. Su fórmula es:  $[(K,Na,Ca_{0.5},Sr_{0.5},Ba_{0.5},Mg_{0.5},6)(H_2O)_{20}][Al_6Si_{30}O_{72}]$ . Otras zeolitas naturales que también tienen utilización en el mercado son la zeolita A ( $Na_{12}[(AlO_2)_{12}(SiO_2)_{12}] \cdot 27H_2O$ ) y la Zeolita X ( $Na_{86}[(AlO_2)_{86}(SiO_2)_{106}] \cdot 264H_2O$ ), que admiten cationes alcalinos dentro de su red.

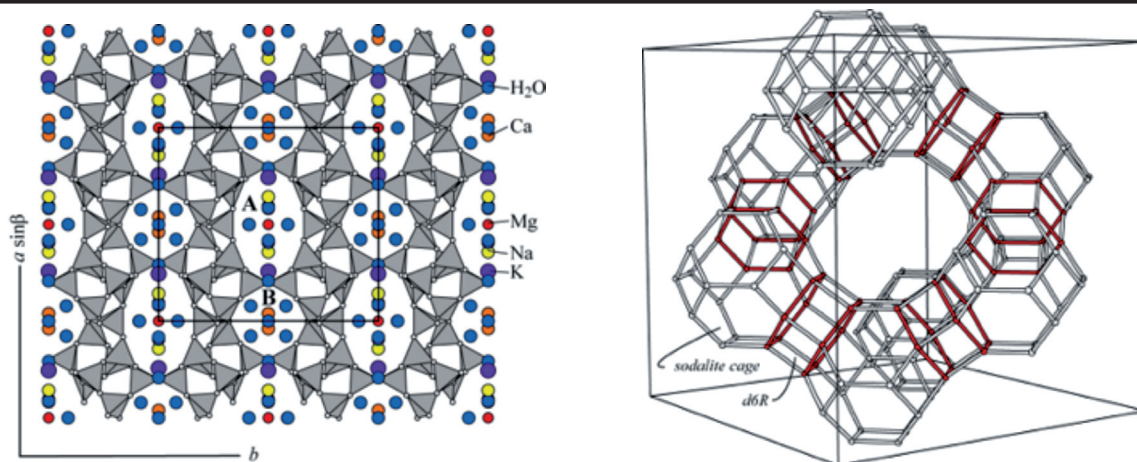


Figura 4. Malla de Clinoptilolita (izquierda). Esquema estructural de la Zeolita A (derecha).  
Imágenes tomadas de la Comisión Internacional de Zeolitas Naturales.

**Otros materiales silíceos.** Se pueden incluir materiales como la tierra de diatomeas (diatomita o Kieselgurh), que son sedimentos silíceos que contienen microfósiles de diatomeas, algas unicelulares, principalmente marinas, que segregan un esqueleto de cristales de sílice. Tienen poder adsorbente y abrasivo, y capacidad para filtrar y retener materiales no deseados (vino, cerveza, etc.). Las formas muy cristalinas son peligrosas de manejar porque pueden producir silicosis pulmonar, entre otras enfermedades.

### Segundo grupo: adsorbentes de carbón activo

Bajo este término genérico, se incluye una familia de adsorbentes/adsorbentes carbonáceos de elevada superficie específica y gran número de poros internos. En la figura 5 se muestra la ultraestructura de este material en una imagen de SEM. Existe



una amplia variedad de productos de carbón activado que muestran diferentes características, dependiendo del material de partida y la técnica de activación usada en su producción. Es un material que se caracteriza por poseer una cantidad muy grande de microporos, generados en su procedimiento de producción, el cual también aumenta la superficie específica de estos, para alcanzar valores por encima de los 500m<sup>2</sup>/g. Desde antaño se ha utilizado para purificar y extraer por ósmosis (extracción de metales, purificación de aguas), siendo relevante su utilización en medicina en casos de intoxicación. El carbón activo posee una ultraestructura que incluye macro, meso y microporos, que confieren las interesantes propiedades como adsorbente que se han descrito (Olah y Molnar, 2003).

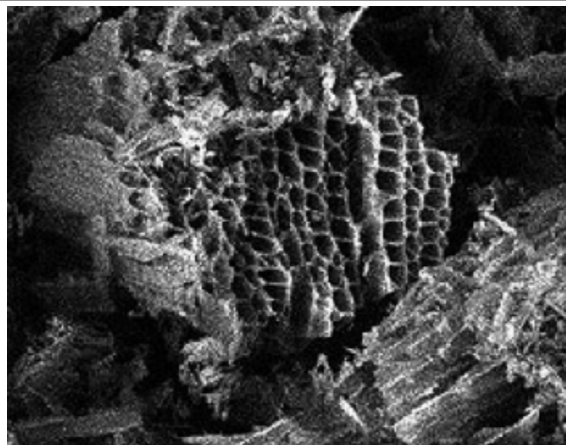


Figura 5. Micrografía SEM de carbón activo.

### Tercer grupo: adsorbentes basados en extractos de paredes celulares de levadura

Los principales componentes de las paredes celulares de las levaduras (*S. Cerevisiae*) son los  $\beta$ -glucanos, glucomananos y manoproteínas (figura 6) (Kogan y Kocher, 2007). Alrededor del 75% del peso seco de la pared celular de las levaduras está formado por polisacáridos. La pared celular, carcasa que se localiza en la parte exterior de la membrana celular, posee dos láminas: la interior aporta rigidez y determina la morfología, y está formada por los 1,6 y 1,3  $\beta$ -D-glucanos, complejados con quitina; la exterior, formada por fibras de manoproteínas, determina las propiedades superficiales de la célula (Osumi, 1998). La mayor parte de las manoproteínas están enlazadas a la lámina interna de glucano. Los glucomananos y manoproteínas se responsabilizan de las interacciones con el medio exterior. Los  $\beta$ -glucanos consisten en unidades de glucosa unidas por enlaces  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,4 según Kogan y Kocher (2007) (figura 7). Las matrices mixtas de celulosa y  $\beta$ -glucano son químicamente parecidas, ya que consisten en unidades de glucosa unidas por enlaces  $\beta$ , pero difieren mucho en sus propiedades físico-químicas, pues las uniones 1,4 aportan rigidez, alta cristalinidad y poca solubilidad a la matriz. Los  $\beta$ -glucanos que poseen uniones 1,3 rompen la estructura regular de las uniones 1,4 en las cadenas, con lo que otorgan flexibilidad y solubilidad, pudiendo entonces extraerse en fase acuosa. Su utilización principal como hidrocoloides ha sido demostrada en la industria alimentaria, donde actúan como gelificantes bajo determinadas condiciones, o espesantes para modificar apariencia y texturas. Los glucomananos a su vez están formados por cadenas de manano con uniones  $\beta$ -1,4 y restos de glucosa dispersados de forma lateral en la cadena principal; estos restos suelen estar acetilados, y los ratios manano-glucosa suelen oscilar entre 4:1 y menos de 1:1. La figura 7 muestra la estructura y composición de los principales polímeros que secuestran a las micotoxinas.

Hoy en día se utilizan materiales bioactivos para mantener la salud animal y garantizar un crecimiento adecuado. Las interesantes propiedades de los preparados comerciales de paredes celulares de levaduras (Bio-Mos<sup>®</sup>, TB100<sup>®</sup> ambos de Alltech, Inc., Nicholasville, KY) se están utilizando para adsorber micotoxinas de piensos animales y reducir por tanto su efecto tóxico (Firmin *et al.*, 1994). La actividad de estos preparados podría deberse a sus efectos como adsorbente, promovido por las propiedades secuestrantes de micotoxinas del 1-3- $\beta$ -glucano, o la interacción de los mananos con las micotoxinas que puedan presentarse en forma radicalaria.

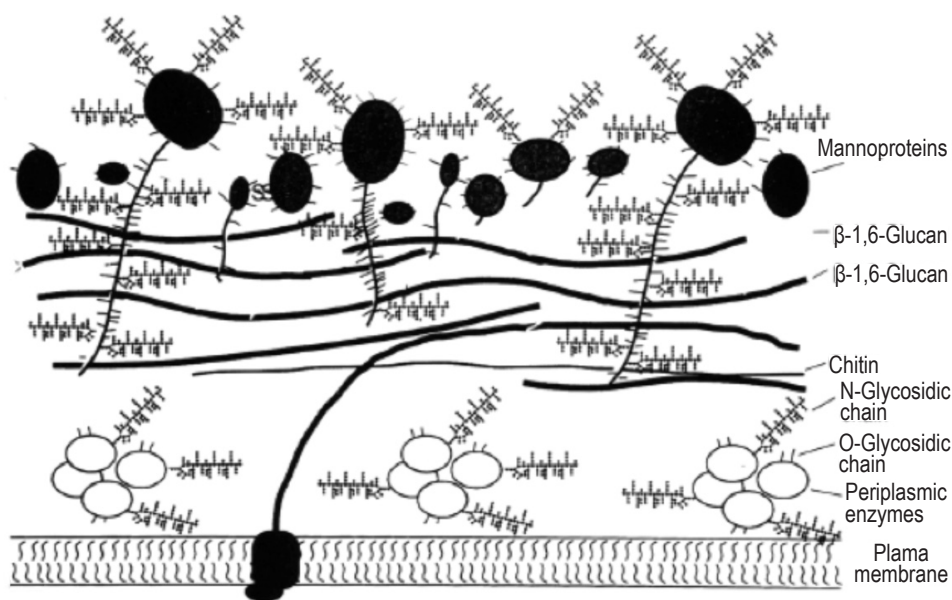


Figura 6. Ilustración de la composición de las paredes celulares de levaduras. Tomado de M. Osumi, 1998.

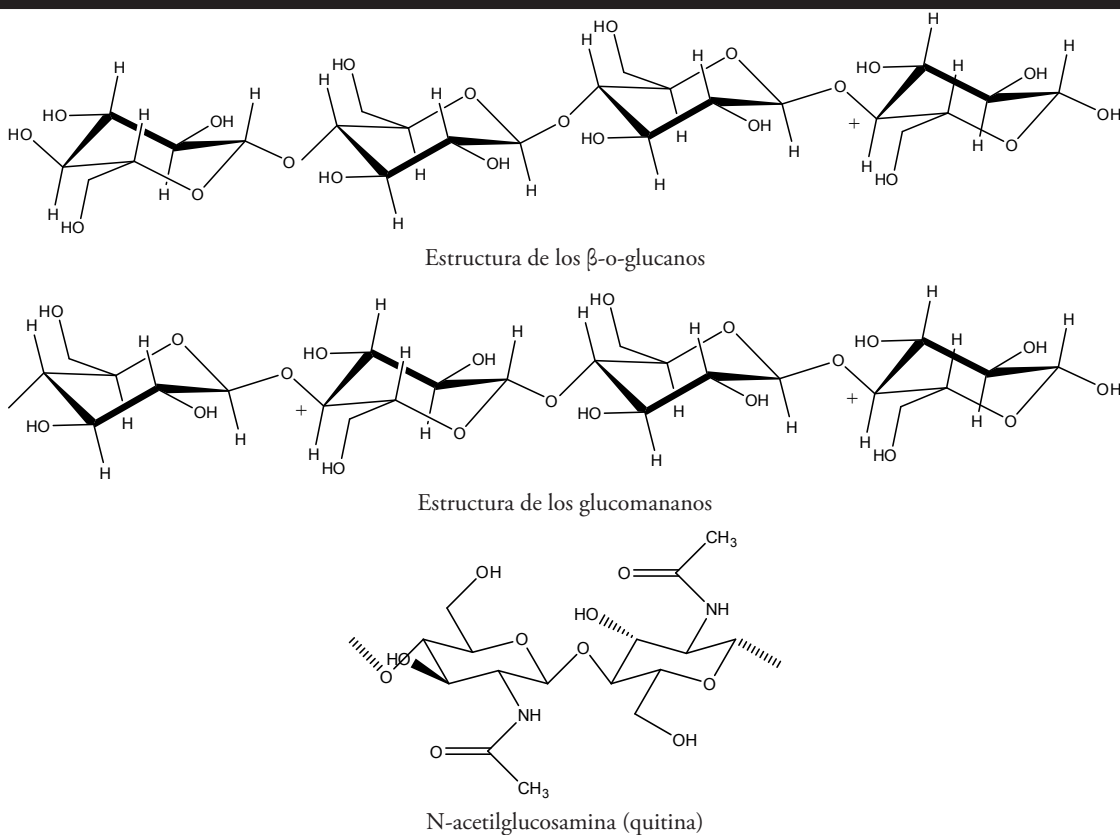


Figure 7. Ilustración de las estructuras químicas de los polisacáridos y glucoproteínas que componen las paredes celulares de las levaduras. Tomado de Kogan y Kocher, 2007.



## DISCUSIÓN: INTERPRETACIÓN DE LA INTERACCIÓN ADSORBENTE-ADSORBATO

La relación estructura-actividad entre las micotoxinas más conocida ha sido revisada (Bräse *et al.*, 2009; Amezcua *et al.*, 2009), describiéndose características estructurales importantes para la bioactividad micotóxica demostrada que pueden aportar datos de reactividad y estructura que justifiquen la adsorción en los diferentes aditivos descritos:

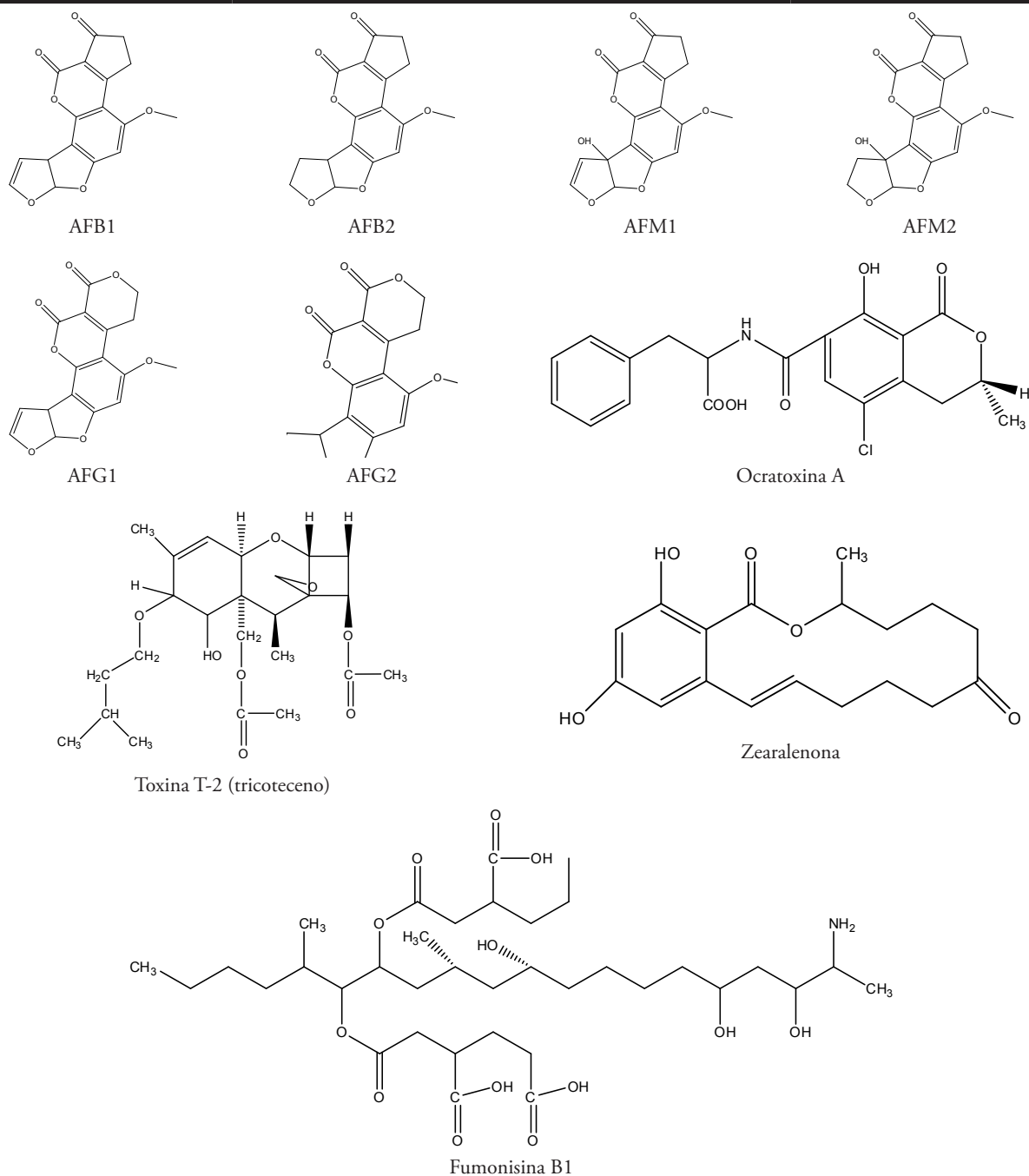


Figura 8. Ilustración de las estructuras químicas de las micotoxinas más relevantes (Hussein y Brasel, 2001; J. P. F. D' Mello *et al.*, 1999).

1. El anillo oxirano. Aparece en las citocalasinas y tricotecenos. Algunos tricotecenos pueden tener incluso dos anillos epoxi en su estructura.
2. Restos quinoides (benzoquinona, naftoquinona y antraquinona). Un ejemplo es la porción benzoquinona de la micotoxina ácida del terreno diabotogénica.
3. Lactonas de cinco o seis miembros, tanto saturadas como insaturadas. Se sabe que estas lactonas son altamente tóxicas, ya que actúan como potenciales agentes alquilantes. Por ejemplo, la patulina puede reaccionar alquilando moléculas de ADN. Esta es la razón de que esta familia de moléculas posean actividad mutagénica, carcinogénica o teratogénica.
4. Estructuras macrocíclicas. Las lactonas macrocíclicas (presentes en zearalenonas como citocalasinas y algunos tricotecenos) actúan como micoestrógenos, mientras que otros compuestos macrocíclicos (tipo citocalasinas y zigoesporinas) poseen efectos citotóxicos de relevancia en plantas y mamíferos.
5. Isocumarinas (con las ocratoxinas como grupo principal). En la ocratoxina A, el resto dihidroisocumarina, combinado con L-fenilalanina, lleva a la inhibición de la síntesis proteica en la fase de activación de aminoácidos, mientras que en combinación con benzoquinona produce desacoplamiento de la fosforilación oxidativa.

En adición a estas relaciones estructura-reactividad, la figura 8 presenta la estructura química y composición de las micotoxinas más relevantes. De una forma general, se trata de macrociclos que en algunos casos presentan ramificaciones lineales o cierta aromaticidad, pero el elemento común es la presencia de grupos cetonas y epóxidos, en una baja proporción respecto al tamaño de estas moléculas.

Se ha estudiado el mecanismo de acción para ciertos sistemas micotoxina-arcilla. En concreto, para el sistema aflatoxina B1-bentonita (Deng *et al.*, 2011), los estudios apuntan a que dos oxígenos carbonílicos del adsorbato son los principales promotores de la interacción intralaminar, preferentemente con los cationes de intercambio. Se trata de una interacción ion-dipolo, coordinándose alrededor de estos cationes ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ...) en función del grado de hidratación intracelular. No es, pues, una reacción de intercambio, sino de adsorción en el entorno hidrofílico/hidrofóbico generado por los cationes interlaminares y su entorno próximo. Otros restos, como los oxígenos de los dihidrofuranos, participan mucho menos en el enlace a través de un mecanismo de fisiorción, ubicándose preferentemente en la proximidad de los cationes interlaminares. De hecho, las estimaciones de frecuencia e intensidad de vibración para los adsorbatos poseen una elevada correlación con los datos descritos (Deng *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2006). Las estimaciones han sido tanto mejores cuanto más deshidratada se encontraba la región interlaminar. La presencia de agua –de hidratación o estructural– u otras especies que muestren efecto dipolo, alrededor de los cationes interlaminares, minimizará las posibilidades de adsorción de las micotoxinas, ya que reduce el número de sitios activos presentes. Este argumento corrobora el hecho de que los materiales adsorbentes presenten mayor actividad de retención de micotoxinas cuanto menor sea el grado de solvatación, y también explica la elevada actividad secuestrante de las HSCAS (Ramos y Hernández, 1997), que se evidencian como arcillas activadas a través de un proceso de sustitución de cationes sodio por calcio, con el consecuente espacio interlaminar liberado en los procesos de hinchamiento (tabla 1) y una hidratación mínima. De hecho, la dosificación clásica de las bentonitas oscila entre un 1 y un 2%, mientras que las dosificaciones de HSCAS, con Novasil como mayor producto comercial, oscilan entre el 2 y el 3%. Estas propiedades de retención, unidas a su inercia química en el animal huésped, convierten estos materiales en una gran promesa para obtener avances en la neutralización de las micotoxinas (Dixon *et al.*, 2008).

En el caso del carbón activo, el mecanismo de adsorción se explica a través de las interacciones débiles entre grupos aromáticos de las micotoxinas y el entorno hidrofóbico del carbón activo. Su naturaleza carbonosa y poliaromática asegura la presencia de menores cantidades de agua adsorbida en condiciones ambientales. La elevada área específica que posee el carbón activo –se alcanzan valores de hasta  $1.000 \text{ m}^2/\text{g}$ – a lo largo de toda su ultraestructura permite que los valores de eficiencia de retención sean los más elevados que se han descrito (Ramos y Hernández, 1996). Sin embargo, la baja especificidad de estas interacciones, sumada a la elevada superficie expuesta, origina al mismo tiempo la retención no específica de varios tipos de nutrientes esenciales (como pueden ser vitaminas, ácidos orgánicos, proteínas, etc.), lo que desaconseja su utilización.



Tabla 1. Parámetros comparativos de materiales adsorbentes

Materiales	Caolinita	Bentonita	Sepiolita	Clinoptilolita	Carbón activo	Extracto pared celular levaduras
CIC (meq/100g)	10	100	20	170	-	-
Área específica (m <sup>2</sup> /g)	20	300	350	40	500-1000	-
Expansible	No	Sí	No	No	No	Sí

Para el caso de los extractos de paredes celulares de levadura, si bien los menores tamaños de partícula obtenidos en la preparación del extracto permiten que la matriz adsorbente sea más flexible, las cadenas de polisacáridos de  $\beta$ -glucanos, con tamaños del orden de los centenares de nanómetros, presentarán altas capacidades de mezcla y difusión en la preparación de los piensos, y este homogéneo reparto asegurará la mayor proximidad estadística a las micotoxinas, aumentando de esta forma la eficiencia del tratamiento. Las cadenas poliméricas de  $\beta$ -1,6-glucano,  $\beta$ -1,3-glucano y las manoproteínas, de pequeño tamaño, presentarán altas capacidades de retención de micotoxinas debido a efectos secuestrantes de los polisacáridos. En este caso, adsorbente y adsorbato se estabilizarán principalmente –y en adición a otras interacciones débiles– por *a*) puentes de hidrógeno entre los hidrógenos de los  $\beta$ -glucanos y los grupos aromáticos o los oxígenos dadores de los epóxidos y cetonas; *b*) a través de las interacciones entre los hidrógenos de las micotoxinas y los grupos hidroxilo de los  $\beta$ -glucanos.

Las mayores tasas de neutralización de micotoxinas se presentan en materiales de elevada superficie específica, y con una presencia de baja densidad de carga, que permitan una máxima adsorción de las micotoxinas. Como desventaja, destaca la baja selectividad de los materiales que presentan este perfil. La bentonita y la sepiolita destacan entre sí por presentar una mayor selectividad de las micotoxinas, respecto a nutrientes esenciales como ácidos grasos, lo que redundará en mayores posibilidades de dosificación y mayores eficiencias. Las arcillas presentan características como la presencia de carga en las láminas (visualizada en el parámetro de la CIC), que describe el campo eléctrico interior generado, que puede permitir la estabilización de la naturaleza heterocíclica y poliaromática de las micotoxinas, sobre todo a través de los átomos de oxígeno carbonílicos y preferentemente epoxídicos, donde se localiza mayor densidad de carga. Los nuevos desarrollos comerciales, como Novasil Plus, mejoran los resultados obtenidos con bentonitas, aunque la sepiolita es el material adsorbente inorgánico que ofrece un mayor espectro de resultados (retiene aproximadamente 1,3 g AFB1/kg) (Edrington *et al.*, 1996; Gowda *et al.*, 2007; Robinson *et al.*, 2011).

Aunque todavía no existe un consenso sobre cuál es el mejor material adsorbente, la investigación con arcillas y extractos de paredes celulares de levaduras promete ser un campo en continuo avance. Hay estudios que demuestran que la capacidad de retirar las micotoxinas es mucho mayor en fase acuosa que en los preparados alimentarios compactos (Di Natale *et al.*, 2009), lo que también indica que además de la cantidad de adsorbente dosificada, la forma de dosificación y el modo de acción serán ámbitos de interés para la investigación y el avance de las tecnologías de estos adsorbentes.

## CONCLUSIÓN

Se concluye que los movimientos de cargas a través de la aromaticidad de las estructuras químicas de las micotoxinas, especialmente en aquellos grupos funcionales donde la magnitud de los dipolos es mayor, como en los grupos carbonilos, son los principales responsables de la *adsorción* de estas biomoléculas en la superficie de los materiales adsorbentes. El pequeño tamaño de partícula y el aumento de la superficie específica favorecerán estos mecanismos de detoxificación de los medios alimenticios.

Los importantes resultados obtenidos con los extractos de paredes celulares de levadura se deben a los tamaños de las macromoléculas de  $\beta$ -glucano en solución, que les permiten actuar como agentes secuestrantes de las micotoxinas. Estas suspensiones coloidales asegurarán que las micotoxinas queden retenidas.

En cuanto a los materiales inorgánicos, la homogénea distribución de los puntos de adsorción y la baja actividad de especies iónicas favorecerán la retención selectiva de las micotoxinas –sustancias macrocíclicas– frente a otros nutrientes de menor peso molecular. Entre los silicatos, la sepiolita, con elevada área específica, ofrece las mayores expectativas. Nuevos desarrollos comerciales como Novasil Plus están mejorando las propiedades de retención de micotoxinas de estos materiales. Su modo de acción es aumentar el espacio accesible para las micotoxinas utilizando nuevos cationes como el Ca<sup>2+</sup> no presentes en la red cristalina original.



Por su parte, el carbón activo presenta mucha menor actividad química, pero su elevada superficie específica y naturaleza poliaromática aseguran la maximización de las posibles interacciones débiles (Van der Waals principalmente), que permitirán la fisisorción de las micotoxinas. Sin embargo, la poca selectividad demostrada a la hora de retirar nutrientes esenciales de los piensos ha obligado con el tiempo a no utilizar este material adsorbente.

## BIBLIOGRAFÍA

- AMEZQUETA, S., GONZALEZ-PENAS, E., MURILLO-ARBIZU, M. & LOPEZ DE CERAIN, A. 2009. Ochratoxin A decontamination: A review, *Food Control*, 20, pp. 326-333.
- AUERBACH, S. M., CARRADO, K. A. & DUTTA, P. K. 2004. *Handbook of layered materials*, Marcel Dekker.
- BRÄSE, S., ENCINAS, A., KECK, J. & NISING, C. F. 2009. Chemistry and Biology of Mycotoxins and Related Fungal Metabolites, *Chem. Rev.* 109, pp. 3903-3990.
- CASTAÑEDA, R. 2005. *Síntesis dirigida de zeolitas: parámetros directores de estructura*. Tesis doctoral.
- CHOI, J. H., CHOI, S. J., OH, J. M. & PARK, T. 2007. Clay Minerals and layered double hydroxides for novel biological applications, *Applied Clay Science*, 36, pp. 122-132.
- DENG, Y., BARRIENTOS, A. L., VELÁZQUEZ, BILLES, F. & DIXON, J. B. 2010. Bonding mechanisms between aflatoxin B1 and smectite, *Applied Clay Science*, 50, pp. 92-98.
- DENG, Y., DIXON, J. B., WHITE, N., LOEPPERT, R. H. & ANTHONY, S. R. JUOM. 2006. Bonding between polyacrylamide and smectite Colloids and Surfaces, *A. Physicochem. Eng. Aspects*, 281, pp. 82-91.
- DENG, Y. & SZCZERBA, M. 2011. Computational evaluation of bonding between aflatoxin B1 and smectite, *Applied Clay Science*, 54, pp. 26-33.
- Di' MELLO, J. P. F., PLACINTA, C. M., MACDONALD, A. M. C. 1999. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity, *Animal Feed Science and Technology*, 80, pp. 183-205.
- Di NATALE, F. *et al.* 2009. Adsorbents selection for aflatoxins removal in bovine milks, *Journal of Food Engineering*, 95, pp. 186-191.
- DIXON, J. B., KANNEWISCHER, I., TENORIO-ARVIDE, M. G. & BARRIENTOS-VELAZQUEZ, A. L. 2008. Aflatoxin sequestration in animal feeds by quality-labeled smectite clays: An introductory plan, *Applied Clay Science*, 40, pp. 201-208.
- EDRINGTON, T. S., SARRB, A. B., KUBENA, L. F., HARVEY, R. B. & PHILLIPS, T. D. 1996. Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS), acidic HSCAS, and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M, in turkey poult. Lack of effect by activated charcoal on aflatoxicosis, *Toxicology Letters*, 89, pp. 115-122.
- FIRMIN, S., MORGAVI, D. P., YIANNIKOURIS, A. & BOUDRA, H. 1994. Effectiveness of modified yeast cell wall extracts to reduce aflatoxin B1 absorption in dairy ewes, *J. Dairy Science*, 94, pp. 5611-5619.
- GOWDA, N. K. S., SUGANTHI, R. U., MALATHI, V. & RAGHAVENDRA, A. 2007. Utilization of dietary minerals and blood biochemical values in lambs fed hydrated sodium calcium aluminosilicate sorbent material at supplementary level, *Small Ruminant Research*, 69, pp. 17-22.
- HUSSEIN, S., BRASEL, J., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals, *Toxicology*, 167, pp. 101-134.
- HUWIG, A., FREIMUND, S., KAPPELI, O. & DUTLER, H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents, *Toxicology Letters*, 122, pp. 179-188.
- JAYNES, W. F., ZARTMAN, R. E. & HUDNALL, W. H. 2007. Aflatoxin B1 adsorption by clays from water and corn meal, *Applied Clay Science*, 36, pp. 197-205.
- KOGAN, G., KOCHER, A. 2007. *Livestock Science*, 109, pp. 161-165.
- MAXWELL, C. K. LEUNG, DÍAZ-LLANO, G., SMITH, T. K. 2006. Mycotoxins in Pet Food: A Review on Worldwide Prevalence, *J. Agric. Food Chem.*, 54, pp. 9623-9635.
- NAGESWARA, S. B., CHOPRA, R. C. 2001. Influence of sodium bentonite and activated charcoal on aflatoxin M1 excretion in Milk of goats, *Small Ruminant Research*, 41, pp. 203-213.
- OLAH, G. A. & MOLNAR, A. 2003. *Hydrocarbon Chemistry*, Wiley & Sons.
- OSUMI, M. 1998. The ultrastructure of yeast: cell wall structure and formation, *Micron*. 29, pp. 207-233.
- RAMOS A. J. & HERNÁNDEZ E. 1996. In vitro aflatoxin adsorption by means of a montmorillonite silicate. A study of adsorption isotherms, *Animal Feed Science Technology*, 62, pp. 263-269.



- RAMOS, A. J. & HERNÁNDEZ, E. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review, *Animal Feed Science Technology*, 65, pp. 197-206.
- RINGOT, D., LERZY, B., BONHOURE, J. P., AUCLAIR, E., ORIOL, E. & LARONDELLE, Y. 2005. Effect of temperature on in vitro ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives, *Process Biochemistry*, 40, pp. 3008-3016.
- ROBINSON, A., TAYLOR, J. F., WANG, J.-S., PHILLIPS, T. D. 2011. Characterization and safety of uniform particle size NovaSil clay as a potential aflatoxin enterosorbent, *Applied Clay Science*, 54, pp. 248-257.
- VAR, I., KABAK, B. & ERGINKAYA, Z. 2008. Reduction in ochratoxin A levels in white wine, following treatment with activated carbon and sodium bentonite, *Food Control*, 19, pp. 592-598.

