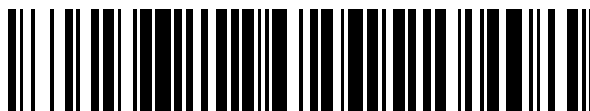


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 130**

51 Int. Cl.:

B01J 20/14 (2006.01)

B01J 20/32 (2006.01)

A23K 1/175 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09164063 .1**

96 Fecha de presentación: **29.06.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2279787**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.02.2011**

54

Título: **Adsorbente de micotoxinas**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:

04.12.2012

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

04.12.2012

73 Titular/es:

ADIVETER S.L. (100.0%)
Poligon Industrial Agro-Reus 5, calle Prudenci
Bertrana
43206 Reues, ES

72 Inventor/es:

SALADO FONT, SILVIA MARIA;
GYUNOT DE BOISMENU, MARIE HELENE;
MEDINA CABELLO, FRANCISCO;
SALLA CABAU, ISABEL y
SUEIRAS ROMERO, JESUS EDUARDO

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 392 130 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Adsorbente de micotoxinas

Sector técnico de la invención

La presente invención se refiere a un adsorbente de micotoxinas, así como al procedimiento de preparación de dicho adsorbente. La invención se refiere también al uso de dicho adsorbente en piensos para la adsorción de micotoxinas, en especial para la adsorción de micotoxinas tales como las aflatoxinas, la zearalenona, la ocratoxina A y la fumonisina B1. Además, la invención se refiere, por una parte, a un aditivo para piensos que comprende dicho adsorbente y, por otra parte, a los piensos que comprenden dicho aditivo.

Antecedentes de la invención

Las micotoxinas (del griego μύκης (mykes, mukos) "hongo") son toxinas producidas por un organismo del Reino Fungi, que incluye setas, mohos y levaduras. Se desarrollan en los productos agrícolas, y especialmente en especies de cereales y frutos en grano. Aunque durante siglos se han reconocido sus efectos nocivos, sólo en los últimos tres decenios se ha tomado conciencia plena de lo que representan exactamente para la salud y la economía.

Cuando las condiciones son propicias, los hongos proliferan, formando colonias, y en niveles específicos de humedad, de temperatura o de oxígeno en el aire, los niveles de micotoxinas pueden llegar a ser altos. Las micotoxinas son compuestos que difieren mucho en sus propiedades químicas, biológicas y toxicológicas por lo que su peligrosidad varía ampliamente. Mientras algunos hongos producen toxinas severas, otras son mortales, causan enfermedades o problemas de salud identificables, debilitan el sistema inmune sin producir síntomas específicos o actúan como alergénicos o irritantes. También existen micotoxinas que no tienen ningún efecto conocido en el organismo humano.

Además, las micotoxinas son compuestos ubicuos, lo que implica que el problema de las micotoxicosis comienza en el campo y continúa durante toda la cadena de transformación-comercialización llegando hasta el consumidor. El consumo de piensos preparados con ingredientes como maíz, cebada, trigo, avena y centeno, tortas de semillas oleaginosas, de maní, algodón o palma contaminados con micotoxinas provoca tanto micotoxicosis en los animales, como problemas de residuos de micotoxinas en productos derivados, tales como la leche, la carne y los huevos. Por lo tanto, la contaminación de cereales y cualquier producto susceptible de contener micotoxinas por hongos causa, no sólo altas pérdidas después de la recolección, sino que también constituye una fuente de sustancias tóxicas y peligrosas para el ser humano.

Por último, las micotoxinas resisten la descomposición, así que permanecen en la cadena de alimentos en carnes y productos lácteos. Incluso los tratamientos de temperatura, tales como cocinar y congelar, no destruyen todas las micotoxinas.

Así pues, muchas micotoxinas tienen un efecto nocivo para la salud, en primer lugar, sobre los animales alimentados con cereales que podrían estar infectados, pero también, en segundo lugar, sobre las personas a través de la cadena alimentaria. De hecho, se han denunciado en diferentes continentes casos de enfermedades agudas en seres humanos, tales como hepatitis aflatóxica, ergotismo vascular y entérico, micotoxicosis por tricotecenos. Datos circunstanciales vinculan también enfermedades crónicas como el cáncer del hígado y del esófago al consumo de alimentos contaminados por la aflatoxina y deoxinivalenol.

Adicionalmente, las consecuencias económicas de las micotoxinas, en términos de pérdidas de alimentos y piensos, reducción de la productividad de los animales, pérdidas de ingresos en divisas, aumento del costo de la inspección y los análisis, compensación por reclamaciones, costos de prevención y medidas de control son considerables.

Por todo lo anteriormente dicho, existe la necesidad de encontrar medidas de prevención y control que asegurarían que las micotoxinas presentes en piensos no acceden a quien consuma el material contaminado impidiendo así que ejerzan su efecto.

En la publicación "*Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds*" de Ramos *et al.* (1996), se describe que las micotoxinas del grupo de las aflatoxinas se fijan, en virtud de su estructura molecular específica, con elevada especificidad en algunos adsorbentes minerales tales como zeolita, bentonita, otros aluminosilicatos y otros minerales (véase publicación A.J. Ramos, *Journal of Food Protection*, tomo 59(6), 1996, páginas 631-641). Esta publicación viene a corroborar lo que se había ya descrito en la solicitud de patente alemana DE3810004, referente al uso de la bentonita para la adsorción de micotoxinas en seres humanos o animales, o en la solicitud de patente americana US5149549, referente al uso de una arcilla, montmorillonita, para la adsorción de micotoxinas en alimentos contaminados, o también en la solicitud de patente europea EP1890804 referente al uso de la estevensita para adsorber micotoxinas.

R.M. Natour; S.M. Yousef, *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, Volúmen 16 (1), 1998, pág. 113-127 describe el

uso de la tierra de diatomeas para la adsorción de micotoxinas.

Sin embargo, la adsorción de micotoxinas sobre minerales no modificados no es eficiente para la mayor parte de otras micotoxinas.

A continuación, se detallan otros métodos que se desarrollaron para intentar también extender la capacidad de adsorción de adsorbentes minerales a otras importantes micotoxinas (no aflatoxinas), como por ejemplo la zearalenona, las ocratoxinas, las fumonisinas, la toxina T2, deoxinivalenol o vomitoxina, la micotoxina HT-2, o la nivalenol.

El documento US6165485 se refiere a una arcilla bentonita modificada con una amina cuaternaria comprendiendo en su estructura un sustituyente benzol, y que puede ser, además, tratada con yodo para mejorar su eficacia como biocida.

Más concretamente en el sector de los piensos para los animales, el documento US6045834 propone la combinación de células de levadura modificada y de minerales inorgánicos tales como la zeolita, la bentonita o el silicato de aluminio para desactivar micotoxinas presentes en los piensos y así prevenir la absorción de las micotoxinas en la sangre del animal.

En el documento US5639492, se emplea una arcilla bentonita de calcio activada por vía ácida para adsorber micotoxinas en los piensos.

El documento YU P-838/00 describe la utilización de un mineral tipo clinoptilolita/helandita orgánicamente modificado con una amina cuaternaria que posee un grupo alifático con una cadena larga para adsorber las micotoxinas aflatoxinas y no aflatoxinas contenidas en los piensos para animales. El objeto principal en este documento subyace en una corrección controlada de la superficie del mineral, y más específicamente, del carácter hidrófilo o hidrófobo del mineral, mediante la adición de una cantidad controlada de una amina cuaternaria que posee un grupo alifático con una cadena larga de preferiblemente 18 átomos carbono. Se adapta la cantidad de amina añadida en función del tipo de micotoxinas a adsorber.

Finalmente, cabe destacar la siguiente patente europea EP1150767B1, cuyo equivalente en España es la patente ES2201820. Este documento se refiere un adsorbente de micotoxinas, en especial para la adsorción de aflatoxinas y otras micotoxinas (no aflatoxinas) en los piensos mediante la mezcla de un silicato tipo montmorillonita (en especial bentonita) no modificado, y un silicato tipo montmorillonita (en especial bentonita, o la vermiculita) orgánicamente modificado con compuestos de amonio cuaternario con al menos un grupo alquilo C₁₀ a C₂₂ y al menos un sustituyente aromático. Se describe que, mediante modificación de un silicato estratificado con una cantidad relativamente pequeña de un compuesto de amonio cuaternario con un grupo alquilo C₁₀ a C₂₂ de cadena larga, y al menos un sustituyente aromático, ya puede lograrse un aumento significativo del rendimiento en la adsorción de micotoxinas aflatoxinas y no aflatoxinas. También se describe que pueden emplearse bentonitas activadas por vía ácida.

Sin embargo, cabe destacar que el inconveniente de este tipo de adsorbentes minerales tales como la zeolita, la bentonita, los silicatos de aluminio... es que suelen incluirse en concentraciones del 1 - 2 % en peso, lo que reduce el valor nutritivo del alimento. Además, dado que su actividad no es demasiado específica, además de adsorber solo un estrecho rango de micotoxinas, pueden presentar problemas de selectividad dando lugar a una adsorción indeseada de nutrientes como vitaminas, minerales y aminoácidos. Así, existe cierta preocupación por el hecho de que el uso en pienso de algunos aluminosilicatos podrían adsorber nutrientes o micronutrientes en el tracto gastrointestinal (*Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2008, 32(3), 183-189).

Por ejemplo, la riboflavina (E101), también conocida como vitamina B2, es un micronutriente que juega un papel clave para mantener una buena salud en seres humanos y animales. Una de sus funciones consiste en eliminar sustancias nocivas del organismo, además de participar en el metabolismo de otras vitaminas. Para esta vitamina se ha demostrado que existe una elevada adsorción en los espacios interlaminares de la esmectita (*Clays and Clay Minerals*, Vol.31, No.6, 435-439, 1983). Este efecto adverso alimenticio se describe también en la publicación *Animal Research*, 51, 2002, 81-99, ya que las grandes cantidades que deben ser añadidas para conseguir un efecto perceptible reducen la biodisponibilidad de ciertos minerales o vitaminas en la dieta.

Así, es muy importante encontrar nuevos productos, que por una parte presenten propiedades eficientes en la adsorción de un amplio espectro de micotoxinas, sin que por otra parte limiten la biodisponibilidad de los nutrientes y micronutrientes en los animales.

Por todo lo anteriormente dicho y sabiendo además que la contaminación de los piensos por las micotoxinas representa un problema muy grave, al tener un impacto económico y contra la salud tan importante, es necesario seguir investigando para obtener una adsorción eficiente y específica de micotoxinas presentes en los piensos, que sea fácil de poner en práctica.

El objeto de la presente invención es proporcionar un adsorbente de micotoxinas alternativo, adecuado para los piensos, que adsorba eficazmente cualquier tipo de micotoxinas de forma selectiva para evitar la interacción no buscada con nutrientes y que tenga, además, un procedimiento de preparación simplificado para poder ser llevado fácilmente a la práctica y con un coste económico reducido.

Explicación de la invención

De la investigación exhaustiva y de un modo sorprendente, los inventores de la presente invención han constatado que el adsorbente de micotoxinas según la reivindicación 1 es muy eficiente para la adsorción de cualquier tipo de micotoxinas contenidas en los piensos para animales y, además, de forma selectiva para evitar la interacción no buscada con nutrientes.

El adsorbente de micotoxinas está caracterizado porque comprende un silicato de origen orgánico, que presenta una estructura amorfa, modificado con una amina primaria de larga cadena alifática lineal apolar de doce carbonos denominada dodecilamina, o también laurilamina o cocoamina.

Los compuestos de sílice de origen orgánico y estructura amorfa son seleccionados dentro del grupo formado por la tierra de diatomeas, las radiolarias, las silicoflagelas y las esponjas silíceas.

En una realización preferida de la invención, el silicato con una estructura amorfa utilizado en la composición del adsorbente de micotoxinas, es la tierra de diatomeas. La diatomita ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) es una roca sílicea de origen sedimentario, que presenta diversos grados de consolidación; y que principalmente está constituida de restos fosilizados de plantas acuáticas microscópicas, las diatómeas.

Según una forma preferida de realización de acuerdo con la invención, el adsorbente de micotoxinas comprende entre 85 % y 98 % en peso de silicato y hasta un 15 % en peso de dodecilamina.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para preparar el adsorbente de micotoxinas definido anteriormente, y que comprende las etapas siguientes:

- a) se agrega lentamente una solución de dodecilamina en metanol a un silicato de origen orgánico con estructura amorfa,
- b) se homogeniza la mezcla obtenida en la etapa a),
- c) se deja secar la mezcla obtenida en la etapa b), y
- d) se muele el producto seco de la etapa c) hasta obtener un producto en forma de polvo.

Otro objeto de la presente invención es el uso del adsorbente para la adsorción de micotoxinas en los piensos destinados a cualquier especie animal.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a cualquier aditivo para piensos que comprenda el adsorbente de micotoxinas definido anteriormente.

Según una forma preferida de realización de acuerdo con la invención, el aditivo para piensos comprende además al menos un compuesto seleccionado dentro del grupo formado por extractos de levaduras, enzimas, vitaminas, minerales, probióticos, prebióticos.

Otro objeto de la presente invención es un pienso para animales que comprende el aditivo definido anteriormente.

En una forma preferida de realización de acuerdo con la invención, el pienso para animales comprende hasta un 2 % en peso del aditivo.

Breve descripción de las figuras

Con la finalidad de ilustrar mejor las ventajas y propiedades del adsorbente de micotoxinas objeto de la invención, se adjuntan unas gráficas a modo de ejemplos no limitativos:

- la Fig. 1 muestra las interacciones entre el aminoácido fenilalanina y el adsorbente de la invención y se compara con otros diferentes adsorbentes;
- la Fig. 2 corresponde al mismo tipo de gráfico que el de la Fig. 1 pero con el aminoácido tiroxina y se compara con otros diferentes adsorbentes;
- la Fig. 3 corresponde al mismo tipo de gráfico que el de la Fig. 1 pero con el aminoácido arginina y se compara con otros diferentes adsorbentes; y
- la Fig. 4 muestra las interacciones entre el antibiótico oxitetracilina y el adsorbente de la invención y se compara con otros diferentes adsorbentes;

Explicación detallada de la invención

Tal como se explicó anteriormente, el adsorbente de micotoxinas de la invención se basa en la combinación de un silicato de origen orgánica con una estructura amorfa y la dodecilamina, es decir, una amina primaria de larga cadena alifática lineal apolar de doce carbonos.

El silicato de origen orgánico con una estructura amorfa puede ser, por ejemplo, la tierra de diatomeas, las radiolarias, silicoflagelas y esponjas silíceas.

El silicato de origen orgánico con una estructura amorfa está modificado orgánicamente exclusivamente con la amina primaria dodecilamina. Los inventores investigaron otras aminas primarias, incluso también aminas semejantes con una cadena alifática lineal apolar larga, pero no se pudo obtener resultados de adsorción de micotoxinas aceptables.

Todos los materiales citados anteriormente en los documentos del estado de la técnica tienen una característica común: los minerales de arcilla utilizados presentan estructuras cristalinas definidas. Así, por ejemplo, las zeolitas presentan unas estructuras en forma de canales y cavidades y las arcillas tipo montmorillonita presentan una estructura laminar y con una distribución de centros activos determinada. En cambio, la tierra de diatomeas presenta una estructura cristalina amorfa.

Por otro lado, tanto las zeolitas como las arcillas presentan una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC) que les puede ser útil para múltiples aplicaciones aunque con baja selectividad. Referente a la adsorción de micotoxinas, estos materiales pueden intercambiar una gran cantidad de sales de amonio cuaternario que podrían ser también útiles en la adsorción de micotoxinas.

No obstante, la tierra de diatomeas tiene un comportamiento muy diferente tanto a las zeolitas como a las arcillas. Las tierras de diatomeas no son cristalinas, presentando mayoritariamente una forma amorfa y tienen una capacidad de intercambio catiónico muy inferior a las zeolitas y a las arcillas (ver Tabla 1).

Tabla 1: Valores de CIC (meq/100 g) para algunos materiales.

Material	Valor CIC (en meq/100g)
Zeolita	hasta 500
Bentonita	80
Montmorillonita	80-200
Vermiculita	100-200
Tierra de diatomeas	Inferior a 20

En vista de los resultados de esta tabla, no parecía efectivo realizar un intercambio con aminas cuaternarias, ya que la cantidad de amina que hubiera quedado sobre la tierra de diatomeas habría sido muy pequeña y cabía esperar que el adsorbente resultante no presentase buenas propiedades de adsorción de micotoxinas.

La idea novedosa de los investigadores de la presente invención se basa en haber optado por un anclado de aminas primarias mediante fuerzas de interacción de Van der Waals entre los grupos hidroxilos de los silanoles libres presentes en la superficie de la tierra de diatomeas y el grupo amino de la amina primaria. No existe un intercambio catiónico como en el caso de los adsorbentes del estado de la técnica. El hecho de utilizar una amina primaria permite que exista una interacción por efecto inductivo entre los electrones libres del nitrógeno de la amina y la estructura de la micotoxina, hecho que parece favorecer la adsorción de micotoxinas de una forma más favorable a si la amina estuviera en forma catiónica.

Por último, todos los adsorbentes encontrados en la bibliografía tienen unas áreas superficiales muy elevadas en comparación con la tierra de diatomeas. Por lo tanto, no era de esperar estos resultados con un material de baja área superficial.

Los investigadores de la presente invención llegaron de un modo sorprendente a la conclusión que, el tipo de amina a emplear y la forma de anclarla en la superficie de la tierra de diatomeas, parecen ser los factores más importantes de la alta selectividad de estos materiales en la adsorción de micotoxinas.

La suma de todos estos factores permite decir que los resultados obtenidos no eran previsible a partir de la

documentación presente en el estado de la técnica. Los documentos del estado de la técnica, como por ejemplo el documento más cercano ES2201820, no contemplan esta opción de escoger una amina primaria para modificar el silicato, ni tampoco consideran la posibilidad de utilizar un silicato con un intercambio catiónico bajo para evitar la interacción con nutrientes.

Por otra parte, cabe destacar que el procedimiento de obtención del adsorbente según la invención se simplifica en comparación al de cualquier otro procedimiento del estado de la técnica. Efectivamente, no se trata de realizar un intercambio catiónico, ya que la dodecilamina es una amina neutra y no participa en procesos de intercambio catiónico. Debido a su cadena alifática lineal apolar de doce carbonos, la dodecilamina tiene un carácter hidrófobo. La interacción entre el silicato tipo tierra de diatomeas y la amina se basa en las fuerzas de Van der Waals. Así, en el proceso de obtención del adsorbente de la invención se utilizan solamente dos reactivos, el silicato y la dodecilamina.

Los siguientes ejemplos, ilustran, pero no limitan, el ámbito de la presente invención.

- Ejemplo 1: Síntesis de la tierra de diatomeas modificada con la dodecilamina al 5 % en peso.

A continuación se describe un ejemplo de preparación de un adsorbente de micotoxinas según la presente invención.

Se pesan 50 g de tierra de diatomeas en un recipiente de vidrio. Se agregan lentamente 40 mL de una solución de dodecilamina (DDA) en metanol a una concentración de 62,5 mg/mL. Se homogeniza la mezcla con una espátula hasta que todo el sólido se vea impregnado con el líquido. Se deja secar la mezcla en una estufa a 103 ± 2 °C durante 24 horas aproximadamente. Se muele y homogeniza el producto seco en un mortero hasta obtener un polvo fino.

- Ejemplo 2: Adsorción de las micotoxinas mediante test *in vitro* simulando condiciones fisiológicas de pH, temperatura, tiempo de tránsito e iones y enzimas digestivas.

En las siguientes tablas se muestran resultados de adsorción de las micotoxinas zearalenona (ver tabla 2), de la ocratoxina (ver tabla 3) y de la fumonisina B1 (ver tabla 4), obtenidos con la tierra de diatomeas natural, es decir, no modificada, y con la tierra de diatomeas modificada con la dodecilamina a diferentes concentraciones comprendidas entre el 1 % y el 20 % en peso.

Tabla 2: Adsorción de la micotoxina zealena

Tipo de adsorbente	ZEARALENONA 1500ng/ml			
	adsorción al 1%	Adsorción al 0,5%	adsorción al 0,2%	adsorción al 0,1%
Diatomita natural	2,8 (2,0)	*	*	*
Diatomita + 1% DDA	*	33,7 (1,1)	*	*
Diatomita + 2% DDA	*	48,4	*	*
Diatomita + 5% DDA	*	81,3 (4,5)	53,8 (6,5)	*
Diatomita + 8% DDA	*	81,4 (3,6)	*	*
Diatomita + 20% DDA	91,6 (3,1)	85,4 (0,7)	57,1 (1,1)	37,3 (2,4)

Tabla 3: Adsorción de la micotoxina ocratoxina

Tipo de adsorbente	OCRATOXINA 150ng/ml				
	adsorción al 1%	adsorción al 0,5%	adsorción al 0,2%	adsorción al 0,1%	adsorción al 0,05%
Diatomita natural	0,0 (0,0)	*	*	*	*
Diatomita + 1% DDA	*	17,7 (0,3)	*	*	*
Diatomita + 2% DDA	*	37,35	*	*	*
Diatomita + 5% DDA	*	92,1 (0,4)	73,8 (1,9)	31,2 (3,2)	16,3 (4,7)
Diatomita + 8% DDA	*	92,5 (0,5)	79,9 (1,1)	51,2 (5,5)	22,9 (1,9)
Diatomita + 20% DDA	*	92,5 (0,8)			

Tabla 4: Adsorción de la micotoxina fumonisina B1

Tipo de adsorbente	FUMONISINA B1 1800ng/ml		
	adsorción al 1%	adsorción al 0,5%	adsorción al 0,2%
Diatomita natural	1,5 (0,4)	*	*
Diatomita + 1% DDA	*	*	*
Diatomita + 2% DDA	*	45,8 (0,7)	*
Diatomita + 5% DDA	*	74,2 (37,8)	*
Diatomita + 8% DDA	*	88,4	82,8 (16,5)
Diatomita + 20% DDA	*	89,3 (1,1)	*

De estos resultados, se desprende que la tierra de diatomeas natural utilizada en un aditivo de piensos a diferentes concentraciones presenta una muy baja capacidad de adsorción de las micotoxinas. Por esta razón, un experto en la técnica no hubiera pensado tomar como punto de partida este material para intentar obtener un adsorbente eficiente de micotoxinas, ya que el material de partida ya no presenta ni siquiera una adsorción de micotoxinas muy baja, sino nula. Sin embargo, como se puede comprobar en la tabla 2, sorprendentemente la tierra de diatomeas modificada con la dodecilamina sí presenta una muy eficiente adsorción de la micotoxinas a partir de una concentración en dodecilamina de 5 % en peso. Estos resultados se consiguen cuando la tierra de diatomeas modificada presenta al menos un 0.2 % en peso del producto final (por ejemplo, un pienso).

- Ejemplo 3: Adsorción de los nutrientes

Se han realizado varios ensayos para comprobar la selectividad de la tierra de diatomeas modificada con la dodecilamina. A continuación se detallan los resultados de interacción entre el adsorbente de la invención y algunos aminoácidos, algunos minerales y un antibiótico.

Materiales:

Se evaluaron tres sustratos:

- tierra de diatomeas natural (ND)
- carbono activo (AC), y
- tierra de diatomeas modificada con la dodecilamina (M)

Interacciones con la solución de nutrientes:

Las interacciones fueron evaluadas mediante ensayos de equilibrio. En vasos de precipitados, se mezclaron 0,5 g y 5 g de cada sustrato con 500 mL de una solución de nutrientes (FRESUBIN FIBRA ORIGINAL) con un contenido en materia seca del 16 %. Esta solución contiene proteínas, minerales y vitaminas, y se utiliza ampliamente para los seres humanos como nutrición enteral. Se añadieron 24 g/L de Agua de Perpton tamponada para incrementar la cantidad de aminoácidos libres. Además, se añadió 1 mL de una solución de oxitetraciclina a 25 g/L en cada replica para proporcionar un contenido inicial de oxitetraciclina de 255 ppm (sobre materia seca) o 50 ppm (sobre materia húmeda).

Las suspensiones se mezclaron constantemente (30rpm) en la oscuridad a 38 °C para evitar un gradiente de concentración. Diversas muestras de unos 100 mL fueron extraídas a diferentes tiempos de interacción líquido/sólido (al inicio, después de 6 horas y después de 12 horas) para determinar la cantidad de aminoácidos, aniones/cationes y el antibiótico oxitetraciclina, en la solución. Las muestras se centrifugaron a 4500 rpm durante 15 minutos y se sacaron muestras del sobrenadante líquido y se guardaron a -20 °C para los siguientes análisis:

- 25 mL para los análisis de la oxitetraciclina
- 20 mL para los análisis de los aminoácidos, y
- el resto se secó y se molió para realizar el análisis de los minerales.

En la tabla 5 siguiente, se detallan las diferentes muestras de incubación:

Tabla 5: Muestras de incubación

	Abreviación	Volumen de FRESUBIN (mL)	Cantidad de adsorbente (g)	Cantidad de oxitetraciclina (mL)	Extracción de muestra (horas)
Control negativo (solución enteral)	CN	500	0	1	0,6,12
Diatomita natural 0,5%	ND1	500	0,625	1	6,12
Diatomita natural 5%	ND2	500	6,25	1	6,12
Carbón activo 0,5%	AC1	500	0,625	1	6,12
Carbón activo 5%	AC2	500	6,25	1	6,12
Adsorbente de la invención 0,5%	M1	500	0,625	1	6,12
Adsorbente de la invención 5%	M2	500	6,25	1	6,12

Resultados

En aquellos parámetros en los que se detectó un cambio en el contenido en nutrientes, se describe la evolución en el tiempo de dicha variación. Para facilitar la interpretación de los resultados los datos provenientes de las dos concentraciones de un mismo producto se analizaron conjuntamente.

Interacciones con los aminoácidos fenilalanina, tiroxina y arginina

No se observan diferencias en la concentración de los aminoácidos (ver figuras 1, 2 y 3). En consecuencia, no existe ninguna interacción entre los aminoácidos fenilalanina, tiroxina y arginina y el adsorbente de la invención. Únicamente se observan interacciones con el carbón activo.

Interacciones con los minerales Na, K, Ca, P, Mg, Fe, Zn, y Mn

Las concentraciones en Na, K, Ca, P, Mg, Fe, Zn, y Mn se mantuvieron constantes en las muestras extraídas a diferentes intervalos de tiempo. Se puede concluir que no existe ninguna adsorción de estos iones por parte de ninguno de los diferentes adsorbentes ensayados, incluido el adsorbente de la invención.

Interacciones con el antibiótico oxitetraciclina

Según la figura 4, se desprende que no existe ninguna interacción entre el adsorbente de la invención y la oxitetraciclina. Diatomitas naturales muestran una ligera adsorción después de 12 horas de incubación. El carbón activo, utilizado como control positivo, presenta una adsorción importante en tan solo 6 horas de incubación.

Como se puede observar en todas las figuras, aunque el carbón activo, empleado en los ensayos como control positivo de adsorción, producía una adsorción de todos los nutrientes señalados, el nuevo aditivo no modificaba la concentración de dichos nutrientes, señalando una ausencia de interacción con ellos.

En conclusión, se ha conseguido desarrollar no solamente un nuevo material adsorbente de micotoxinas, sino también un procedimiento de preparación simplificado (ver ejemplo de preparación 1). Este nuevo material a base de un silicato de origen orgánico con una estructura amorfa y modificado con la dodecilamina adsorbe sorprendentemente y de un modo muy eficiente cualquier tipo de micotoxinas, lo que no era previsible sabiendo que un silicato con estructura amorfa y no modificado orgánicamente no interacciona de ningún modo con las micotoxinas (ver ejemplo 2). Además, el adsorbente de la invención presenta la ventaja de que con él no se altera la biodisponibilidad de los nutrientes del alimento consumido, esenciales para la salud de los animales que se toman el pienso con un aditivo que comprende el adsorbente de la invención (ver resultados obtenidos en el ejemplo 3).

REIVINDICACIONES

- 1.- Adsorbente de micotoxinas, **caracterizado porque** comprende un silicato de origen orgánico, que presenta una estructura amorfa, modificado orgánicamente con la dodecilamina.
- 2.- Adsorbente de micotoxinas según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el silicato de origen orgánico con una estructura amorfa se selecciona del grupo formado por la tierra de diatomeas, radiolarias, silicoflagelas y esponjas silíceas.
- 3.- Adsorbente de micotoxinas según la reivindicación 2, **caracterizado porque** el silicato de origen orgánico con una estructura amorfa es la tierra de diatomeas.
- 4.- Adsorbente de micotoxinas según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** comprende entre 85 % y 98 % en peso de silicato y hasta un 15 % en peso de dodecilamina.
- 5.- Procedimiento para la preparación del adsorbente de micotoxinas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** comprende las etapas siguientes:
 - a) se agrega lentamente una solución de dodecilamina en metanol a un silicato de origen orgánico con estructura amorfa,
 - b) se homogeniza la mezcla,
 - c) se deja secar la mezcla obtenida en la etapa b), y
 - d) se muele el producto seco de la etapa c) hasta obtener un producto en forma de polvo.
- 6.- Uso del adsorbente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la adsorción de micotoxinas en los piensos destinados a cualquier especie animal.
- 7.- Aditivo para piensos que comprende el adsorbente de micotoxinas definido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 8.- Aditivo para piensos según la reivindicación 7, **caracterizado porque** comprende además al menos un compuesto seleccionado dentro del grupo formado por extractos de levaduras, enzimas, vitaminas, minerales, probióticos, prebióticos.
- 9.- Pienso para animales que comprende el aditivo definido en una cualquiera de las reivindicaciones 7 ó 8.
- 10.- Pienso para animales según la reivindicación 9, **caracterizado porque** comprende hasta un 2 % en peso del aditivo.

Figura 1: Interacciones entre los diferentes adsorbentes y la fenilalanina

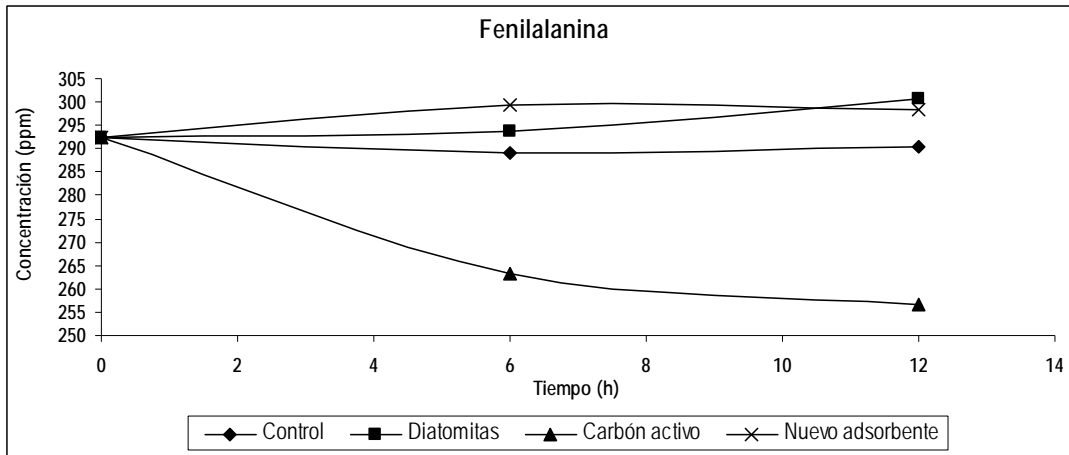


Figura 2: Interacciones entre los diferentes adsorbentes y la tiroxina

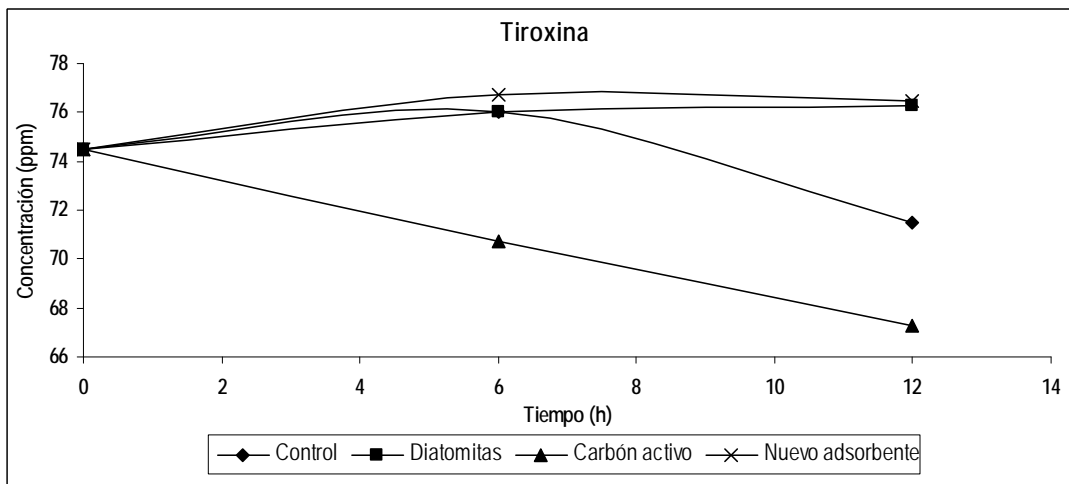


Figura 3: Interacciones entre los diferentes adsorbentes y la arginina

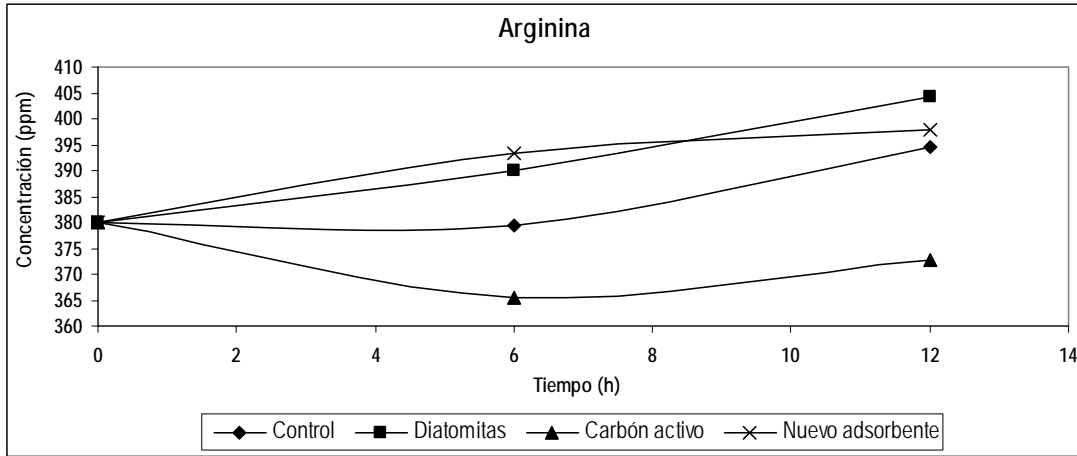


Figura 4: Interacciones entre los diferentes adsorbentes y la oxitetraciclina

