

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 776 464**

51 Int. Cl.:

A23K 20/24 (2006.01)

A23L 3/34 (2006.01)

A23L 5/00 (2006.01)

A23L 5/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2006 PCT/US2006/027581**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.01.2007 WO07011825**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2006 E 06787483 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2020 EP 1912520**

54 Título: **Conservante y aditivo para alimentos y piensos**

30 Prioridad:

19.07.2005 US 700592 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.07.2020

73 Titular/es:

**TEXAS ENTEROSORBENTS INC. (50.0%)
1303 Pecan Street P.O. Box 1867**

**Bastrop, TX 78602, US y
THE TEXAS A&M UNIVERSITY SYSTEM (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CARPENTER, ROBERT, H.;
KEMP, MAURICE, CLARENCE y
MCKENZIE, K., SCOTT**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 776 464 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).

DESCRIPCIÓN

Conservante y aditivo para alimentos y piensos

Antecedentes

5 La presente invención se refiere a un conservante y aditivo para alimentos y piensos. Más específicamente, un aspecto de la invención se refiere a diversas arcillas y minerales acidificados como aditivo para alimentos o piensos para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos e inactivar las micotoxinas, tales como aflatoxinas, presentes como contaminantes en alimentos para seres humanos y piensos para animales. Otro aspecto de la presente invención se refiere a una arcilla de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado con una distribución de tamaño de partículas relativamente uniforme.

10 La contaminación por microorganismos y aflatoxinas de alimentos para seres humanos y piensos para animales constituye una grave amenaza para la salud de seres humanos y animales. En general, los microorganismos se consideran que son animales microscópicos o ultramicroscópicos, plantas, bacterias, virus, etc., y las aflatoxinas (Afs) son subproductos dañinos del crecimiento de moho, que son potencialmente fatales para los seres humanos y los animales. Adicionalmente, tal contaminación en alimentos para seres humanos y piensos para animales también puede conducir a graves pérdidas económicas.

15 Las aflatoxinas son producidas por *Aspergillus flavus* o *A. parasiticus*. Hay al menos cuatro aflatoxinas de origen natural, a saber, AFB1, AFB2, AfG1 y AfG2, como se muestra en la figura 1. Muchas aflatoxinas se presentan como contaminantes naturales en una variedad de alimentos y piensos, tales como maíz, trigo, cebada, frijoles, sorgo, maní mohoso, piensos mixtos y algunos granos de café. También se encuentran como residuos en el hígado, los riñones de los cerdos. Se sabe que muchas de estas aflatoxinas son carcinógenos fuertes, causando cánceres en seres humanos y también son capaces de provocar otros efectos tóxicos, tales como la teratogénesis.

20 Se han desarrollado muchas estrategias para inactivar las aflatoxinas en alimentos y piensos y las estrategias dan diversos grados de éxito. Las estrategias incluyen el procesamiento de alimentos y piensos, el control biológico y la inactivación microbiana, el tratamiento químico después de la degradación estructural, la modificación dietética de la toxicidad y el procedimiento de absorción para reducir la aflatoxina biodisponible. Un procedimiento popular es agregar adsorbentes no nutritivos en piensos contaminados para inactivar la aflatoxina. Se han usado diversos adsorbentes, tales como alúminas, zeolitas, sílices, filosilicatos, bentonita, carbón activado y montmorillonita. En particular, NovaSil Plus™ (aluminosilicato de calcio y sodio hidratado producido por Engelhard Corporation Engelhard Corporation y disponible de Trouw Nutrition, EE. UU.) se ha usado para "absorber" e inactivar la aflatoxina. Véase, la Patente de los Estados Unidos No. 5,178,832 de Timothy D. Phillips, et al.; la Patente de los Estados Unidos No. 5,165,946 de Dennis R. Taylor, et al; y K. Pimpukdee, Feed & Livestock, páginas 40-43, diciembre de 2003/enero de 2004,

25 Además, se han desarrollado procedimientos para dispersar sedimentos minerales insolubles, esto es, arcillas, en un líquido que contiene principalmente agua, y aditivos para llevar a cabo el procedimiento donde el sedimento mineral en forma pulverizada se mezcla homogéneamente con una mezcla de un agente acidificante cristalino y una sustancia que libera gas cuando reacciona con el agente acidificante disuelto y se agrega al agua (véase el documento DE-U-29909819). Otro procedimiento se refiere a una preparación de piensos para animales y un procedimiento para tratar piensos para animales, en el que un silicato en capas activado usando ácido se usa como un adsorbente de micotoxinas (véase el documento WO-A-0240. 50). El procedimiento triboquímico se ha usado previamente para preparar una organozeolita para su uso en piensos como adsorbente de micotoxinas (WO-A-02064502). Un agente inactivador de micotoxinas comprende partículas de un mineral de filosilicato recubierto con el agente secuestrante para mejorar la capacidad de activación de micotoxinas del filosilicato, también se ha descrito previamente (véase el documento US-A-5165946).

30 Como se mencionó anteriormente, los alimentos y piensos están muy a menudo contaminados con microorganismos nocivos y aflatoxinas tóxicas. Los procedimientos actualmente disponibles para resolver estos problemas generalmente son aquellos que ya sea matarán microorganismos nocivos o desactivarán aflatoxinas tóxicas, pero no ambos. Por lo tanto, es deseable tener un procedimiento que pueda tanto matar a los microorganismos nocivos como desactivar simultáneamente las aflatoxinas tóxicas.

Sumario

35 La presente invención está relacionada, en general, con diversas arcillas y minerales acidificados como aditivos para alimentos o piensos usados para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos y para inactivar micotoxinas, tales como aflatoxinas, presentes como contaminantes en alimentos para seres humanos y piensos para animales. La arcilla preferida incluye aluminosilicato de calcio y sodio hidratado (NovaSil Plus (TM) producido por Engelhard Corporation y disponible en Trouw Nutrition, EE. UU.). Los ácidos usados incluyen solución ácida de complejos Grupo IIA escasamente solubles ("AGIIS"), aducto de ácido orgánico de AGIIS y ácido sulfúrico con sulfato de calcio disuelto en el mismo. Otro aspecto de la presente invención se refiere a una arcilla de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado con una distribución relativamente uniforme del tamaño de partícula de menos de aproximadamente 80 micrómetros.

Un primer aspecto de la presente invención es un conservante para alimentos o piensos que comprende:

5 una cantidad eficaz de arcilla acidificada capaz de inactivar una micotoxina y capaz de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo, en el que la arcilla acidificada comprende una arcilla mezclada con un ácido o una mezcla
 10 ácida, dicho ácido o mezcla ácida comprende un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"), y en el que la proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida varía desde 50 : 1 a 1 : 5, y en el que la arcilla es una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que es sustancialmente exento de dioxinas y contaminantes tóxicos prioritarios de metales pesados, y es capaz de unirse a aflatoxinas, en el que la arcilla de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio aislada tiene una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, y en el que la arcilla tiene un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros. El conservante usa una cantidad eficaz de arcilla acidificada capaz de inactivar una micotoxina y capaz de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo. La arcilla acidificada comprende una arcilla mezclada con un ácido o una mezcla ácida. La proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida varía desde aproximadamente 50 : 1 a aproximadamente 1 : 5. El ácido o la mezcla ácida comprende un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"), un compuesto orgánico metalado altamente ácido. ácido ("HAMO"), una mezcla metalada altamente ácida de ácido inorgánico ("HAMMIA"), o una mezcla de estos. El ácido o la mezcla ácida puede ser un aducto que tiene AGIIS (por ejemplo, un ácido láctico, un ácido propiónico o una mezcla de estos). La arcilla preferida es una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria por metales pesados, y es capaz de unir aflatoxinas. La arcilla tiene un tamaño de partícula uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros y una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde aproximadamente 4,0 a aproximadamente 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde aproximadamente 5,4 a aproximadamente 6,5%; K₂O que varía desde aproximadamente 0,50 a aproximadamente 0,90%; Na₂O que varía desde aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,30%; MnO que varía desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,03%; Al₂O₃ que varía desde aproximadamente 14,8 a aproximadamente 18,2%; y SiO₂ que varía desde aproximadamente 62,4 a aproximadamente 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso.

30 Un segundo aspecto de la presente invención comprende un procedimiento de preparación de una arcilla acidificada que se usa como conservante para alimentos o piensos, de mezcla de una arcilla con un ácido o una mezcla ácida en una proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida desde 50 : 1 a 1 : 5, en el que el ácido o la mezcla ácida es un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"); un ácido orgánico metalado altamente ácido ("HAMO"); una mezcla metalada altamente ácida de ácido inorgánico ("HAMMIA"); o una mezcla de los mismos; y la arcilla comprende una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria por metales pesados, y es capaz de unir aflatoxinas y seleccionar una arcilla procesada para que tenga una composición química que comprenda: CaO superior al 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, la arcilla tiene un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros. Los ácidos preferidos, mezclas ácidas y arcillas se describen a continuación.

Un tercer aspecto de la presente invención comprende matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo e inactivar una micotoxina en un alimento o pienso que comprende:

45 poner en contacto el alimento o el pienso con una arcilla acidificada; en el que la arcilla acidificada se mezcla con un ácido o una mezcla ácida en una proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida desde 50 : 1 a 1 : 5, en el que el ácido o la mezcla ácida es un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"); y en el que la arcilla es una arcilla de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio aislada que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria de metales pesados, en el que la arcilla de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio aislada tiene una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, y en el que la arcilla tiene un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros, y en el que la arcilla mezclada con el ácido o la mezcla ácida es capaz de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo y es capaz de unir las aflatoxinas. Los ácidos preferidos, las mezclas ácidas y las arcillas se forman en paquetes útiles que son capaces de contactar un alimento. Por ejemplo, la arcilla acidificada puede producirse en forma de polvo, en forma de pellas o incorporarse directamente en un material de empaquetado. En una realización preferente, la arcilla acidificada se empaquetó en una almohadilla absorbente y se dejó en contacto con un producto cárnico empaquetado. Alternativamente, un polvo fino de la arcilla acidificada (aproximadamente 80 micrómetros) se puede mezclar con granos o incorporarse a un material de empaquetado usado para envolver la carne de los animales (esto es, filetes, pollo o cerdo).

Breve descripción de los dibujos.

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente ciertos aspectos de la presente invención. La invención se puede entender mejor por referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de realizaciones específicas presentadas en la presente memoria.

- 5 La figura 1 muestra las estructuras químicas de los congéneres de aflatoxinas predominantes.
- La figura 2 muestra los resultados de estudios *in vivo* usando HSCAS.
- La figura 3 muestra cómo se seleccionó la arcilla para las pruebas debido a su estado GRAS y su pureza, incluidos los niveles prioritarios de metales traza y dioxina. usando HSCAS.
- La figura 4 muestra las isotermas de HSCAS regular versus colapsado.
- 10 La figura 5 muestra que se tomaron cultivos para *Campylobacter jejuni* el día 10 después del inicio de CAPC.

Descripción detallada

15 Antes de describir la presente invención en detalle, debe entenderse que esta invención no se limita a composiciones particulares o sistemas de suministro de composiciones, que pueden variar. También se debe entender que la terminología usada en la presente memoria tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente, y no pretende ser limitante. Además, antes de describir realizaciones detalladas de la invención, será útil establecer definiciones que se usen para describir la invención. Las definiciones establecidas se aplican solo a los términos tal como se usan en esta patente y pueden no ser aplicables a los mismos términos que se usan en otros lugares, por ejemplo, en la literatura científica u otras patentes o solicitudes, incluidas otras solicitudes de estos inventores o asignadas a propietarios comunes. Además, cuando se dan ejemplos, pretenden ser solo ejemplares y no restrictivos.

20 Se debe tener en cuenta que, como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a "un agente farmacológicamente activo" incluye una mezcla de dos o más de tales compuestos, la referencia a "una base" incluye mezclas de dos o más bases, y similares.

25 Al describir y reivindicar la presente invención, se usará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones que se exponen a continuación.

30 "Agente activo", "agente farmacológicamente activo", "composición" y "fármaco" se usan indistintamente en la presente memoria para referirse a composiciones y fármacos que son útiles como conservantes y aditivos para alimentos y piensos. Los términos también abarcan derivados y análogos farmacológicamente aceptables, farmacológicamente activos de tales fármacos, que incluyen, pero no se limitan a, sales, ésteres, amidas, profármacos, metabolitos activos, complejos de inclusión, análogos y similares. Por lo tanto, cuando se usan los términos "agente activo", "agente farmacológicamente activo" o "fármaco", debe entenderse que los solicitantes tienen la intención de incluir la composición activa per se, así como las sales farmacéuticamente aceptables, farmacológicamente activas, ésteres, amidas, profármacos, metabolitos activos, complejos de inclusión, análogos, etc., que se denominan colectivamente en la presente memoria como "derivados farmacéuticamente aceptables".

35 La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para prevenir el deterioro de los alimentos mediante la adición de un conservante y aditivo para alimentos y piensos. Algunas de las toxinas que se producen en los alimentos son las aflatoxinas, que son un grupo de micotoxinas cancerígenas producidas principalmente por hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* y a menudo se detectan en alimentos y productos agrícolas. Estos compuestos son termoestables y pueden sobrevivir a una variedad de procedimientos de procesamiento de alimentos; así, las aflatoxinas pueden presentarse como contaminantes "inevitables" de la mayoría de los alimentos y piensos. 40 De las cuatro aflatoxinas naturales (B₁, B₂, G₁ y G₂), la aflatoxina B₁ es la más tóxica. Además, varios estudios sugieren que la exposición de bajo nivel a las aflatoxinas puede causar la supresión del sistema inmune y una mayor susceptibilidad a la enfermedad.

45 Un aspecto de la presente invención se refiere a diversas arcillas y minerales acidificados como conservantes y aditivos para alimentos y piensos. Estas arcillas y minerales acidificados pueden funcionar como un alimento o aditivo alimenticio que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos dañinos y al mismo tiempo inactiva las micotoxinas, como las aflatoxinas, presentes como contaminantes en alimentos para seres humanos y piensos. La arcilla es un adsorbente que tiene afinidades selectivas de estructura para diversas micotoxinas, como las aflatoxinas, inactivando así las micotoxinas presentes en alimentos para seres humanos y piensos. Aunque no quiere estar limitado por la teoría, se cree que el ácido adsorbido o absorbido está disponible a partir de la arcilla acidificada para matar los 50 microorganismos dañinos presentes como contaminantes en alimentos para seres humanos y piensos.

La arcilla o mineral adecuado para esta invención incluye arcilla de montmorillonita, filosilicato, Florisil®, bayerita, pseudoboehmita, alúmina, gel de sílice, óxidos de aluminio, gibbsita, boehmita y bauxita. La arcilla preferida usada

incluye aluminosilicato de calcio y sodio hidratado (arcilla "HSCAS" disponible comercialmente como NovaSil Plus™ que es producida por Engelhard Corporation y disponible de Trouw Nutrition, EE. UU.).

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una arcilla de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado, tal como NovaSil Plus™, con una distribución relativamente uniforme del tamaño de partícula de menos de aproximadamente 80 micrómetros. Tal arcilla con tamaños de partícula pequeños relativamente uniformes es particularmente adecuada para una mezcla uniforme u homogénea. Esta arcilla con distribución uniforme del tamaño de partícula se puede obtener, por ejemplo, tamizando el aluminosilicato de sodio y calcio hidratado con una malla de 325 para separar y eliminar partículas que tienen tamaños mayores de aproximadamente 45 micrómetros.

La apariencia de NovaSil Plus™ es de color blanco crema a tostado y es un polvo que fluye libremente. El contenido de humedad libre es de aproximadamente el 9%. La densidad aparente suelta es 0,64 g/cm³; la densidad aparente empaquetada es de aproximadamente 0,80 g/cm³; y la distribución del tamaño de partícula es aproximadamente 5% de malla +100, 18% de malla +200 y 60% de malla -325. El análisis químico mostró que el % de CaO está entre 3,2-4,8; % MgO está entre 4,0-5,4; % Fe₂O₃ está entre 5,4-6,5; % K₂O está entre 0,50-0,90; % Na₂O está entre 0,10-0,30; % MnO está entre 0,01-0,03; % Al₂O₃ está entre 14,8-18,2; y % SiO₂ está entre 62,4-73,5. El contenido de trazas de metales pesados es el siguiente: Pb, 6,0-6,5 ppm; Como, 0,5-0,7 ppm; Cd, 0,2-0,4 ppm; Cr, 5,5-6,0 ppm, y Hg, menos de 0,1 ppm. La arcilla está sustancialmente libre de dioxinas (la dioxina como se usa aquí se refiere al contaminante tóxico 2,3,7,8-tetraclorodibenzodioxina ("TCDD") que se usa como índice de la presencia de dioxinas en el ingrediente alimentario) en NovaSil Plus arriba el límite de detección de 0,33 partes por billón ("ppt").

Los ácidos, o mezclas ácidas, usados incluyen solución ácida de complejos del Grupo IIA escasamente solubles ("AGIIS"); aducto que tiene AGIIS, preferiblemente es el aducto de ácido orgánico en el que el ácido orgánico puede ser ácido propiónico, ácido láctico o ambos; ácido sulfúrico que tiene sulfato de calcio disuelto en el mismo, el ácido sulfúrico puede ser ácido sulfúrico concentrado; ácido orgánico metalado altamente ácido ("HAMO"); mezcla metalada altamente ácida de ácido inorgánico ("HAMMIA"), y una mezcla de los mismos.

Un primer ácido, o mezcla ácida, es AGIIS. La solución ácida, o de pH bajo, de complejos del Grupo IIA escasamente solubles ("AGIIS") puede tener una suspensión de partículas muy finas, y el término "pH bajo" significa que el pH está por debajo de 7 en la región ácida. El AGIIS tiene una cierta normalidad ácida pero no tiene el mismo comportamiento deshidratante que un sulfato de calcio saturado en ácido sulfúrico que tiene la misma normalidad. En otras palabras, el AGIIS tiene una cierta normalidad ácida pero no carboniza la sacarosa tan fácilmente como una solución saturada de sulfato de calcio en ácido sulfúrico que tiene la misma normalidad. Además, el AGIIS tiene baja volatilidad a temperatura y presión ambiente. Es menos corrosivo para la piel humana que el ácido sulfúrico saturado con sulfato de calcio que tiene la misma normalidad ácida. Sin pretender quedar vinculado por la teoría, se cree que una realización de AGIIS comprende aniones de sulfato, aniones de sulfato o variaciones de estos casi saturados, saturados o super-saturados, y/o iones complejos que contienen calcio, sulfatos y/o variaciones de este.

El término "complejo", como se usa en la presente memoria, indica una composición en la que están asociados constituyentes individuales. "Asociado" significa que los constituyentes están unidos entre sí de forma covalente o no covalente, este último como resultado de enlaces de hidrógeno u otras fuerzas intermoleculares. Los constituyentes pueden estar presentes en formas iónicas, no iónicas, hidratadas u otras.

El AGIIS se puede preparar de varias maneras. Algunos de los procedimientos implican el uso de hidróxido del Grupo IA, pero algunas de las síntesis carecen del uso de cualquier hidróxido del Grupo IA agregado, aunque es posible que una pequeña cantidad de metal del Grupo IA pueda estar presente como "impurezas". La forma preferida de fabricar AGIIS es no agregar hidróxido del Grupo IA a la mezcla. Como la frase lo indica, AGIIS es altamente ácido, iónico, con un pH inferior a aproximadamente 7, preferiblemente inferior a aproximadamente 2.

Las mezclas ácidas preferidas para esta invención incluyen: (1) "aducto ácido I", que es una mezcla que contiene ácido láctico (88% p/v); 5N AGIIS; fosfato de disodio; agua en un % P/P (el porcentaje de composición puede variar en una proporción de +/- 5%) de 36,8: 9,9: 2,0: 51,3 y (2) "Acid Adduct II", que es una mezcla que contiene ácido láctico (88% W/V); ácido propiónico (99% p/v); 5N AGIIS; fosfato de disodio; agua en una proporción de % P/P (porcentaje de composición puede variar en +/- 5%) de 35,9: 29,1: 8,5: 2,2: 24,3.

La arcilla acidificada se prepara mezclando lentamente una mezcla ácida preferida con una arcilla preferida (véase ejemplos). La proporción en peso del ácido a la arcilla puede variar ampliamente, dependiendo del tipo de arcilla y ácido usado. La relación normal puede variar de 50 : 1 a 1 : 5. Preferiblemente, la proporción en peso del ácido a la arcilla varía desde 1 : 1 a 1 : 1,25. En algunos casos, la arcilla acidificada resultante aparece como grumos de sólidos, que luego se pueden moler a polvo. Después de completar la mezcla, la arcilla acidificada resultante se deja secar, preferiblemente a temperatura ambiente.

Las arcillas acidificadas deben estar preferiblemente en forma de polvo que fluya sustancialmente de manera libre, y de tamaños de partículas finas o pequeñas relativamente uniformes, y por lo tanto capaces de aplicarse uniformemente y mezclarse con alimentos o piensos. Por lo tanto, la arcilla, debido a su estructura, tiene afinidades selectivas a varias micotoxinas, como las aflatoxinas. El ácido usado para acidificar la arcilla acidificada no debería alterar o destruir significativamente la estructura de la arcilla para hacer que la arcilla pierda sus afinidades selectivas a varias

micotoxinas. La arcilla de tamaño de partícula relativamente fina también funciona como un vehículo, o medio, para el ácido absorbido o adsorbido en el mismo.

5 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento que emplea una arcilla acidificada para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos, así como para inactivar micotoxinas, tales como aflatoxinas, comúnmente encontradas en piensos para animales y alimentos para seres humanos. Aquí se permite que una cantidad eficaz (ya que la cantidad es suficiente para expresar sus propiedades antimicrobianas o antitoxinas) de la arcilla acidificada (por ejemplo, al mezclar, mezclar o rociar) contacte la comida humana o la alimentación animal. La arcilla funciona como un portador o medio de los ácidos o las mezclas ácidas.

10 Aunque no quiere estar limitado por la teoría, no hay procedimientos absolutos disponibles para eliminar totalmente la contaminación por micotoxinas en varios productos agrícolas; sin embargo, los enfoques basados en arcilla ácida ofrecen una solución económica y práctica para reducir la exposición dietética a aflatoxinas y microbios. Las composiciones y procedimientos de uso de la arcilla ácida para prevenir el crecimiento microbiano y la contaminación por aflatoxinas en alimentos o piensos se describen en los ejemplos a continuación:

Ejemplos

15 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente esta invención y la manera en que puede llevarse a cabo. Sin embargo, se entenderá que los detalles específicos proporcionados en los ejemplos se han elegido solo con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de la invención.

Ejemplo 1

Ácidos

20 Un procedimiento preferido para preparar AGIIS implica mezclar un ácido mineral con un hidróxido del Grupo IIA, o con una sal del Grupo IIA de un ácido dibásico, o con una mezcla de los dos materiales del Grupo IIA. En la mezcla, también se forma una sal del Grupo IIA. Preferiblemente, el material o materiales de partida del Grupo IIA seleccionados darán lugar a, y formarán, la sal o sales del Grupo IIA que son escasamente solubles en agua. El ácido mineral preferido es el ácido sulfúrico, el hidróxido del Grupo IIA preferido es el hidróxido de calcio, y la sal del Grupo IIA preferida de un ácido dibásico es el sulfato de calcio. Otros ejemplos de sal del Grupo IIA incluyen óxido de calcio, carbonato de calcio y "bicarbonato de calcio".

De este modo, por ejemplo, AGIIS se puede preparar mezclando o mezclando materiales de partida dados en uno de los siguientes esquemas con buena reproducibilidad:

- (1) H_2SO_4 y $\text{Ca}(\text{OH})_2$;
- 30 (2) H_2SO_4 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, y CaCO_3 ;
- (3) H_2SO_4 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCO_3 , y CO_2 (gas);
- (4) H_2SO_4 , CaCO_3 , y $\text{Ca}(\text{OH})_2$;
- (5) H_2SO_4 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, y CaSO_4 ;
- (6) H_2SO_4 , CaSO_4 , CaCO_3 , y $\text{Ca}(\text{OH})_2$;
- 35 (7) H_2SO_4 , CaSO_4 , CaCO_3 , y CO_2 (gas); y
- (8) H_2SO_4 , CaSO_4 , CaCO_3 , CO_2 (gas), y $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Preferiblemente, el AGIIS se prepara mezclando hidróxido de calcio con ácido sulfúrico concentrado, con o sin una sal opcional del Grupo IIA de un ácido dibásico (tal como sulfato de calcio) añadido al ácido sulfúrico. El sulfato de calcio opcional se puede agregar al ácido sulfúrico concentrado antes de la introducción de hidróxido de calcio en la mezcla de mezcla. La adición de sulfato de calcio al ácido sulfúrico concentrado parece reducir la cantidad de hidróxido de calcio necesaria para la preparación de AGIIS. Otros reactivos opcionales incluyen carbonato de calcio y dióxido de carbono gaseoso que se burbujan en la mezcla. Independientemente del uso de cualquier reactivo opcional, se encontró que el uso de hidróxido de calcio es deseable.

45 Un procedimiento preferido para preparar AGIIS se puede describir brevemente como: Se agrega ácido sulfúrico concentrado al agua enfriada ($8^\circ - 12^\circ \text{C}$) en el recipiente de reacción, luego, con agitación, se agrega sulfato de calcio al ácido en frío. agua para dar una mezcla. El control de temperatura es primordial en este procedimiento. Luego, a esta mezcla de agitación se le agrega una suspensión de hidróxido de calcio en agua. El sólido formado a partir de la mezcla se elimina luego. Este procedimiento implica el uso de ácido sulfúrico, sulfato de calcio e hidróxido de calcio, y tiene varias ventajas inesperadas. En primer lugar, esta reacción no es violenta y no es extremadamente exotérmica. Además de ser fácil de controlar y fácil de reproducir, esta reacción usa ingredientes cada uno de los cuales ha sido

50 revisado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos ("FDA de los Estados Unidos") y se ha

determinado que "generalmente se reconoce como seguro" ("GRAS"). Como tal, cada uno de estos ingredientes se puede agregar directamente a los alimentos, sujeto, por supuesto, a ciertas limitaciones. Bajo la concentración adecuada, cada uno de estos ingredientes puede usarse como coadyuvantes de procesamiento y en aplicaciones de contacto con alimentos. Su uso está limitado solo por la idoneidad del producto y las buenas prácticas de fabricación ("GMP"). El AGIIS así preparado es, por lo tanto, seguro para el consumo animal, seguro para los auxiliares tecnológicos y seguro en aplicaciones de contacto con alimentos. Además, el AGIIS reduce los contaminantes biológicos no solo al inhibir el crecimiento de los microorganismos y matarlos, sino también al destruir las toxinas formadas y generadas por los microorganismos. El AGIIS formado también puede preservar o extender la vida útil de los productos consumibles, ya sean productos vegetales, animales, farmacéuticos o biológicos. También conserva o mejora la calidad organoléptica de una bebida, un producto vegetal o un producto animal. También posee ciertas propiedades curativas y terapéuticas.

El ácido sulfúrico usado es usualmente de 95-98% de grado FCC (aproximadamente 35-37 N). La cantidad de ácido sulfúrico concentrado puede variar de aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 18 M (aproximadamente 0,1 N a aproximadamente 36 N), preferiblemente de aproximadamente 1 M a aproximadamente 5 M. Es específica de la aplicación. El término "M" usado indica molar o moles por litro.

Normalmente, una suspensión de hidróxido de calcio finamente molido suspendido en agua (aproximadamente 50% p/v) es la forma preferida de introducir el hidróxido de calcio, en incrementos, en una solución agitada de ácido sulfúrico, con o sin la presencia de sulfato de calcio. Normalmente, la reacción se lleva a cabo por debajo de 40 °C, preferiblemente por debajo de la temperatura ambiente, y más preferiblemente por debajo de 10 °C. El tiempo para agregar hidróxido de calcio puede variar de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 4 horas. La velocidad de agitación puede variar de aproximadamente 600 a aproximadamente 700 rpm o más. Después de la mezcla, la mezcla se filtra a través de un filtro de 5 micrómetros. Luego se deja reposar el filtrado durante la noche y se elimina el sedimento fino por decantación.

El hidróxido de calcio usado es generalmente de grado FCC de aproximadamente 98% de pureza. Por cada mol de ácido concentrado, como el ácido sulfúrico, la cantidad, en moles, de hidróxido de calcio usada es específica de la aplicación y varía desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1.

El ácido fosfórico usado es generalmente de JT Baker de aproximadamente 85-88%.

El fosfato de monohidrógeno de calcio es usualmente de 98-99%; y el fosfato de calcio ("el tribásico") se obtiene de Mallinckrodt. Otras sales de fosfato usadas son todas de grado reactivo.

El carbonato de calcio opcional es normalmente de grado FCC que tiene una pureza de aproximadamente el 98%. Cuando se usa con hidróxido de calcio como se describió anteriormente, por cada mol de ácido concentrado, tal como ácido sulfúrico, la cantidad, en moles, de carbonato de calcio varía desde aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,2, dependiendo de la cantidad de hidróxido de calcio usado.

El dióxido de carbono opcional generalmente se burbujea en la suspensión que contiene hidróxido de calcio a una velocidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 libras de presión. El dióxido de carbono se burbujea en la suspensión durante un período de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 horas. La suspensión se agrega luego al recipiente de reacción que contiene el ácido sulfúrico concentrado.

Otro ingrediente opcional es el sulfato de calcio, una sal del Grupo IIA de un ácido dibásico. Normalmente, se usa sulfato de calcio dihidratado. Como se usa en esta solicitud, la frase "sulfato de calcio" o la fórmula "CaSO₄" significa sulfato de calcio anhidro o hidratado. La pureza del sulfato de calcio (dihidrato) usada suele ser del 95-98% de grado FCC. La cantidad de sulfato de calcio, en moles por litro de ácido sulfúrico concentrado, varía desde aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,15, preferiblemente de aproximadamente 0,007 a aproximadamente 0,07, y más preferiblemente de aproximadamente 0,007 a aproximadamente 0,04. Es de aplicación específica.

En el caso de que se use CaSO₄ para la reacción al agregarlo a la solución de H₂SO₄ concentrado, la cantidad de CaSO₄, en gramos por litro de solución basada en el volumen final, tiene la siguiente relación:

<u>Normalidad ácida AGIIS final (N)</u>	<u>Cantidad de CaSO₄ en g/l</u>
1 - 5	5
6-10	4
11-15	3
16-20	2
21-36	1

El AGIIS obtenido podría tener un intervalo de normalidad ácida de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 31; el pH inferior a 0; punto de ebullición de aproximadamente 100 a aproximadamente 106 °C; punto de congelación de aproximadamente -8 °C a aproximadamente 0 °C.

El AGIIS obtenido al usar la reacción de $H_2SO_4/Ca(OH)_2/CaSO_4$ tuvo los siguientes análisis (promedio):

5 AGIIS con normalidad ácida final de 1,2 N, pH de -0,08

H_3O^+ , 2,22%; Ca, 602 ppm; SO_4 , 73560 ppm; K, 1,36 ppb; impurezas de 19,68 ppm, y no se detectó ni Na ni Mg.

AGIIS con normalidad ácida final de aproximadamente 29 N, pH de aproximadamente -1,46

H_3O^+ , 30,68%; Ca, 52,9 ppm; SO_4 , 1422160 ppm; K, 38,02 ppb; y no se detectó ni Na ni Mg.

10 Se pueden usar soluciones acuosas de otros álcalis o bases, tales como solución o suspensión de hidróxido del Grupo IA y solución o suspensión de hidróxido del Grupo IIA. Los grupos IA y IIA se refieren a los dos grupos en la tabla periódica. Se prefiere el uso de hidróxido del Grupo IIA. Preferiblemente, las sales formadas a partir del uso de hidróxidos del Grupo IIA en la reacción son escasamente solubles en agua. También es preferible usar solo hidróxido del Grupo IIA como base sin la adición de hidróxido del Grupo IA.

15 Después de la reacción, la solución ácida concentrada resultante con un valor de pH relativamente bajo, típicamente inferior a pH 1, se puede diluir con agua desionizada al valor de pH deseado, tal como un pH de aproximadamente 1 o aproximadamente 1,8.

20 Como se discutió anteriormente, AGIIS tiene propiedades de deshidratación relativamente menos (tales como sacarosa carbonizada) en comparación con la solución saturada de $CaSO_4$ en la misma concentración de H_2SO_4 . Además, la estabilidad y la naturaleza no corrosiva de los AGIIS de la presente invención pueden ilustrarse por el hecho de que una persona puede poner su mano en esta solución con un pH de menos de 0,5 y, sin embargo, su mano sufre sin irritación y sin lesiones. Si, por otro lado, uno coloca su mano en una solución de ácido sulfúrico de pH inferior a 0,5, se produciría una irritación en un periodo de tiempo relativamente corto. Una solución de 28 N de ácido sulfúrico saturado con sulfato de calcio causará quemaduras químicas en la piel humana después de unos segundos de contacto. En contraste, la solución de AGIIS de la misma normalidad no causaría quemaduras químicas en la piel humana incluso después de estar en contacto durante 5 minutos. El AGIIS no parece ser corrosivo cuando se pone en contacto con la cubierta protectora ambiental de plantas (cutículas) y animales (piel). AGIIS tiene baja volatilidad a temperatura y presión ambiente. Incluso tan concentrado como 29 N, el AGIIS no tiene olor, no emite humos en el aire y no irrita la nariz humana cuando se huele esta solución concentrada.

30 Un segundo ácido, o mezcla ácida, es un aducto que tiene AGIIS, que comprende AGIIS y uno más aditivos. El "aditivo" de la presente invención parece mejorar, y también parece ser sinérgico a, la efectividad de la composición ácida de la presente invención. Los ejemplos del aditivo incluyen alcohol, ácido orgánico, ácido peryódico y tensioactivo. La cantidad de aditivo agregado al AGIIS varía dependiendo del porcentaje en peso final deseado del aditivo en la composición de aducto final. El porcentaje en peso de aditivo necesario para la composición de aducto de la presente invención puede variar de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 99,99, basado en el peso total de la composición de aducto final. El aditivo de alcohol preferido para la presente invención incluye metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol y otros alcoholes de alquilo inferior.

40 El aditivo ácido orgánico de la presente invención incluye ácido carboxílico. Un ácido carboxílico es un compuesto orgánico que contiene el grupo $-COOH$, esto es, un carbonilo unido a un grupo hidroxilo. Los ácidos orgánicos preferidos para la presente invención incluyen ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido sórbico, ácido butírico, ácido benzoico, ácido glicólico, ácido peracético y una mezcla de estos.

45 Un tensioactivo para la presente invención es un agente tensioactivo. Por lo general, es un compuesto orgánico que consta de dos partes: una, una porción hidrofóbica, que generalmente incluye una larga cadena de hidrocarburos; y dos, una porción hidrófila que hace que el compuesto sea suficientemente soluble o dispersable en agua u otro disolvente polar. Los tensioactivos generalmente se clasifican en: (1) aniónico, donde la unidad estructural hidrofílica de la molécula lleva una carga negativa; (2) catiónico, donde esta unidad estructural de la molécula lleva una carga positiva; y (3) no iónicos, que no se disocian, pero comúnmente derivan su unidad estructural hidrofílica de estructuras polihidroxídicas o polietoxídicas. Otros tensioactivos incluyen tensioactivos anfólicos y de ion híbrido. Un tensioactivo preferido para la presente invención incluye polisorbatos (Tween 80).

50 A menos que se defina lo contrario, la cantidad de cada ingrediente o componente de la presente invención se basa en el porcentaje en peso de la composición final, generalmente el concentrado antes de la dilución adicional para alcanzar el pH deseado de aproximadamente 1,8. El AGIIS que tiene un pH de aproximadamente 1,8 generalmente se diluye más con agua antes de aplicarlo a un producto animal o vegetal.

55 Un tercer ácido, o mezcla ácida, es ácido orgánico metalado altamente ácido ("HAMO"). La composición de HAMO puede tener una suspensión de partículas muy finas, y tiene un catión monovalente o polivalente, un ácido orgánico y un anión de un ácido regenerante, como el anión de un oxácido fuerte. El término "altamente ácido" significa que el

pH está en la región ácida, por debajo de al menos aproximadamente 4. HAMO de la presente invención es menos corrosivo para un metal ferroso que una solución de un ácido mineral que tiene el mismo valor de pH ácido que el de la composición ácida HAMO también es más biocida que una mezcla del ácido orgánico y una sal metálica del ácido orgánico cuya mezcla tiene el mismo valor de normalidad ácida que el de la composición ácida.

- 5 En general, una forma de preparar HAMO es mezclando los siguientes ingredientes: (1) al menos un ácido regenerador; (2) al menos una base metálica; y (3) al menos un ácido orgánico, en el que la cantidad equivalente del ácido regenerante es superior a la cantidad equivalente de la base metálica. La cantidad equivalente de la base metálica debería ser aproximadamente igual a la del ácido orgánico. En lugar de usar una base metálica y un ácido orgánico, se puede usar una sal metálica del ácido orgánico en lugar de la base metálica y el ácido orgánico. El sólido insoluble se elimina por cualquier procedimiento convencional, como sedimentación, filtración o centrifugación.

En general, HAMO se puede preparar mezclando o mezclando los ingredientes necesarios de al menos las siguientes maneras:

1. Regenerando ácido + (base metálica + ácido orgánico);
2. Ácido regenerador + (base metálica + sal de ácido orgánico);
- 15 3. (ácido regenerador + sal de ácido orgánico) + base; y
4. Ácido regenerador + sal de ácido orgánico.

El paréntesis en el esquema anterior indica "premezclar" los dos ingredientes mencionados en el paréntesis. Normalmente, el ácido regenerante se agrega en último lugar para generar el HAMO. Aunque cada uno de los reactivos se enumera como un reactivo único, opcionalmente, se puede usar más de un reactivo individual, tal como más de un ácido regenerador o ácido orgánico, en la presente invención. El número de equivalentes del ácido regenerante debe ser mayor que el número de equivalentes de la base metálica, o los de la sal metálica del ácido orgánico. Cuando el ácido orgánico es un aminoácido que, por definición, contiene al menos un grupo amino, entonces el número de equivalentes del ácido regenerante debe ser mayor que el número total de equivalentes de la base o la sal metálicas del ácido orgánico, y el grupo amino "base" del aminoácido. Por lo tanto, el ácido orgánico metalado altamente ácido resultante es diferente y no un tampón.

Como se usa en la presente memoria, un ácido regenerador es un ácido que "regenerará" el ácido orgánico a partir de su sal. Los ejemplos de un ácido regenerador incluyen un ácido binario fuerte, un oxácido fuerte y otros. Un ácido binario es un ácido en el que los protones se unen directamente a un átomo central, esto es (átomo central) -H. Los ejemplos de un ácido binario incluyen HF, HCl, HBr, HI, H₂S y HN₃. Un oxácido es un ácido en el que los protones ácidos están unidos al oxígeno, que a su vez está unido a un átomo central, esto es (átomo central) -O-H. Los ejemplos de oxiacido incluyen ácidos que tienen Cl, Br, Cr, As, Ge, Te, P, B, As, I, S, Se, Sn, Te, N, Mo, W o Mn como el átomo central. Algunos ejemplos incluyen H₂SO₄, HNO₃, H₂SeO₄, HClO₄, H₃PO₄ y HMnO₄. Algunos de los ácidos (por ejemplo, HMnO₄) en realidad no pueden aislarse como tales, sino que solo se presentan en forma de sus soluciones diluidas, aniones y sales. Un "oxiacido fuerte" es un oxácido que a una concentración de 1 molar en agua da una concentración de H₃O⁺ mayor que aproximadamente 0,8 molar. El ácido regenerante también puede ser una solución ácida de complejos del Grupo IIA escasamente solubles ("AGIIS").

Un cuarto ácido, o mezcla ácida, es una mezcla metalada altamente ácida de ácidos inorgánicos ("HAMMIA"). La composición tiene un pH ácido y puede aislarse de una mezcla preparada mezclando ingredientes que comprenden una sal de ácido fosfórico y una solución o suspensión preformada o generada *in situ* de un complejo ácido del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"), en el que la solución o suspensión de AGIIS está en una cantidad suficiente para hacer que el pH ácido de la composición sea inferior a aproximadamente 2.

Arcilla

Se dispone de varias estrategias para gestionar las aflatoxinas en productos agrícolas, la más simple de las cuales requiere el aislamiento y la destrucción de la fuente contaminada. Sin embargo, este enfoque a menudo no es práctico ya que los suministros alternativos de alimentos pueden no estar disponibles, o los suministros de reemplazo pueden no ser económicamente asequibles. Uno de los enfoques más prometedores y mejor estudiados para la prevención de aflatoxicosis en el ganado implica la incorporación de arcillas o varios "agentes aglutinantes" en las dietas contaminadas con estas toxinas. Los aditivos reducen la biodisponibilidad de la toxina en el tracto gastrointestinal; esto es, sirven como agentes secuestrantes (enterosorbentes) de las toxinas, reduciendo así la absorción y distribución a la sangre y los órganos diana.

Se ha informado que los minerales de arcilla adsorbentes se unen a la aflatoxina B1 en líquidos. En el primer estudio enterosorbente con aflatoxinas, se ha demostrado que una arcilla de montmorillonita de calcio que se usa comúnmente como aditivo antiaglomerante para piensos para animales absorbe significativamente la aflatoxina B1 con alta afinidad y alta capacidad en soluciones acuosas y protege a los pollos de engorde y Leghorn de Los efectos tóxicos de las 7.500 ppb de aflatoxinas en la dieta. Desde este estudio inicial, se ha informado que la arcilla de montmorillonita de calcio y otras arcillas de montmorillonita similares disminuyen los efectos tóxicos de las aflatoxinas en una variedad

de animales jóvenes, incluidos roedores, polluelos, pavos, patitos, corderos, visones y cerdos. También se ha demostrado que la arcilla en la dieta disminuye los niveles de aflatoxina M1 en la leche. Más recientemente, los biomarcadores urinarios de exposición a AFB1 en perros se redujeron mediante la inclusión de arcilla de montmorillonita de calcio. Por lo tanto, CAS a 0,5% (p/p) en el alimento protegido contra los efectos adversos de las aflatoxinas de 7.500 ppb en el mismo alimento. Este alto nivel de aflatoxinas normalmente no se encontraría como un contaminante de alimentos o piensos y (como tal) representa el "peor de los casos". La protección contra la aflatoxina se puede mostrar a niveles tan bajos como 0,25% (p/p) en la dieta. Extrapolando al ser humano, una dosis aproximada de 3 g de CAS en una cápsula se aproximaría al nivel de 0,25% en los alimentos según los datos de ingesta de alimentos en Ghana y un peso corporal de 70 Kg.

5 Estudios de estado y seguridad GRAS para el uso *in vivo* de arcilla. Un experto en el arte sería consciente de que las publicaciones científicas respaldan el uso de arcilla de montmorillonita de calcio como agente aglutinante de aflatoxinas en piensos para animales. Aquí se describe una compilación de varios estudios *in vivo* que involucran arcilla de montmorillonita de calcio en múltiples especies animales (véase la figura 2). Por ejemplo, el aluminosilicato de calcio y sodio hidratado se reconoce generalmente como seguro para su uso en alimentos a un nivel que no exceda el 2 por ciento de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación o alimentación.

10 En estudios en animales con arcilla de montmorillonita de calcio, no se han informado efectos adversos del tratamiento con arcilla, a niveles de hasta el 2,0% en la dieta. En estudios recientes en roedores, se evaluaron las arcillas de montmorillonita para determinar su posible toxicidad y biodisponibilidad de metales traza en ratas Sprague-Dawley preñadas durante el período de gestación después de una exposición de alto nivel en la dieta (2,0% p/p). Las arcillas se complementaron en la dieta equilibrada de ratas Sprague-Dawley durante el embarazo a un nivel de 2,0% (p/p). Las evaluaciones de toxicidad se realizaron el día 16 de gestación e incluyeron pesos corporales maternos, ingestas de alimento materno, pesos de basura, además de resorciones embrionarias. Se recogieron y pesaron el hígado y los riñones, la tibia, el cerebro, el útero, la placenta agrupada y la masa embrionaria agrupada. Los tejidos se liofilizaron y luego se realizó el análisis de activación de neutrones (NAA). Los elementos considerados por NAA incluyen: Al, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Ni, Rb, S, Sb, Sc, Se, Sm, Sr, Ta, Th, Te, Th, Ti, Tl, U, V, Yb, Zn y Zr. La espectroscopía de masa de plasma acoplada inductivamente confinó que Al estaba por debajo de los límites de detección (0,5 ppm) en el cerebro, lo que indica que no hay biodisponibilidad significativa de este metal a partir de interacciones de arcilla en el tracto gastrointestinal. Los animales suplementados con cualquiera de las arcillas fueron similares a los controles con respecto a las evaluaciones de toxicidad y el análisis de metales, con la excepción de la disminución de la Rb cerebral después de la suplementación con arcilla. En general, los resultados de este estudio sugieren que ni la arcilla a altas concentraciones en la dieta produce toxicidad manifiesta ni influye en la absorción o utilización de minerales en la rata preñada. En algunas realizaciones, la arcilla se seleccionó para la prueba debido a su estado GRAS y su prioridad de pureza en metales traza y niveles de dioxinas, véase la figura 3.

15 Otros estudios en roedores y sujetos han confirmado la seguridad de la arcilla de montmorillonita de calcio para su aplicación en dietas humanas. En el estudio de roedores, las ratas fueron alimentadas con raciones que contenían alrededor de 0, 0,25, 0,5, 1,0 y 2,0% de niveles de arcilla de montmorillonita de calcio. Se midieron, estandarizaron y compararon los pesos corporales, el aumento de peso corporal, el peso de los órganos, la histopatología, la bioquímica plasmática, las vitaminas séricas A y E y los micronutrientes (Fe y Zn) para determinar la toxicidad y cualquier interacción de la arcilla con nutrientes críticos al final del estudio. Después de 6 meses de exposición a la arcilla, no se observó morbilidad ni mortalidad entre los grupos de tratamiento. No hubo cambios en los órganos principales, la bioquímica sérica o los niveles de micronutrientes. Las relaciones entre el peso de los órganos y el peso corporal final para el hígado, los riñones, los pulmones, el corazón, el cerebro, el bazo y la tibia entre los grupos de tratamiento en cada sexo no fueron significativamente diferentes. El análisis histopatológico del hígado y los riñones no indicó diferencias entre los controles y la arcilla. Estos resultados sugieren que la inclusión de arcilla a niveles inferiores al 2,0% (p/p) en la dieta no debería resultar en una toxicidad manifiesta y puede usarse de manera segura para reducir la exposición a las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal. En el estudio en seres humanos, la arcilla de montmorillonita de calcio se probó inicialmente para detectar metales traza y contenido de dioxina para confirmar la composición de la materia y garantizar bajos niveles de contaminación.

20 La arcilla de montmorillonita de calcio se esterilizó luego con calor y se empaquetó en cápsulas para usar en el estudio. El diseño del estudio se basó en 2 grupos de tratamiento: 1) dosis baja-3 x 500 mg cápsulas x 3 veces/día por un total de 2 semanas, y 2) dosis alta-3 x 1.000 mg cápsulas x 3 veces/día por un Total de 2 semanas. El ensayo de 2 semanas consistió en 50 adultos sanos, de 22 a 40 años seleccionados mediante exámenes físicos iniciales, análisis de laboratorio de fluidos biológicos y cuestionario. Un experto habitual en la técnica podría hacer cápsulas que se modifican a partir de la descripción anterior, que variaron en dosis, véase Remington's Pharmaceutical Sciences 17th Edition. Luego, los participantes recibieron cápsulas de arcilla antes de las comidas con una botella de agua de manantial. El personal médico estuvo en el lugar para monitorear cualquier queja o efecto adverso. Se tomaron muestras de sangre y orina al final del período de 2 semanas y se administraron nuevamente análisis de laboratorio y exámenes físicos. Cualquier evento adverso se informó de acuerdo con las pautas de los NIH. El cumplimiento del protocolo de dosificación alcanzó el 100% durante el período de estudio de dos semanas. El análisis de los datos clínicos y bioquímicos para el monitoreo de los efectos secundarios, los parámetros de sangre y orina para la función hepática y renal no mostró ningún efecto adverso específico.

5 Modo de acción y estudios mecanicistas. Varios estudios *in vitro* han evaluado la sorción de aflatoxinas en la superficie de arcilla de aluminosilicato de calcio (HSCAS) de sodio hidratado. Se ha demostrado que HSCAS, en solución acuosa, absorbe fuerte y preferentemente AfB₁ y análogos similares de aflatoxina B₁ (AfB₁) que contienen un sistema intacto de β-dicarbonilo en su estructura molecular. El análisis isotérmico de la sorción de AfB₁ a HSCAS indicó características de alta afinidad y capacidad y también sugirió que diferentes sitios y/o mecanismos de acción pueden estar involucrados en la sorción de AfB₁ en las superficies de arcilla. La entalpía de la sorción AfB₁ (cerca de ~40 kJ/mol) mostró cierta variación, lo que sugiere múltiples sitios en HSCAS con propiedades termodinámicas diferentes. Estos hallazgos indican que múltiples sitios en la superficie de HSCAS pueden actuar para quimisorb AfB₁ y que la orientación óptima de la molécula AfB₁ es probablemente plana en las superficies de arcilla entre capas. Los grupos funcionales en los análogos de aflatoxinas pueden obstaculizar estéricamente la sorción en la superficie de HSCAS o pueden bloquear la sorción al interactuar a través de la región entre capas. Otros mecanismos de sorción de AfB₁ a las superficies HSCAS pueden involucrar la quelación potencial de cationes intercalares predominantes como el calcio y otros metales diversos del sitio de borde.

15 Descripción del ingrediente y perfil. La arcilla de aluminosilicato de calcio (CAS) tiene una composición diferente de la arcilla de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado (HSCAS), que tiene un color tostado oscuro. El CAS tiene la apariencia de un polvo que fluye libremente de color blanco a gris verdoso. El CAS es inodoro y tiene una gravedad específica de aproximadamente 2,4. El CAS aislado es insignificamente soluble en agua y tiene un pH en el intervalo de aproximadamente 5-9. Debido a los componentes de sílice y silicato de aluminio, el CAS aislado puede tener algunos efectos adversos si se inhalan partículas secas, pero no se sospechan efectos adversos para la salud por la ingestión. Los valores típicos son los siguientes:

Propiedades físicas típicas:

Humedad libre (LOD)	9%
Densidad aparente suelta	0,64 g/ cm ³ 40 lbs/ft ³
Densidad aparente empacada	0,80 g/ cm ³ 50 lbs/ft ³

Distribución del tamaño de partícula: 5% +malla 100

18% + malla 200

60% + malla 325

25 Análisis químico típico:

Análisis químico por	% de CaO 3,2 - 4,8
Fraccionamiento de rayos X (XRF)	% de MgO 4,0 - 5,4
Espectroscopía (% en peso):	% de Fe ₂ O ₃ 5,4 - 6,5
	% de K ₂ O 0,50 - 0,90
	% de Na ₂ O 0,10 - 0,30
	% de MnO 0,01 - 0,03
	% de Al ₂ O ₃ 14,8 - 18,2
	% de SiO ₂ 62,4 - 73,5

Además, las pruebas de los productos de arcilla procesados de la planta de Engelhard, Jackson, MS han confirmado bajos niveles de TCDD en CAS (<0,33 partes por billón, ppt). TCDD se da en las especificaciones de Engelhard como un índice de la presencia de dioxinas en ingredientes alimenticios.

30 Procedimientos analíticos y métodos para el análisis de adsorción isotérmica. El análisis de adsorción isotérmica se realizó usando una solución madre de aflatoxina B₁ (AfB₁) preparada disolviendo cristales puros de AfB₁ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) en acetonitrilo. Luego se inyecta un volumen de la solución madre en agua purificada (desionizada), produciendo una solución de trabajo de 8 µg/ml de AfB₁. La concentración de la solución de trabajo se verifica luego con un espectrofotómetro UV-vis (λ_{max} = 362 nm; ε = 21.865). El procedimiento de isoterma discontinuo implica la exposición de muestras que contienen 100 µg de sorbente a una concentración creciente de soluto (AfB₁) (0,4, 0,8, 1,6, 2,4, 3,2, 4, 4,8, 6, 6,4, 7,2 y 8 µg/ml). Este estudio usa tres réplicas en cada concentración de soluto. La concentración de soluto se logra agregando una cantidad apropiada de solución de AfB₁ de trabajo a tubos de ensayo de centrífuga de polipropileno de 17 x 100 mm y luego agregando una cantidad complementaria de agua purificada para llevar el volumen total a 5 ml/tubo. Se pesan aproximadamente 10 mg de sorbente en un tubo de ensayo de vidrio de borosilicato desechable de 16 x 125 mm, y se agrega agua purificada al sorbente para hacer una suspensión de 2

mg/ml. Esta suspensión de sorbente/agua se agita en vórtex durante 3 segundos antes de cada transferencia de 50 µl a cada réplica mediante un pipeteador automático. La mezcla se repite antes de cada transferencia. Junto con las muestras, hay tres controles que consisten en 5 ml de agua purificada, 5 ml de solución de trabajo AFB₁ sin sorbente y 5 ml de la concentración más baja de AFB₁ sin sorbente. Las muestras y los controles se tapan y se colocan en un agitador orbital eléctrico a 1.000 rpm durante 24 h en una incubadora a 15, 25 o 37 °C. Después de agitar, las muestras se centrifugan a 10.000 rpm durante 15 minutos a la misma temperatura en que se produjo el agitado. La absorción UV-vis de AFB₁ que queda en el sobrenadante de las muestras y los controles se mide con un espectrofotómetro. Al nivel más alto de concentración de AFB₁, el sobrenadante se guarda para su análisis por HPLC para verificar cualquier compuesto de degradación ya que los cálculos de adsorción dependen de un cálculo diferente.

- 10 **Cálculos de datos y ajuste de curvas.** Los datos de absorción UV-vis se usan para calcular la cantidad de AFB₁ que queda en la solución y la cantidad adsorbida para cada punto de datos. Con el software *Table Curve 2D* (Systat Software Inc., Richmond, CA), estos datos se ajustan a la ecuación de isoterma de Langmuir:

$$q = Q_{max} \times \left(\frac{K_d \times C_w}{1 + K_d \times C_w} \right)$$

- 15 donde q es la cantidad de AFB₁ adsorbida, Q_{max} es la cantidad máxima de AFB₁ adsorbida, C_w es la concentración de equilibrio de AFB₁ en solución y K_d es la constante de distribución. La ecuación de Langmuir se ingresa en el programa de *TableCurve 2D* como una función definida por el usuario y tiene límites y primeras aproximaciones para parámetros variables. Los límites de parámetros para Q_{max} son números positivos que varían desde 0 hasta un máximo de 1 mol/kg. Los límites de los parámetros para K_d varían de 0 a 1 x 10²⁵. *TableCurve 2D* determina las estimaciones iniciales para los parámetros Q_{max} y K_d. Después de ingresar estos valores en la función definida por el usuario de Langmuir en *TableCurve 2D*, los datos se ajustan y se obtienen valores teóricos para Q_{max} y K_d. La ΔH_{ads} (entalpía de adsorción) se calcula comparando los valores individuales de K_d a 15, 25 y 37 °C mediante la ecuación:

$$\Delta H_{ads} = \frac{-R \ln (K_{d2}/K_{d1})}{(1/T_2) - (1/T_1)}$$

La definición de K_d se deriva resolviendo para K_d de la ecuación de Langmuir dando:

$$K_d = q/(Q_{max} - q)C_w$$

- 25 El Q_{max} se toma del ajuste de la ecuación de Langmuir a los datos de adsorción a 15, 25 y 37 °C.

Procedimientos para el índice COLE. Una medida de las propiedades expansivas, el índice del coeficiente de extensibilidad lineal (COLE) es la relación del volumen de un suelo después de humedecer al volumen de suelo antes de humedecer menos uno. COLE = (volumen de arcilla después de humedecer/volumen de arcilla antes de humedecer) - 1 Los valores de índice COLE superiores a 0,03 indican que hay una esmectita significativa (arcilla hinchada) en la muestra. El procedimiento general se puede resumir de la siguiente manera:

1. Agregar 5 ml (5 cm³) de arcilla seca a un cilindro graduado de 25 ml.
2. Agregar agua destilada a la arcilla llevando el volumen total a 25 ml.
3. Batir o agitar la suspensión vigorosamente para asegurar una humectación profunda de la arcilla.
4. Permitir que la suspensión repose durante 24 h. a temperatura ambiente.
5. Medir el volumen expandido de arcilla asentada.

El potencial de contracción y expansión se correlaciona estrechamente con el tipo y la cantidad de arcilla. El mayor potencial de contracción y expansión se produce en suelos que tienen grandes cantidades de arcillas reticulares 2:1, cuentos como esmectitas. Las arcillas ilíticas son intermedias, y las arcillas caoliníticas se ven menos afectadas por el cambio de volumen a medida que cambia el contenido en humedad. Las isotermas de adsorción de HSCAS regular versus colapsado a 25 °C se muestran en la Figura 4

Ejemplo 2

Preparación de AGIIS que tiene una normalidad ácida de 1,2 a 1,5 preparada por el procedimiento de H₂SO₄/Ca(OH)₂

5 Se agregó lentamente con agitación una cantidad de 1055 ml (19,2 moles, después del ajuste de la pureza y teniendo en cuenta la cantidad de ácido neutralizado por la base) de ácido sulfúrico (grado FCC, pureza del 95-98%) se agregó lentamente con agitación, a 16.868 l de agua RO/DI en cada uno de los matraces de reacción a, b, c, e y f. La cantidad de agua se había ajustado para permitir el volumen de ácido y la lechada de hidróxido de calcio. La mezcla en cada matraz se mezcló completamente. Cada uno de los matraces de reacción se enfrió en un baño de hielo y la temperatura de la mezcla en el matraz de reacción fue de aproximadamente 8-12 °C. La mezcla se agitó continuamente a una velocidad de aproximadamente 700 rpm.

10 Por separado, se hizo una lechada agregando agua RO/DI a 4 kg de hidróxido de calcio (grado FCC, 98% de pureza) haciendo un volumen final de 8 l. Se determinó que la proporción molar de hidróxido de calcio a ácido sulfúrico concentrado era de 0,45 a 1. La lechada era una mezcla al 50% (p/v) de hidróxido de calcio en agua. La lechada se mezcló bien con un mezclador de alta fuerza de cizallamiento hasta que la lechada parecía uniforme. La lechada se enfrió luego a aproximadamente 8-12 °C en un baño de hielo y se agitó continuamente a aproximadamente 700 rpm.

15 A cada uno de los matraces de reacción se le agregaron 150 ml de lechada de hidróxido de calcio cada 20 minutos hasta que se le agregaron 1.276 l (esto es 638 g de peso seco, 8,61 moles, de hidróxido de calcio) de la lechada a cada recipiente de reacción. La adición fue acompañada nuevamente por una mezcla eficiente a aproximadamente 700 rpm.

Después de completar la adición del hidróxido de calcio a la mezcla de reacción en cada recipiente de reacción, la mezcla se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros.

20 El filtrado se dejó reposar durante 12 horas, la solución transparente se decantó para descartar cualquier precipitado formado. El producto resultante fue AGIIS que tiene una normalidad ácida de 1,2-1,5.

Ejemplo 3

Preparación de AGIIS que tiene una normalidad ácida de 2 preparada por el procedimiento de $H_2SO_4/Ca(OH)_2/CaSO_4$.

25 Para la preparación de 1 l de AGIIS 2 N, una cantidad de 79,5 ml (1,44 moles, después del ajuste de pureza y teniendo en cuenta la cantidad de ácido que debe neutralizarse por base) de ácido sulfúrico concentrado (grado FCC, pureza del 95-98%) se agregó lentamente, con agitación, a 854 ml de agua RO/DI en un matraz de reacción de 2 l. Luego se agregaron lentamente al matraz de reacción cinco gramos de sulfato de calcio (grado FCC, pureza del 95%) lentamente y con agitación. La mezcla se mezcló completamente. En este punto, el análisis de la mezcla generalmente indicaría una normalidad ácida de 2,88. El matraz de reacción se enfrió en un baño de hielo y la temperatura de la mezcla en el matraz de reacción fue de aproximadamente 8-12 °C. La mezcla se agitó continuamente a una velocidad de aproximadamente 700 rpm.

35 Por separado, se hizo una lechada añadiendo 50 ml de agua RO/DI a 33,26 g (0,44 moles, después del ajuste de pureza) de hidróxido de calcio (FCC Grace, 98% de pureza) haciendo un volumen final de 66,53 ml. Se determinó que la relación molar de hidróxido de calcio a ácido sulfúrico concentrado era de 0,44 a 1. La lechada se mezcló bien con un mezclador de alta fuerza de corte hasta que la lechada parecía uniforme. La lechada se enfrió luego a aproximadamente 8-12 °C en un baño de hielo y se agitó continuamente a aproximadamente 700 rpm.

Luego, la lechada se agregó lentamente durante un período de 2-3 horas a la mezcla, todavía se enfrió en un baño de hielo y se agitó a aproximadamente 700 rpm.

40 Después de completar la adición de lechada a la mezcla, el producto se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. Era normal observar una pérdida del 20% en el volumen de la mezcla debido a la retención de la solución por la sal y la eliminación de la sal.

El filtrado se dejó reposar durante 12 horas, y la solución transparente se decantó para descartar cualquier precipitado formado. El producto resultante fue AGIIS que tiene una normalidad ácida de 2.

Ejemplo 4

45 Preparación de AGIIS que tiene una normalidad ácida de 12 preparada por el procedimiento de $H_2SO_4/Ca(OH)_2/CaSO_4$.

50 Para la preparación de 1 l de AGIIS 12 N, una cantidad de 434 ml (7,86 moles, después del ajuste de pureza y teniendo en cuenta la cantidad de ácido neutralizado por la base) de ácido sulfúrico concentrado (grado FCC, pureza del 95-98%) se agregó lentamente, con agitación, a 284,60 ml de agua RO/DI en un matraz de reacción de 2 l. Luego se agregaron lentamente al matraz de reacción tres gramos de sulfato de calcio (grado FCC, pureza del 95%) y con agitación. La mezcla se mezcló completamente. El matraz de reacción se enfrió en un baño de hielo y la temperatura de la mezcla en el matraz de reacción fue de aproximadamente 8-12 °C. La mezcla se agitó continuamente a una velocidad de aproximadamente 700 rpm.

5 Por separado, se hizo una lechada añadiendo 211 ml de agua RO/DI a 140,61 g (1,86 moles, después del ajuste de pureza) de hidróxido de calcio (FCC Grace, 98% de pureza) haciendo un volumen final de 281,23 ml. Se determinó que la relación molar de hidróxido de calcio a ácido sulfúrico concentrado era de 0,31. La lechada se mezcló bien con un mezclador de alta fuerza de corte hasta que la lechada parecía uniforme. La lechada se enfrió luego a aproximadamente 8-12°C en un baño de hielo y se agitó continuamente a aproximadamente 700 rpm.

Luego se agregó lentamente la lechada durante un período de 2-3 horas de mezcla de ácido, todavía se enfrió en un baño de hielo y se agitó a aproximadamente 700 rpm.

10 Después de completar la adición de lechada a la mezcla, el producto se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. Era normal observar una pérdida del 20% en el volumen de la mezcla debido a la retención de la solución por la sal y la eliminación de la sal.

El filtrado se dejó reposar durante 12 horas, y la solución transparente se decantó para descartar cualquier precipitado formado. El producto resultante era AGIIS que tenía una normalidad ácida de 12.

Ejemplo 5

Procedimiento general para la preparación de HAMO

15 Para un volumen final de 1 l de HAMO, se suspenden o disuelven n moles de ácido orgánico (n es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15) en 2n moles de agua DI. Luego, a esta mezcla se le agrega una base metálica monovalente, divalente o trivalente (hidróxido, óxido, carbonato o bicarbonato, o una combinación de estos) como el sólido seco o como una lechada en agua desionizada en la proporción de 1,0 pesos equivalentes de base por peso equivalente de ácido. La adición se realiza lo más rápido posible. A la mezcla resultante se le agrega una cantidad de ácido regenerante suficiente para asegurar la regeneración completa del ácido orgánico a partir de su sal metálica, pero una cantidad no mayor de 18 moles/l. Preferiblemente, la adición del ácido regenerante se realiza lo más rápido posible sin permitir que la temperatura de la mezcla aumente a más de 80 °C. Una vez completada la mezcla, generalmente de aproximadamente 0,5 horas a aproximadamente 1 hora. Los sólidos no disueltos se eliminan por filtración a través de un filtro de 5 micrómetros o por centrifugación.

25 Ejemplo 6

Formación de un HAMO a partir de ácido maleico, hidróxido de calcio y ácido sulfúrico

30 A una mezcla de ácido maleico (1 kg, 8,61 moles) y agua RO-DI (1 l), se le agregó hidróxido de calcio sólido (335 g, 4,52 moles) en porciones de 50 g con agitación. Después de completar la adición del hidróxido de calcio, se agregó agua RO-DI (500 ml). A la mezcla resultante, se le agregó ácido sulfúrico concentrado (238 ml) en partes alícuotas de 25 ml a una velocidad que mantuvo la temperatura de reacción por debajo de 85 °C. La mezcla resultante se centrifugó a 15000 rpm durante 25 minutos para proporcionar el HAMO como sobrenadante, pH de 0,5 - 1,0. El análisis mostró: Ca, 12.900 ppm; SO₄ 159.000 ppm.

Ejemplo 7

Formación de un HAMO a partir de ácido glucónico, hidróxido de calcio y ácido sulfúrico

35 A una mezcla agitada de ácido glucónico (50%, 1 kg, 2,55 moles) y agua (200 ml) se le agregaron 97 g (1,3 moles) de hidróxido de calcio sólido. Una vez completada la mezcla, se agregó ácido sulfúrico concentrado (76 ml) lo más rápido posible mientras se mantenía la temperatura de reacción por debajo de 85 °C. La mezcla final se centrifugó a 15.000 rpm durante 25 minutos para dar el HAMO como sobrenadante, pH de 1,0. El análisis mostró: Ca, 1.210 ppm; SO₄, 11.600 ppm.

40 Ejemplo 8

Formación de un HAMO a partir de ácido succínico, hidróxido de calcio y ácido fosfórico

45 Se agregó hidróxido de calcio sólido (320 g, 4,23 moles) en porciones de 50 g a una mezcla agitada de ácido succínico (1 kg, 8,47 moles) y agua RO-DI (1200 ml). Se agregó ácido fosfórico concentrado (529 ml, 4,75 moles) en partes alícuotas de 50 ml lo más rápido posible mientras se mantenía la temperatura por debajo de 85 °C. El producto final tenía un pH de 1,5. El análisis mostró: Ca, 26.700 ppm; PO₄, 250.000 ppm.

Ejemplo 9

Formación de un HAMO a partir de ácido acético, carbonato de calcio y ácido sulfúrico

50 1. Preparación de acetato de calcio. Se agregó un litro (17,48 moles) de ácido acético a un recipiente de ocho litros y se agregó un litro de agua. Se agregó carbonato de calcio en polvo (874 g, 8,74 moles, 99+%) en porciones de 100 g durante 2,5 horas con agitación hasta que la solución fue neutral a papel de pH. Se agregó agua según fuera necesario para mantener la fluidez en la mezcla durante la neutralización.

2. **Formación del HAMO.** Se agregó agua al acetato de calcio formado en la etapa 1 para llevar el volumen total a 3 galones. A esta solución, se le agregaron 17,48 moles de ácido sulfúrico al 95-98%. La mezcla se mezcló bien y la mezcla se dejó proceder sin enfriar. Una vez completada la mezcla, la mezcla se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros para dar el HAMO, el pH fue de 1,15. El análisis mostró: Ca, 17.000 ppm; PO₄, 158.000 ppm.

5 En preparaciones a menor escala, fue más conveniente liberar el HAMO de sólidos no disueltos por centrifugación.

Ejemplo 10

Formación de un HAMO a partir de ácido láctico, carbonato de calcio y ácido sulfúrico

10 1. Preparación de lactato de calcio. Se agregó un litro (11,25 moles) de ácido láctico al 85% a un recipiente de cinco litros, y se agregó un litro de agua. Se agregó carbonato de calcio en polvo (874 g, 8,74 moles, 99+%) en porciones de 100 g durante 2,5 horas con agitación hasta que la solución fue neutral a papel de pH. Se agregó agua según fuera necesario para mantener la fluidez en la mezcla durante la neutralización.

15 2. Formación del HAMO. Se agregó agua al lactato de calcio formado en la etapa 1 para llevar el volumen total a 5 galones. A esta solución, se le agregaron 11,25 moles de ácido sulfúrico al 95-98%. La mezcla se mezcló bien y la mezcla se dejó proceder sin enfriar. Una vez completada la mezcla, la mezcla se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros para dar el HAMO, pH inferior a 1,0.

En preparaciones a menor escala, fue más conveniente liberar el HAMO de sólidos no disueltos por centrifugación.

Ejemplo 11

Formación de un HAMO a partir de ácido glucónico, hidróxido ferroso y ácido fosfórico

20 El hidróxido ferroso se preparó mediante la reacción entre 646 gramos de sulfato ferroso y 224 gramos de hidróxido de sodio en agua RO-DI para dar un volumen final de 2730 ml. La suspensión de hidróxido ferroso obtenida de esta manera se dejó sedimentar, el sobrenadante se eliminó por decantación y el sólido se lavó tres veces con agua suspendiendo en un volumen total de 2730 ml permitiendo que el sólido se sedimentara y decantando el sobrenadante.

25 El hidróxido ferroso se suspendió en agua RO-DI para dar un volumen total de 500 ml, y esta mezcla se agregó a una mezcla de ácido glucónico (50%, 1 kg, 2,55 moles) y agua RO-DI (100 ml). Se agregaron secuencialmente a esta mezcla ácido fosfórico concentrado (100 ml) y sacarosa (35 g). El material final no requirió filtración o centrifugación, pH de 1,0. El análisis mostró: Fe, 12.800 ppm; Na, 7.450 ppm; PO₄, 90.600 ppm; SO₄, 15.800 ppm.

Ejemplo 12

Formación de un HAMO a partir de ácido butírico, hidróxido de magnesio y ácido fosfórico

30 A una mezcla de ácido butírico (500 ml, 5,4 moles) y agua RO-DI (500 ml) se le agregó hidróxido de magnesio sólido (163,6 g, 2,73 moles) en porciones de 25 g. A la mezcla resultante se le agregó ácido fosfórico concentrado (180 ml) en partes alcuotas de 50 ml. La solución final tenía un pH de 1,0. El análisis mostró: Mg, 390 ppm; PO₄, 1.560 ppm.

Ejemplo 13

Formación de un HAMO a partir de ácido maleico, hidróxido de magnesio y ácido fosfórico

35 Se agregó hidróxido de magnesio sólido (300 g, 97,5%, 5,02 moles) en porciones de 50 g a una solución agitada de ácido maleico (1 kg, 8,53 moles) en agua RO-DI (1.500 ml). Al final de la adición, el pH de la mezcla fue de 5,0. Se agregó ácido fosfórico concentrado (338 ml, 85-90%) en alcuotas de 25 ml. No se observó precipitado durante la etapa de acidificación. El pH final de la solución de HAMO fue de 1,0. El análisis mostró: Mg, 19.500 ppm; PO₄, 287.000 ppm.

Ejemplo 14

Formación de un HAMO a partir de ácido succínico, hidróxido de magnesio y AGIIS

40 Se agregó hidróxido de magnesio sólido (101 g, 1,16 moles) en dos porciones iguales a una suspensión agitada de ácido succínico (400 g, 3,39 moles) en agua RO-DI (1 l). Una vez completada la reacción, se agregó AGIIS (607 ml, 5,58 N) en partes alcuotas de 50 ml a una velocidad que mantuvo la temperatura de reacción por debajo de 85 °C. La solución se centrifugó a 15.000 rpm durante aproximadamente 25 minutos. El pH del HAMO fue de 1,0 a 1,5. El análisis mostró: Mg, 24.100 ppm; SO₄, 115.000 ppm.

Ejemplo 15

Formación de un HAMO a partir de hidróxido de calcio, una mezcla de ácidos acético, láctico y propiónico, y ácido sulfúrico

5 Se agregaron ácido láctico (6 moles), ácido propiónico (6 moles) y ácido acético (6 moles) a un recipiente de 5 galones y se agregó agua RO-DI (1 l). Se agregó lentamente hidróxido de calcio sólido (678 g, 9 moles) a esta mezcla con agitación. A esta mezcla se le agregó ácido sulfúrico 9 M (1 l, 9 moles de H₂SO₄) y agua (3 l) según fuera necesario para mantener la mezcla móvil. La mezcla resultante se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. El pH del HAMO fue de 0,6. El análisis mostró: Ca, 205 ppm; SO₄, 23.900 ppm.

Ejemplo 16

Formación de un HAMO a partir de hidróxido de calcio, una mezcla de ácidos fórmico, láctico y propiónico, y AGIIS

10 Se agregaron ácido láctico (6 moles), ácido propiónico (6 moles) y ácido fórmico (6 moles) a un recipiente de 5 galones y se agregó una solución saturada de sulfato de calcio (1 l). Se agregó hidróxido de calcio sólido (680 g, 9 moles) a esta mezcla en porciones de 100 g con agitación. Durante la adición, la temperatura de reacción aumentó a 85 °C. A esta mezcla se le agregó ácido sulfúrico 9 M (950 ml, 8,55 moles de H₂SO₄), AGIIS (1,2 N, 250 ml, ácido 0,15 moles) y agua (1l). La mezcla resultante se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. El HAMO final tenía un pH de 1,0. El análisis mostró: Ca, 215 ppm; SO₄, 17.000 ppm.

15 Ejemplo 17

Formación de un HAMO a partir de propionato de calcio y ácido sulfúrico

20 Se colocó agua RO-DI (2 l) en un recipiente de 8 l y se agregó propionato de calcio (5,36 moles). La mezcla se agitó y se agregaron 2,5 l adicionales de agua RO-DI para completar la disolución de la sal. Se agregó ácido sulfúrico concentrado (300 ml, 5,62 moles), y la mezcla se agitó hasta que se completó la reacción. La mezcla resultante se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. El pH del HAMO fue de 1,5. El análisis mostró Ca, 987 ppm; SO₄, 2.580 ppm.

Ejemplo 18

Formación de un HAMO a partir de lactato de calcio y AGIIS

25 A una mezcla de AGIIS 5,60 N (1 l) y agua RO-DI (1 l) se agregó pentahidrato de lactato de calcio sólido (2,79 moles). La mezcla resultante se dejó agitar sin enfriar hasta que se completó la mezcla. La mezcla final se filtró a través de un filtro de 5 micrómetros. El pH del HAMO fue de 2,5 – 3,0. El análisis mostró: Ca, 2.550 ppm; SO₄, 1.090 ppm.

Ejemplo 19

Formación de un ácido fosfórico HAMMIA usando AGIIS preformado

30 La sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1.00 equivalentes molares) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de 625 ml por mol de iones fosfato. La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentarse según sea necesario para ayudar a la solubilización de la sal de fosfato escasamente soluble. Para esta suspensión agitada, una solución de AGIIS que contiene la concentración deseada de ácido (3,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato; 2,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato de hidrógeno; 1,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de dihidrógeno fosfato) se agrega en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. Se forman precipitados copiosos de sulfato de calcio a partir del pH 2. La adición de la solución AGIIS se puede interrumpir tan pronto como se alcance el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16.000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

40 Lista A: Sales de fosfato

Mg₃(PO₄)₂, MgHPO₄, Mg(H₂PO₄)₂

Ca₃(PO₄)₂, CaHPO₄, Ca(H₂PO₄)₂

Mn₃(PO₄)₂, MnHPO₄, Mn(H₂PO₄)₂

Fe₃(PO₄)₂, FeHPO₄, Fe(H₂PO₄)₂

45 Co₃(PO₄)₂, CoHPO₄, Co(H₂PO₄)₂

Ni₃(PO₄)₂, NiHPO₄, Ni(H₂PO₄)₂

Cu₃(PO₄)₂, CuHPO₄, Cu(H₂PO₄)₂

Zn₃(PO₄)₂, ZnHPO₄, Zn(H₂PO₄)₂

Ejemplo 20**Formación de un ácido fosfórico HAMMIA usando AGIIS formado *in situ*.**

Una mezcla de hidróxido de calcio (1,00 moles equivalentes) y la sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1,00 moles equivalentes) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de aproximadamente 400 ml por mol de iones metálicos. La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentar según sea necesario para ayudar a la solubilización de las sales metálicas poco solubles. A esta suspensión agitada, se agrega ácido sulfúrico concentrado (5,05 equivalentes molares de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato) en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. La adición de ácido se puede interrumpir cuando se alcanza el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

Lista A: Sales de fosfato

- Mg₃(PO₄)₂, MgHPO₄, Mg(H₂PO₄)₂
- 15 Ca₃(PO₄)₂, CaHPO₄, Ca(H₂PO₄)₂
- Mn₃(PO₄)₂, MnHPO₄, Mn(H₂PO₄)₂
- Fe₃(PO₄)₂, FeHPO₄, Fe(H₂PO₄)₂
- Co₃(PO₄)₂, CoHPO₄, Co(H₂PO₄)₂
- Ni₃(PO₄)₂, NiHPO₄, Ni(H₂PO₄)₂
- 20 Cu₃(PO₄)₂, CuHPO₄, Cu(H₂PO₄)₂
- Zn₃(PO₄)₂, ZnHPO₄, Zn(H₂PO₄)₂

Ejemplo 21**Formación de un ácido fosfórico HAMMIA que contiene un metal monovalente usando AGIIS preformado.**

La sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1,00 equivalentes molares) y la sal de fosfato de un metal monovalente elegido de la Lista B a continuación ($\leq 1,00$ equivalentes molares) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de 625 ml por mol de iones fosfato. La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentar según sea necesario para ayudar a la solubilización de la sal de fosfato de metal divalente escasamente soluble. Para esta suspensión agitada, una solución de AGIIS que contiene la concentración deseada de ácido (3,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato; 2,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato de hidrógeno; 1,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de dihidrógeno fosfato) se agrega en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. Se forman precipitados copiosos de sulfato de calcio a partir del pH 2. La adición de la solución AGIIS se puede interrumpir tan pronto como se alcance el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

Lista A:

Sales de fosfato de metal divalente

Mg₃(PO₄)₂, MgHPO₄, Mg(H₂PO₄)₂

Ca₃(PO₄)₂, CaHPO₄, Ca(H₂PO₄)₂

Mn₃(PO₄)₂, MnHPO₄, Mn(H₂PO₄)₂

Fe₃(PO₄)₂, FeHPO₄, Fe(H₂PO₄)₂

Co₃(PO₄)₂, CoHPO₄, Co(H₂PO₄)₂

Ni₃(PO₄)₂, NiHPO₄, Ni(H₂PO₄)₂

Cu₃(PO₄)₂, CuHPO₄, Cu(H₂PO₄)₂

Zn₃(PO₄)₂, ZnHPO₄, Zn(H₂PO₄)₂

Lista B:

Sales de fosfato de metal monovalente

Li₂HPO₄, LiH₂PO₄, Li₃PO₄,

Na₃PO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄

K₃PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄

Ejemplo 22**Formación de un ácido fosfórico HAMMIA que contiene un metal monovalente usando AGIIS formado *in situ*.**

5 Una mezcla de hidróxido de calcio (1,00 moles equivalentes) y la sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1,00 moles equivalentes) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de aproximadamente 400 ml por mol de iones metálicos. La sal de fosfato de un metal monovalente elegido de la Lista B a continuación ($\leq 1,00$ equivalentes molares) se agrega a la mezcla. La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentar según sea necesario para ayudar a la solubilización de las sales de metales divalentes escasamente solubles. A esta suspensión agitada, se agrega ácido sulfúrico concentrado (5,05 equivalentes molares de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato) en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. La adición de ácido se puede interrumpir cuando se alcanza el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

Lista A:

Lista B:

Sales de fosfato de metal divalenteSales de fosfato de metal monovalenteMg₃(PO₄)₂, MgHPO₄, Mg(H₂PO₄)₂Li₃PO₄, Li₂HPO₄, LiH₂PO₄Ca₃(PO₄)₂, CaHPO₄, Ca(H₂PO₄)₂Na₃PO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄Mn₃(PO₄)₂, MnHPO₄, Mn(H₂PO₄)₂K₃PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄Fe₃(PO₄)₂, FeHPO₄, Fe(H₂PO₄)₂Co₃(PO₄)₂, CoHPO₄, Co(H₂PO₄)₂Ni₃(PO₄)₂, NiHPO₄, Ni(H₂PO₄)₂Cu₃(PO₄)₂, CuHPO₄, Cu(H₂PO₄)₂Zn₃(PO₄)₂, ZnHPO₄, Zn(H₂PO₄)₂**15 Ejemplo 23****Formación de un ácido fosfórico HAMMIA que contiene un metal monovalente y un ácido aditivo usando AGIIS preformado.**

20 Uno o más de los ácidos de la Lista C a continuación (hasta 6 equivalentes molares), la sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1,00 equivalentes molares) y la sal de fosfato de un metal monovalente elegido de la Lista B a continuación ($\leq 1,00$ equivalentes molares) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de 625 ml por mol de iones fosfato. La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentar según sea necesario para ayudar a la solubilización de la sal de fosfato de metal divalente escasamente soluble. Para esta suspensión agitada, una solución de AGIIS que contiene la concentración deseada de ácido (3,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato; 2,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato de hidrógeno; 1,05 moles de iones de hidrógeno por mol de iones de dihidrógeno fosfato) se agrega en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. Se forman precipitados copiosos de sulfato de calcio a partir de pH 2. La adición de la solución AGIIS puede suspenderse tan pronto como se alcance el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

Lista A:

Lista B:

Sales de fosfato de metal divalenteSales de fosfato de metal monovalenteMg₃(PO₄)₂, MgHPO₄, Mg(H₂PO₄)₂Li₃PO₄, Li₂HPO₄, LiH₂PO₄Ca₃(PO₄)₂, CaHPO₄, Ca(H₂PO₄)₂Na₃PO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄Mn₃(PO₄)₂, MnHPO₄, Mn(H₂PO₄)₂K₃PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄Fe₃(PO₄)₂, FeHPO₄, Fe(H₂PO₄)₂



Lista C:

Ácidos aditivos

ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido málico, ácido glicólico, ácido maleico, ácido glucónico, ácido peryódico, ácido peracético, ácido monoperftálico, ácido benzoico, ácido sórbico, ácido oxálico

Ejemplo 24

Formación de un ácido fosfórico HAMMIA que contiene un metal monovalente y un ácido aditivo usando AGIIS formado *in situ*.

5 Una mezcla de hidróxido de calcio (1,00 moles equivalentes) y la sal de fosfato de un metal divalente elegido de la Lista A a continuación (1,00 moles equivalentes) se suspende en suficiente agua desionizada para obtener un volumen final de aproximadamente 400 ml por mol de iones metálicos. Se agrega a la mezcla uno o más de los ácidos de la Lista C a continuación (hasta 6 equivalentes molares) y la sal de fosfato de un metal monovalente elegido de la Lista B a continuación ($\leq 1,00$ equivalentes molares). La mezcla se puede someter a ultrasonidos o calentar según sea necesario para ayudar a la solubilización de las sales de metales divalentes escasamente solubles. A esta suspensión agitada, se agrega ácido sulfúrico concentrado (5,05 equivalentes molares de iones de hidrógeno por mol de iones de fosfato) en alícuotas de 10 ml con el pH controlado después de cada adición. La adición de ácido se puede interrumpir cuando se alcanza el pH deseado. Después de que se completa la adición del ácido, la mezcla se agita durante una hora. Luego se detiene la agitación y se deja que la mezcla repose durante la noche (aproximadamente 18 horas). Los sólidos suspendidos se eliminan por centrifugación a 16000 rpm durante 30 minutos. La solución sobrenadante es el HAMMIA.

Lista A:

Sales de fosfato de metal divalente



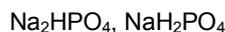
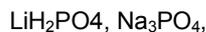
Lista C:

Ácidos aditivos

ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido málico, ácido glicólico, ácido maleico, ácido glucónico, ácido peryódico, ácido peracético, ácido monoperftálico, ácido benzoico, ácido sórbico, ácido oxálico.

Lista B:

Sales de fosfato de metal monovalente



Ejemplos 25,26 y 27

Las muestras usadas en los siguientes ejemplos 25, 26 y 27 se abrevian como sigue:

5 "Aducto ácido II" es una mezcla que contiene ácido láctico (88% p/v); ácido propiónico (99% p/v); 5N AGIIS; fosfato de sodio; agua en una proporción % P/P de 35,9: 29,1: 8,5: 2,2: 24,3. La composición porcentual puede variar en +/- 5%)

"La arcilla TESI" usado fue HSCAS CLAY (o NovaSil Plus TM) previamente tamizado que tenía un tamaño de partícula sustancialmente uniforme por debajo de aproximadamente 80 micrómetros.

10 La "Muestra 1.1" fue arcilla acidificada preparada mezclando aproximadamente 1: 1 proporción en peso del aducto ácido II (20 ml) (suponiendo que 1 ml del aducto ácido II es 1 g) y la arcilla TESI (20 g). La arcilla acidificada resultante tiene un flujo sustancialmente libre.

La "Muestra 2.1" fue arcilla acidificada preparada mezclando aproximadamente 1: 1,25 proporción en peso del aducto ácido II (25 ml) (suponiendo que 1 ml del aducto ácido II es 1 g) y la arcilla TESI (20 g). La arcilla acidificada resultante tiene un flujo sustancialmente libre.

15 La "Muestra 3.1" fue arcilla acidificada preparada mezclando aproximadamente 1: 1 proporción en peso de AGIIS (20 ml) (suponiendo que 1 ml de AGIIS es 1 g) y la arcilla TESI (20 g). Aducto ácido II y arcilla TESI. La arcilla acidificada resultante es grumosa y requiere molienda antes de su uso.

La "Muestra 4.1" fue arcilla acidificada preparada mezclando aproximadamente 1: 1,25 proporción en peso de AGIIS (25 ml) (suponiendo que 1 ml de AGIIS es 1 g) y la arcilla TESI (20 g). La arcilla acidificada resultante es grumosa y requiere molienda antes de su uso.

20 La "Muestra 5.1" fue arcilla acidificada preparada mezclando una mezcla de [AGIIS (10 g) y propionato de calcio (5 g)] y la arcilla TESI (10 g). La arcilla acidificada resultante se parece a una pieza de concreto y requiere molienda antes de su uso.

Ejemplo 25

Evaluación de los efectos del pH de Arcilla acidificada en solución

25 La arcilla acidificada de la Muestra 2.1 se usó en este experimento.

30 Para determinar la concentración de arcilla acidificada en solución, se agregaron 0,1 o 0,5 g de arcilla acidificada a 10 ml de agua doblemente destilada ("ddw") (Concentración del 1 o 5%) en un tubo de cultivo estéril desechable de plástico de 15 ml. Se usó agua sin arcilla acidificada añadida como control. Las muestras se agitaron en vórtex durante treinta segundos para mezclar bien, luego se dejaron reposar durante 1 hora antes de medir el pH en un medidor calibrado. Después de reposar durante 24 horas a temperatura ambiente, el agua se decantó de las muestras sedimentadas (y el control), se reemplazó con 10 ml nuevos de ddw, y se repitió el proceso superior. Esto continuó hasta que el pH de las muestras de arcilla acidificada aumentó a niveles cercanos al control. Los resultados se resumen a continuación:

Día	Control	1,0% 2.1	MUESTRA	5,0% 2.1	MUESTRA
0	5,40		3,05		2,90
1	5,94		3,67		3,12
2	5,91		4,40		4,75
3	5,90		4,75		3,97
4	5,92		4,71		4,20
8	5,95		5,17		4,40
10	5,93		5,42		4,78
17*	6,06		4,35		3,85

* Las muestras medidas en el día 10 se dejaron reposar durante una semana adicional y luego se volvieron a medir sin cambiar la solución.

De este modo, la acidificación es eficaz a través de al menos 5 cambios completos de solución, y aún puede retener una eficacia significativa cuando se deja reposar por intervalos de tiempo más largos, esto es, puede quedar ácido de adición significativo que simplemente se libera más lentamente.

Ejemplo 26

5 Propiedades antimicrobianas y antifúngicas de diferentes arcillas acidificadas

Las pellas de Arcilla se prepararon de la siguiente manera:

1. Mezclar agua en polvo de arcilla acidificada. Véase la Tabla A. El control fue una ARCILLA HSCAS pretamizada no acidificada (o NovaSil Plus TM) que tenía un tamaño de partícula sustancialmente uniforme por debajo de aproximadamente 80 micrómetros.
- 10 2. Empujar la mezcla superior a través de una jeringa de 1 ml con la punta cortada, cortar manualmente las pellas en la longitud diseñada.
3. Cada pella se pesó y registró.
4. Colocar las pellas en una bandeja, dejarlas en una incubadora a 37 °C, durante la noche para secarlas.
- 15 5. Se inocularon diferentes agares tripticos de soja ("TSA"), medio de crecimiento, placas con: (1) *Listeria* 19111; (2) *E. coli* 0157: H7 43894; (3) *Staphylococcus a.* 6538; y (4) *Aspergillus fumigatus* ("AF") 1022. Al mismo tiempo, se aplicaron diferentes pellas a las placas de TSA en diferentes lugares. Luego se incubaron las placas a 37 °C, durante 24 a 48 horas para observar si había alguna inhibición de zona, lo que indica la prevención del crecimiento de los organismos.

Tabla A

	Polvo g	H ₂ O destilada (ml)	% de polvo
Control	1,5	1	60%
Muestra 1.1	1,5	0,666	69,25%
Muestra 2.1	1	0,35	74,04%
Muestra 4.1	1	5	20%

20

Tabla B

	Control		Muestra 1.1		Muestra 2.1		Muestra 4.1	
	pellas g	polvo mg	pellas g	polvo mg	pellas g	polvo mg	pellas g	polvo mg
AF	0,108	64,8	0,1053	72,92	0,1031	76,37	0,105	70,00
<i>E.coli</i>	0,1113	66,78	0,1066	73,82	0,1177	87,18	0,1008	67,20
<i>Staph a.</i>	0,101	60,6	0,1005	69,60	0,1081	80,07	0,1062	70,80
<i>Listeria</i>	0,0995	59,7	0,1183	81,92	0,1199	88,81	0,0989	65,00

25 Después de la incubación a 37 °C, durante 24 a 48 horas, se observó que, en cada placa, todas la Muestra 1.1, la Muestra 2.1 y la Muestra 4.1 causaron la inhibición de la zona, lo que indica que todas estas muestras previenen o inhiben el crecimiento de los organismos. Sin embargo, la Muestra 4.1 fue menos eficaz que la Muestra 1.1 o la Muestra 2.1 para causar la inhibición de la zona por difusión de los "antimicrobianos" ácidos de la arcilla. El control no mostró inhibición de zona, lo que indica que no hubo prevención del crecimiento de los organismos por la arcilla TESI no ácida. La arcilla cargada puede actuar como portador para la distribución de "antimicrobianos" ácidos.

Ejemplo 27

Análisis isotérmico de sorción de aflatoxinas en arcillas acidificadas

- 5 Las arcillas acidificadas de la presente invención también exhibieron la capacidad de absorber aflatoxina. La acidificación de una arcilla, tal como una arcilla HSCAS, no parece alterar la capacidad de absorción de aflatoxinas de la arcilla acidificada resultante según lo determinado por el análisis de absorción isotérmica. El análisis de adsorción isotérmica se realizó mediante el procedimiento estándar publicado. Véase, Patrick G. Grant and Timothy D. Phillips, J. Agric. Food Chem., 1998, 46, 599-605.

Parámetros derivados de langmuir

Arcilla	Qmax	Kd	r ²
Control (HSCAS Arcilla)	0,383	5,8 E+05	0,974
Muestra 1.1	0,304	8,9 E+05	0,956
Muestra 2.1	0,284	9.5 E+05	0,940
Muestra 3.1	0,365	7.6 E+05	0,946
Muestra 4.1	0,392	6.4 E+05	0,959
Muestra 5.1	0,212	7,1E+05	0,946

Qmax es el parámetro de capacidad, y Kd es el parámetro de afinidad de la ecuación de Langmuir. r² indica "aptitud".

- 10 La Tabla superior muestra que la Muestra 1.1, la Muestra 2.1, la Muestra 3.1 y la Muestra 4.1 dieron resultados dentro de los límites aceptables de Qmax (capacidad de aflatoxinas) establecido por la Oficina de Química del Estado de Texas para tarifas de animales, esto es, 0,25 mol de aflatoxina/Kg de arcilla. Las características de sorción de la Muestra 3.1 y la Muestra 4.1 son comparables para controlar la arcilla HSCAS no acidificada.
- 15 La Muestra 5.1 tiene una capacidad significativamente menor que la arcilla de control HSCAS para la sorción de aflatoxinas y los valores están por debajo de los límites aceptables establecidos para el Estado de Texas.

Ejemplo 28**Estudio para determinar si HSCAS acidificada Arcilla se une al salvado**

- 20 Se llenarán cuatro vasos de 100 ml con salvado de trigo. A dos de las tazas se les agregará una arcilla HSCAS acidificada, mientras que las tazas restantes se llenarán con agua desionizada. Se permitirá que el salvado entre en contacto con la arcilla HSCAS acidificada durante 1 hora y luego todas las tazas se colocarán en un congelador a -84 °C. Las tazas congeladas se colocarán en un liofilizador durante 24 horas.

Después de la liofilización, el contenido de cada vaso se eliminará y se transferirá a un vaso de precipitados de 500 ml. Luego se agregarán ciento cincuenta ml de agua desionizada a pH 7 a cada vaso de precipitados y se permitirá que el salvado liofilizado se rehidrate.

- 25 El salvado tratado con la arcilla HSCAS acidificada se rehidratará y/o disolverá fácilmente. Sin embargo, el salvado tratado con agua tendrá que romperse físicamente antes de disolverse.

- 30 Después de que todas las muestras hayan sido rehidratadas, se determinará el pH de cada muestra. El pH promedio del salvado tratado con agua será de 5,8, mientras que el pH del salvado tratado con arcilla HSCAS acidificada estará cerca de 2,8. De este modo, el tratamiento con la arcilla HSCAS acidificada reducirá el pH del salvado tratado y cambiará las características de rehidratación del salvado.

Ejemplo 29**Uso de Arcilla HSCAS acidificada para descontaminar manzanas**

- 35 Cada manzana en este experimento se sumerge en un cultivo de E. coli O157: H7 que contiene 8.8 X 10⁸/ml durante 5 minutos, y luego se seca al aire a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. En un grupo, un volumen de 300 ml de arcilla HSCAS acidificada se espolvoreará sobre las manzanas contaminadas con E. coli O157: H7. En otro grupo, el grupo de control, cada una de las manzanas contaminadas se tratará con 300 ml de solución salina esterilizada o arcilla HSCAS. Después del tratamiento, cada manzana será homogeneizada. Se puede hacer una comparación de los recuentos de placas entre los grupos tratados y de control para mostrar que las manzanas están descontaminadas por arcilla HSCAS acidificada.

Ejemplo 30

Uso de HSCAS Arcilla acidificada para prolongar la vida útil de las salchichas

5 La mitad de un paquete de salchichas no conservadas se espolvoreará con arcilla HSCAS acidificada y luego se empacará en una bolsa ziplock. La bolsa se dejará a temperatura ambiente durante 72 horas. Paralelamente, el otro medio paquete de la salchicha se sumerge en la misma cantidad de agua desionizada en autoclave o arcilla HSCAS. Después de 72 horas a temperatura ambiente, el grupo de control de salchichas se comparará con el grupo tratado para mostrar la frescura de los grupos tratados.

Ejemplo 31

Prevención de moho en tomates cherry por Arcilla HSCAS acidificada

10 La arcilla HSCAS acidificada se espolvoreará sobre tomates cherry mohosos y tomates cherry no mohosos. Las muestras de control de tomates cherry mohosos y no mohosos no serán tratadas. Las muestras se colocarán en un banco a temperatura ambiente. Los tomates cherry no mohosos que no se tratan comenzarán a moldearse después de aproximadamente 2 días de incubación a temperatura ambiente.

Ejemplo 32

15 ***Campylobacter jejuni* Recuperación de gallinas en muda alimentadas con aluminosilicato de calcio acidificado**

20 *Campylobacter jejuni* es un patógeno reconocido en aves de corral. Esto es especialmente cierto cuando las aves de corral están estresadas. Los efectos de una mezcla 4 a 1 de aluminosilicato de calcio y sulfato de calcio ácido (CAPC) sobre el *Campylobacter jejuni* se evaluaron en un modelo avícola estresado, es decir, las gallinas estaban mudando. Cada una de las gallinas usadas provenía de una parvada infectada con *C. jejuni*. Se les hizo mudar cambiando la dieta a una ración de alfalfa durante 9 días. Durante este tiempo y después de la muda, las gallinas del grupo de tratamiento 1 recibieron una ración en la que el 2% de la ración de alfalfa era CAPC y las gallinas del grupo de tratamiento 2 recibieron una ración que consistía en 88% de alfalfa, 10% de grano y 2% de CAPC. El grupo de control recibió la ración de alfalfa solo sin CAPC.

25 Experimento 1. Se tomaron cultivos para *Campylobacter jejuni* el día 10 después del inicio de CAPC. Siete de las 12 gallinas de control fueron positivas para *C. jejuni*. La tasa promedio de recuperación de colonias de una gallina de cultivo positivo fue de aproximadamente 3,43 registros. En contraste, el Grupo de tratamiento 1 (alfalfa+CAPC) tuvo 2 de 12 gallinas positivas para *C. jejuni*, lo que indicó una tasa de recuperación de las gallinas positivas para cultivo de aproximadamente 0,56 troncos. El grupo de tratamiento 2 (alfalfa + grano+CAPC) tuvo 2 de 11 gallinas positivas para *C. jejuni*. La tasa de recuperación de las gallinas con cultivo positivo fue de 0,78 logs.

30 Los resultados de este experimento se ilustran en la Figura 5. Se puede concluir que la inclusión de CAPC al 2% en la dieta de gallinas estresadas puede tener un efecto significativo en el número de gallinas infectadas por *C. jejuni* y la gravedad de su infección. Por ejemplo, se observó un modelo animal que contenía gallinas ponedoras de muda durante una muda de 9 días. Las gallinas fueron infectadas naturalmente con *Campylobacter*.

35 Experimento 2. Se inocularon alrededor de 8 registros de *Campylobacter* en medios Butterfield que contenían diversas cantidades de CAPC 1: 4 (RTE 03) de la siguiente manera:

- (a) 5 gramos 1: 4 CAPC (RTE 03) - sin crecimiento;
- (b) 1 gramo 1: 4 CAPC (RTE 03) - sin crecimiento;
- (c) 0,5 gramos 1: 4 CAPC (RTE 03) - 27 organismos/ml o 2,43 logs;
- (d) 0,1 gramos 1: 4 CAPC (RTE 03) - 562 organismos/ml o 3,74 logs.

40 Como se indicó, cantidades de 1: 4 CAPC (RTE 03) que fueron superiores a aproximadamente 1 gramo inhibieron el crecimiento en los medios.

Ejemplo 33

El efecto del aumento de peso corporal en pollos alimentados con ácido-arcilla.

45 El efecto del aumento de peso corporal en pollos alimentados con arcilla ácida se determinó alimentando a los pollos con una dieta que contenía 1% de arcilla ácida durante 8 días. Los resultados indicaron que los pollos alimentados con una dieta de control pesaron aproximadamente 0,520 kg después de consumir aproximadamente 1,519 kg de piensos. Por el contrario, los resultados indicaron que los pollos alimentados con una dieta con 1% de arcilla ácida pesaron aproximadamente 0,585 kg después de consumir aproximadamente 1,528 kg de piensos. Los resultados indican que los pollos comerán piensos que contienen arcilla acidificada y que hay un beneficio para el crecimiento y

50 la eficiencia de los piensos.

Ejemplo 34

El efecto de las combinaciones de agua fría y tratamientos de empaquetado en la vida útil microbiana del pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.

5 El efecto de una mezcla ácida es un complejo del Grupo IIA, tratamiento de agua fría escasamente soluble ("AGIIS")
 combinado con un tratamiento de almohadilla absorbente de arcilla AGIIS sobre la vida útil microbiana de las piezas
 de pollo fresco (cuartos traseros) durante el almacenamiento a -2 °C, durante 7 días seguido por el almacenamiento
 a 3 °C, durante 11 días adicionales. En general, se obtuvieron alrededor de 120 cuartos traseros de pollo refrigerados
 recién cortados de una instalación comercial de sacrificio de aves de corral. Este producto fue derivado/fabricado a
 10 partir de canales de pollo que habían sido procesadas según los procedimientos operativos estándar de la planta. Esta
 planta no utilizó ninguna intervención química que no fuera un lavado clorado de las aves antes del desvanecimiento
 y el agua helada clorada. Las muestras se recogieron de la instalación avícola y se transportaron en contenedores
 aislados con hielo al laboratorio y se mantuvieron durante la noche a 1,11 °C hasta que se inició el estudio.

15 Las muestras se procesaron usando agua corriente para todas las soluciones de tratamiento. Todas las soluciones se
 enfriaron previamente a 4 °C, durante aproximadamente 24 horas antes de su uso. Las soluciones de tratamiento
 enfriadas se prepararon como se describe generalmente en ejemplos superiores de AGIIS a un pH de
 aproximadamente 6,0 y una lectura de ORP de 750-800 mV usando hipoclorito de sodio (esto es, blanqueador) usando
 una fuente municipal de agua del grifo ("la solución ACS-50"). Las soluciones respectivas se prepararon justo antes
 de la inmersión de los trozos de pollo. Al menos 36 piezas de pollo (esto es, cuarto trasero de pollo) se sometieron a
 20 cada variable de tratamiento, como se describe a continuación (combinación de esto es, frío y almohadilla absorbente)
 para proporcionar un conjunto de muestra adicional. Después de los tratamientos de enfriamiento designados, las
 piezas de muestra se dejaron gotear durante aproximadamente 15 segundos. antes del empaque (uno por paquete)
 en bandejas de espuma de poliestireno convencionales con almohadillas absorbentes designadas (esto es, tratadas
 o control) y envueltas con una película de saran para su almacenamiento.

Cada una de las piezas de pollo empaquetadas se sometió a las siguientes variables de tratamiento:

25 (1) Enfriamiento de inmersión simulado con agua del grifo durante 60 minutos a 4 °C, seguido de un embalaje con
 almohadilla absorbente estándar (sin tratar). El agua fría se remueve/agita continuamente (por ejemplo, con barras
 de agitación magnéticas) durante el tratamiento de inmersión. El ORP y el pH de la solución se medirán al principio
 (preinmersión) y al final del tratamiento.

30 (2) Enfriamiento de inmersión simulado con agua tratada con ACS-50 (esto es, pH de 6.0 con ORP de 750-800)
 durante 60 minutos a 4 °C seguido de empaquetado con almohadilla absorbente estándar (no tratada). El agua fría
 se remueve/agita (por ejemplo, con barras de agitación magnéticas) durante todo el período de inmersión. El ORP
 y el pH de la solución se medirán al principio (preinmersión) y al final del tratamiento. Además, el pH y el ORP de
 la solución se controlarán y ajustarán según sea necesario (usando la química de Mionix y la solución de hipoclorito
 de sodio) durante el tratamiento de inmersión (por ejemplo, después de 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 50 minutos).

35 (3) Enfriamiento de inmersión simulado con agua tratada con ACS-50 (esto es, pH de 6,0 con ORP de 750-800)
 durante 60 minutos a 4 °C seguido de empaque con almohadilla absorbente tratada. El agua fría se remueve/agita
 (por ejemplo, con barras de agitación magnéticas) durante todo el período de inmersión. El ORP y el pH de la
 solución se medirán al principio (preinmersión) y al final del tratamiento. Además, el pH y el ORP de la solución se
 controlarán y ajustarán según sea necesario (usando la química de Mionix y la solución de hipoclorito de sodio)
 40 durante el tratamiento de inmersión (por ejemplo, después de 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 50 minutos). Se recolectarán
 cuatro muestras/paquetes para cada variable de tratamiento para su análisis en el momento 0 (inmediatamente
 después del tratamiento y el empaquetado). Los paquetes restantes se almacenarán posteriormente a -2 °C,
 durante 7 días, después de los cuales se recolectará otro conjunto de 4 muestras/paquetes de cada variable de
 45 tratamiento para su análisis. Posteriormente, los paquetes restantes se transferirán al almacenamiento a 3 °C con
 un conjunto de muestras de cada tratamiento que se recolectará para su análisis después de 13, 14, 15, 16, 17 y
 18 días totales de almacenamiento (Esto es, 7 días a -2 °C más 6, 7, 8, 9, 10 u 11 días a 3 °C).

Para cada variable de tratamiento, cuatro paquetes de muestra designados (esto es, trozo de pollo y almohadilla
 absorbente correspondiente) se analizaron microbiológicamente en busca de organismos de descomposición
 inicialmente (tiempo-0) y después del almacenamiento como se resume en la tabla a continuación.

Número de Tratamiento	Subunidad de Muestra	Tiempo total de Almacenamiento (días) y repeticiones (por día)								Totales
		0	7	13	14	15	16	17	18	
1	Pollo	4	4	4	4	4	4	4	4	32

	Almohadilla	4	4	4	4	4	4	4	4	32
2	Pollo	4	4	4	4	4	4	4	4	32
	Almohadilla	4	4	4	4	4	4	4	4	32
3	Pollo	4	4	4	4	4	4	4	4	32
	Almohadilla	4	4	4	4	4	4	4	4	32

5 Pedazos de pollo. Para los trozos de pollo, se utilizó una técnica de enjuague modificada (basada en procedimientos del USDA para cadáveres completos) para los análisis microbianos. La pieza del producto en cada paquete se colocó asépticamente en una bolsa estomacal estéril con 100 ml de caldo neutralizante DE estéril. Se registraron los pesos de la muestra. Las muestras se agitaron completamente y se masajearon a mano durante 1 minuto y luego se enjuagaron diluidas en serie en el tampón de fosfato de Butterfield (BPB) según sea necesario.

10 Almohadillas absorbentes. También se tomaron muestras de la almohadilla de cada paquete colocándola asépticamente en una bolsa de estómago tarada y se registró el peso de la almohadilla. La almohadilla junto con 10 ml de caldo neutralizante de DE estéril se estomagó durante un minuto y el enjuague se diluyó en serie en BPB según sea necesario.

15 Análisis. Las muestras enjuagadas/diluciones se analizaron para conteos de placas aeróbicas ("APC") usando agar de procedimientos estándar y para recuentos gramnegativos usando agar de violeta cristal de tetrazolio ("CVTA") y procedimientos de placas de vertido estándar (Compendio de procedimientos para el examen microbiológico de alimentos, cuarta edición, 2001, APHA). Todas las placas se incubarán a 22-25 °C, durante 5 días para incluir bacterias de descomposición mesofílica y psicotrófica.

Observaciones de aroma. Inmediatamente después de abrir cada paquete de muestra, el olor de la muestra se clasificará como 1) aceptable, 2) ligero olor desagradable o 3) desagradable olor desagradable. Estas observaciones serán registradas y tabuladas. Cualquier otro cambio sensorial distintivo también se notará como se indica.

Los resultados se indican en las Tablas 1-5, que se muestran a continuación.

20 **Tabla 1. Efecto de los tratamientos con agua fría y almohadilla absorbente en los recuentos de placas aeróbicas de cuartos traseros de pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.**

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable					
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar	
		CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml
0	rep. 1	11.000	4,04	970	2,99	1.800	3,26
	rep. 2	1.100	3,04	850	2,93	670	2,83
	rep. 3	2.600	3,41	1.600	3,20	12.000	4,08

ES 2 776 464 T3

(continuación)

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable					
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar	
		CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml
	rep. 4	2.100	3,32	740	2,87	690	2,84
	Media		3,45		3,00		3,25
	Des. Est.		0,42		0,15		0,59
7 (- 2 °C)	rep. 1	10.000	4,00	15.000	4,18	38.000	4,58
	rep. 2	6.200	3,79	6.400	3,81	15.000	4,18
	rep. 3	3.900	3,59	13.000	4,11	38.000	4,58
	rep. 4	4.900	3,69	20.000	4,30	2.300	3,36
	Media		3,77		4,10		4,17
	Des. Est.		0,17		0,21		0,57
13 (3 °C)	rep. 1	180.000.000	8,26	380.000.000	8,58	290.000.000	8,46
	rep. 2	71.000.000	7,85	58.000.000	7,76	500.000.000	8,70
	rep. 3	3.800.000.000	9,58	460.000.000	8,66	440.000.000	8,64
	rep. 4	35.000.000	7,54	1.400.000.000	9,15	1.100.000.000	9,04
	Media		8,31		8,54		8,71
	Des. Est.		0,90		0,57		0,24
14 (3 °C)	rep. 1	15.000.000.000	10,18	10.000.000.000	10,00	5.400.000.000	9,73
	rep. 2	18.000.000.000	10,26	14.000.000.000	10,15	15.000.000.000	10,18
	rep. 3	3.300.000.000	9,52	52.000.000.000	10,72	19.000.000.000	10,28
	rep. 4	10.000.000.000	10,00	16.000.000.000	10,20	6.000.000.000	9,78
	Media		9,99		10,27		9,99
	Des. Est.		0,33		0,31		0,28

ES 2 776 464 T3

(continuación)

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable					
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar	
		CFU/ml	Log10 CFU/ml	CFU/ml	Log10 CFU/ml	CFU/ml	Log10 CFU/ml
15 (3 °C)	rep. 1	32.000.000.00 0	10,51	13.000.000.00 0	10,1 1	17.000.000.00 0	10,23
	rep. 2	14.000.000.00 0	10,15	32.000.000.00 0	10,5 1	28.000.000.00 0	10,45
	rep. 3	24.000.000.00 0	10,38	17.000.000.00 0	10,2 3	9.900.000.000	10,00
	rep. 4	23.000.000.00 0	10,36	26.000.000.00 0	10,4 1	21.000.000.00 0	10,32
	Media		10,3 5		10,32		10,25
	Des. Est.		0,15		0,18		0,19
16 (3 °C)	rep. 1	20.000.000.00 0	10,30	12.000.000.00 0	10,0 8	11.000.000.00 0	10,04
	rep. 2	12.000.000.00 0	10,08	39.000.000.00 0	10,5 9	24.000.000.00 0	10,38
	rep. 3	15.000.000.00 0	10,18	13.000.000.00 0	10,1 1	23.000.000.00 0	10,36
	rep. 4	39.000.000.00 0	10,59	10.000.000.00 0	10,0 0	13.000.000.00 0	10,11
	Media		10,2 9		10,20		10,22
	Des. Est.		0,22		0,27		0,17
17 (3 °C)	muestreo interrumpido						
18 (3 °C)	muestreo interrumpido						
Notas: 1) Recuentos expresados como UFC por ml de enjuague de muestra (enjuague de 100 ml).							

Tabla 2. Efecto de los tratamientos con agua fría y almohadilla absorbente en los recuentos de placas negativas de gramo de cuartos traseros de pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable					
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar	
		CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml	CFU/ml	Log ₁₀ CFU/ml
0	rep. 1	1.600	3,20	310	2,49	250	2,40
	rep. 2	640	2,81	280	2,45	410	2,61
	rep. 3	1.100	3,04	590	2,77	2.400	3,38
	rep. 4	1.600	3,20	230	2,36	470	2,67
	Media		3,06		2,52		2,77
	Des. Est.		0,19		0,18		0,43
7 (-2 °C)	rep. 1	46.000	4,66	5.000	3,70	29.000	4,46
	rep. 2	5.100	3,71	6.300	3,80	20.000	4,30
	rep. 3	4.900	3,69	17.000	4,23	36.000	4,56
	rep. 4	5.500	3,74	26.000	4,41	2.500	3,40
	Media		3,95		4,04		4,18
	Des. Est.		0,48		0,34		0,53
13 (3 °C)	rep. 1	420.000.000	8,62	530.000.000	8,72	400.000.000	8,60
	rep. 2	48.000.000	7,68	120.000.000	8,08	490.000.000	8,69
	rep. 3	2.600.000.000	9,41	560.000.000	8,75	580.000.000	8,76
	rep. 4	25.000.000	7,40	1.700.000.000	9,23	1.400.000.000	9,15
	Media		8,28		8,70		8,80
	Des. Est.		0,92		0,47		0,24

ES 2 776 464 T3

(continuación)

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable					
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar		Almohadilla absorbente estándar	
		CFU/ml	Log10 CFU/ml	CFU/ml	Log10 CFU/ml	CFU/ml	Log10 CFU/ml
14 (3 °C)	rep. 1	31.000.000.000	10,49	20.000.000.000	10,30	22.000.000.000	10,34
	rep. 2	23.000.000.000	10,36	12.000.000.000	10,08	16.000.000.000	10,20
	rep. 3	3.400.000.000	9,53	31.000.000.000	10,49	42.000.000.000	10,62
	rep. 4	12.000.000.000	10,08	8.400.000.000	9,92	4.200.000.000	9,62
	Media		10,12		10,20		10,20
	Des. Est.		0,43		0,25		0,42
15 (3 °C)	rep. 1	27.000.000.000	10,43	15.000.000.000	10,18	14.000.000.000	10,15
	rep. 2	18.000.000.000	10,26	40.000.000.000	10,60	25.000.000.000	10,40
	rep. 3	24.000.000.000	10,38	23.000.000.000	10,36	12.000.000.000	10,08
	rep. 4	17.000.000.000	10,23	25.000.000.000	10,40	22.000.000.000	10,34
	Media		10,32		10,38		10,24
	Des. Est.		0,10		0,17		0,15
16 (3 °C)	rep. 1	17.000.000.000	10,23	10.000.000.000	10,00	15.000.000.000	10,18
	rep. 2	12.000.000.000	10,08	34.000.000.000	10,53	28.000.000.000	10,45
	rep. 3	16.000.000.000	10,20	24.000.000.000	10,38	37.000.000.000	10,57
	rep. 4	59.000.000.000	10,77	11.000.000.000	10,04	75.000.000.000	10,88
	Media		10,32		10,24		10,52
	Des. Est.		0,31		0,26		0,29
17 (3 °C)	muestreo interrumpido						
18 (3 °C)	muestreo interrumpido						
Notas: 1) Recuentos expresados como UFC por ml de enjuague de muestra (enjuague de 100 ml).							

Tabla 3. Efecto de los tratamientos con agua fría y almohadillas de remojo en el recuento de placas aeróbicas de almohadillas de remojo de cuartos traseros de pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.

Tiempo de Almacenamiento (días)	Tratamiento Variable									
	Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50		ACS-50		ACS-50	
	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Tratada	Log ₁₀ CFU/pad
0	rep. 1	2.200	3,24	1.600	3,20	<10	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
	rep. 2	1.100	3,04	420	2,62	1.300	3,11	1.300	3,11	3,11
	rep. 3	870	2,94	1.100	3,04	56.000	4,75	56.000	4,75	4,75
	rep. 4	4.700	3,67	600	2,78	150	2,18	150	2,18	2,18
	Media		3,25		2,91		2,76		2,76	
7 (-2°C)	Des. Est.		0,33		0,26		1,58		1,58	
	rep. 1	8.500	3,93	3.100	3,49	<10	<1,00	<10	<1,00	<1,00
	rep. 2	3.400	3,53	2.900	3,46	<10	<1,00	<10	<1,00	<1,00
	rep. 3	11.000	4,04	12.000	4,08	<10	<1,00	<10	<1,00	<1,00
	rep. 4	16.000	4,20	14.000	4,15	<10	<1,00	<10	<1,00	<1,00
Media		3,93		3,79		<1,00		<1,00		<1,00
13 (3°C)	Des. Est.		0,29		0,37		0,00		0,00	
	rep. 1	8.300.000.000	9,92	3.600.000.000	9,56	3.900.000.000	9,59	3.900.000.000	9,59	9,59
	rep. 2	1.100.000.000	9,04	720.000.000	8,86	1.300.000	6,11	1.300.000	6,11	6,11
	rep. 3	1.500.000.000	9,18	12.000.000.000	10,08	11.000.000	7,04	11.000.000	7,04	7,04
	rep. 4	150.000.000	8,18	29.000.000.000	10,46	1.800.000	6,26	1.800.000	6,26	6,26
Media		9,08		9,74		7,25		7,25		7,25
Des. Est.		0,71		0,70		1,61		1,61		1,61

(continuación)

Tiempo de Almacenamiento (días)		Tratamiento Variable									
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50		ACS-50			
		Almohadilla de Remojo Estándar CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad		
14 (3°C)	rep. 1	150.000.000.000	11,18	150.000.000.000	11,18	12.000.000.000	10,08				
	rep. 2	330.000.000.000	11,52	170.000.000.000	11,23	nd	nd				
	rep. 3	24.000.000.000	10,38	410.000.000.000	11,61	46.000.000	7,66				
	rep. 4	47.000.000.000	10,67	190.000.000.000	11,28	400.000	5,60				
	Media		10,94		11,32		7,78				
	Des. Est.		0,51		0,20		2,24				
15 (3°C)	rep. 1	460.000.000.000	11,66	110.000.000.000	11,04	38.000.000.000	10,58				
	rep. 2	330.000.000.000	11,52	330.000.000.000	11,52	190.000.000.000	11,28				
	rep. 3	130.000.000.000	11,11	480.000.000.000	11,68	5.100.000	6,71				
	rep. 4	490.000.000.000	11,69	300.000.000.000	11,48	82.000.000.000	10,91				
	Media		11,50		11,43		9,87				
	Des. Est.		0,27		0,27		2,13				
16 (3°C)	rep. 1	120.000.000.000	11,08	3.700.000.000	9,57	95.000.000.000	10,98				
	rep. 2	93.000.000.000	10,97	200.000.000.000	11,30	340.000.000.000	11,53				
	rep. 3	170.000.000.000	11,23	370.000.000.000	11,57	280.000.000.000	11,45				
	rep. 4	370.000.000.000	11,57	22.000.000.000	10,34	190.000.000.000	11,28				
	Media		11,21		10,69		11,31				
	Des. Est.		0,26		0,92		0,24				
17 (3°C)				muestreo interrumpido							
18 (3°C)				muestreo interrumpido							

Notas: 1) Recuentos expresados como CFU por almohadilla de remojo.

2) nd = sin datos debido a un error de laboratorio.

Tabla 4. Efecto de los tratamientos con agua fría y almohadillas de remojo en el recuento de placas negativas de gramo de almohadillas de remojo de cuartos traseros de pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.

Tiempo de Almacenamiento (días)		Tratamiento Variable							
		Control (Agua del grifo)		ACS-50		ACS-50		ACS-50	
		Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Estándar	Log ₁₀ CFU/pad	Almohadilla de Remojo Tratada	Log ₁₀ CFU/pad
0	rep. 1	940	2,97	910	2,96	<10	<1,00	<10	<1,00
	rep. 2	930	2,97	230	2,36	900	2,95	900	2,95
	rep. 3	620	2,79	750	2,88	30	1,48	30	1,48
	rep. 4	4.800	3,68	310	2,49	30	1,48	30	1,48
	Media		3,10		2,67		1,73		1,73
	Des. Est.		0,39		0,29		0,85		0,85
7 (-2°C)	rep. 1	14.000	4,15	1.100	3,04	<10	<1,00	<10	<1,00
	rep. 2	4.700	3,67	4.700	3,67	<10	<1,00	<10	<1,00
	rep. 3	10.000	4,00	6.600	3,82	<10	<1,00	<10	<1,00
	rep. 4	11.000	4,04	15.000	4,18	<10	<1,00	<10	<1,00
	Media		3,96		3,68		<1,00		<1,00
	Des. Est.		0,20		0,47		0,00		0,00
13 (3°C)	rep. 1	9.100.000.000	9,96	3.800.000.000	9,58	3.900.000.000	9,59	3.900.000.000	9,59
	rep. 2	700.000.000	8,85	630.000.000	8,80	670.000	5,83	670.000	5,83
	rep. 3	1.100.000.000	9,04	8.800.000.000	9,94	29.000.000	7,46	29.000.000	7,46
	rep. 4	160.000.000	8,20	44.000.000.000	10,64	nd	nd	nd	nd
	Media		9,01		9,74		7,63		7,63
	Des. Est.		0,73		0,77		1,89		1,89

(continuación)

Tiempo de Almacenamiento (días)	Tratamiento Variable									
	Control (Tap Water)		ACS-50		ACS-50		ACS-50		ACS-50	
	Almohadilla de Remojo Estándar		Almohadilla de Remojo Estándar		Almohadilla de Remojo Estándar		Almohadilla de Remojo Estándar		Almohadilla de Remojo Tratada	
	CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad	CFU/pad	Log ₁₀ CFU/pad						
14 (3°C)	rep. 1	260.000.000.000	11,41	150.000.000.000	11,18	12.000.000.000	10,80			
	rep. 2	200.000.000.000	11,30	23.000.000.000	10,36	120.000.000.000	11,80			
	rep. 3	27.000.000.000	10,43	580.000.000.000	11,76	63.000.000	7,80			
	rep. 4	70.000.000.000	10,85	340.000.000.000	11,53	2.300.000	6,36			
	Media		11,00		11,21		8,83			
	Des. Est.		0,45		0,61		2,14			
15 (3°C)	rep. 1	420.000.000.000	11,62	130.000.000.000	11,11	51.000.000.000	10,71			
	rep. 2	290.000.000.000	11,46	330.000.000.000	11,52	140.000.000.000	11,15			
	rep. 3	120.000.000.000	11,08	600.000.000.000	11,78	2.500.000	6,40			
	rep. 4	290.000.000.000	11,46	270.000.000.000	11,43	30.000.000.000	10,48			
	Media		11,41		11,46		9,68			
	Des. Est.		0,23		0,27		2,21			
16 (3°C)	rep. 1	150.000.000.000	11,18	7.800.000.000	9,89	140.000.000.000	11,15			
	rep. 2	92.000.000.000	10,96	260.000.000.000	11,41	250.000.000.000	11,40			
	rep. 3	170.000.000.000	11,23	400.000.000.000	11,60	320.000.000.000	11,51			
	rep. 4	370.000.000.000	11,57	24.000.000.000	10,38	250.000.000.000	11,40			
	Media		11,23		10,82		11,36			
	Des. Est.		0,25		0,82		0,15			
17 (3°C) *	muestreo interrumpido									
18 (3°C)	muestreo interrumpido									

Notas: 1) Recuentos expresados como CFU por almohadilla de remojo
2) nd = sin datos debido a un error de laboratorio.

Tabla 5. Efecto de los tratamientos con agua fría y almohadilla absorbente sobre el aroma de las patas traseras de pollo fresco durante el almacenamiento refrigerado.

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable		
		Control (Agua del grifo)	ACS-50	ACS-50
		Almohadilla absorbente estándar	Almohadilla absorbente estándar	Almohadilla absorbente estándar
0	rep. 1	1	1	1
	rep. 2	1	1	1
	rep. 3	1	1	1
	rep. 4	1	1	1
	Media	1,00	1,00	1,00
7 (-2 °C)	rep. 1	1	1	1
	rep. 2	1	1	1
	rep. 3	1	1	1
	rep. 4	1	1	1
	Media	1,00	1,00	1,00
13 (3 °C)	rep. 1	1	1	1
	rep. 2	1	1	1
	rep. 3	1	2	2
	rep. 4	1	2	1
	Media	1,00	1,67	1,33
14 (3 °C)	rep. 1	2	1	1
	rep. 2	1	1	2
	rep. 3	1	2	1
	rep. 4	1	2	1
	Media	1,00	1,67	1,33
15 (3 °C)	rep. 1	3	3	2
	rep. 2	3	3	3
	rep. 3	3	3	3
	rep. 4	3	3	3

ES 2 776 464 T3

(continuación)

Tiempo de almacenamiento (días)		Tratamiento Variable		
		Control (Agua del grifo)	ACS-50	ACS-50
		Almohadilla absorbente estándar	Almohadilla absorbente estándar	Almohadilla absorbente estándar
	Media	3,00	3,00	3,00
16 (3 °C)	rep. 1	2	2	2
	rep. 2	1	2	3
	rep. 3	2	2	3
	rep. 4	3	1	2
	Media	2,00	1,67	2,67
17 (3 °C)	muestreo interrumpido			
18 (3 °C)	muestreo interrumpido			
Notas: 1) Aroma de la muestra clasificado como 1) aceptable, 2) ligero olor desagradable, o 3) olor desagradable inaceptable				

REIVINDICACIONES

1. Un conservante para alimentos o piensos que comprende:
una cantidad eficaz de arcilla acidificada capaz de inactivar una micotoxina y capaz de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo,
- 5 en el que la arcilla acidificada comprende una arcilla mezclada con un ácido o una mezcla ácida, comprendiendo dicha mezcla ácida o ácida un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"), y en el que la proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida varía desde 50 : 1 a 1 : 5, y
en el que la arcilla es una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria de metales pesados, y es capaz de unir aflatoxinas,
- 10 en el que la arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio tiene una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, y
- 15 en el que la arcilla tiene un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros.
2. Un procedimiento de preparación de una arcilla acidificada que comprende:
mezclar una arcilla con un ácido o una mezcla ácida en una proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida de 50 : 1 a 1 : 5, en el que el ácido o la mezcla ácida es un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"); un
20 ácido orgánico metalado altamente ácido ("HAMO"); una mezcla metalada altamente ácida de ácido inorgánico ("HAMMIA"); o una mezcla de los mismos; y la arcilla comprende una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria por metales pesados, y es capaz de unir aflatoxinas y seleccionar una arcilla procesada para que tenga una composición química que comprenda: CaO superior al 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que
25 varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, teniendo la arcilla un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros.
3. Un procedimiento para matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo e inactivar una micotoxina en un
30 alimento o pienso que comprende:
poner en contacto el alimento o el pienso con una arcilla acidificada;
en el que la arcilla acidificada se mezcla con un ácido o una mezcla ácida en una proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida desde 50 : 1 a 1 : 5, en el que el ácido o la mezcla ácida es un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"); y en el que la arcilla es una arcilla de aluminosilicato de calcio con bajo contenido
35 de sodio aislada que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria de metales pesados, en el que la arcilla de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio aislada tiene una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%;
- 40 en el que, la composición química se da como porcentaje en peso, y en el que la arcilla tiene un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de aproximadamente 80 micrómetros, y en el que la arcilla mezclada con el ácido o la mezcla ácida es capaz de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo y es capaz de unir las aflatoxinas.
4. El procedimiento de la reivindicación 3, además en el que la arcilla acidificada está en forma de polvo.
- 45 5. El procedimiento de la reivindicación 3, además en el que la arcilla acidificada está en forma de pellas.
6. El procedimiento de la reivindicación 3, que comprende además incorporar la arcilla acidificada en un material de empaquetado, en el que el material de empaquetado que tiene la arcilla acidificada incorporada entra en contacto con el alimento o pienso.
7. El procedimiento de la reivindicación 3, que comprende además seleccionar el material de empaquetado para que
50 sea una almohadilla absorbente.
8. El procedimiento de la reivindicación 3, que comprende además seleccionar una carne animal o un grano como alimento o pienso.

9. Un procedimiento para mitigar el riesgo de exposición de un sujeto a aflatoxinas o microorganismos de un sistema de almacenamiento de alimentos o piensos expuesto a una aflatoxina o microorganismo ambiental, que comprende:

- 5 incorporar una cantidad eficaz de arcilla ácida en el sistema de almacenamiento de alimentos o piensos; en el que, la arcilla ácida se forma mezclando una arcilla con un ácido o una mezcla ácida en una proporción en peso de la arcilla al ácido o la mezcla ácida desde 50 : 1 a 1 : 5, comprendiendo el ácido o la mezcla ácida un complejo del Grupo IIA escasamente soluble ("AGIIS"), y teniendo la arcilla un tamaño de partícula sustancialmente uniforme de menos de 80 micrómetros, en el que la arcilla comprende una arcilla aislada de aluminosilicato de calcio con bajo contenido de sodio que está sustancialmente libre de dioxinas y contaminación tóxica prioritaria por metales pesados y es capaz de unir las aflatoxinas, teniendo la arcilla una composición química que comprende: CaO superior a aproximadamente 3,2%; MgO que varía desde 4,0 a 5,4%; Fe₂O₃ que varía desde 5,4 a 6,5%; K₂O que varía desde 0,50 a 0,90%; Na₂O que varía desde 0,10 a 0,30%; MnO que varía desde 0,01 a 0,03%; Al₂O₃ que varía desde 14,8 a 18,2%; y SiO₂ que varía desde 62,4 a 73,5%; en el que, la composición química se da como porcentaje en peso.
- 10

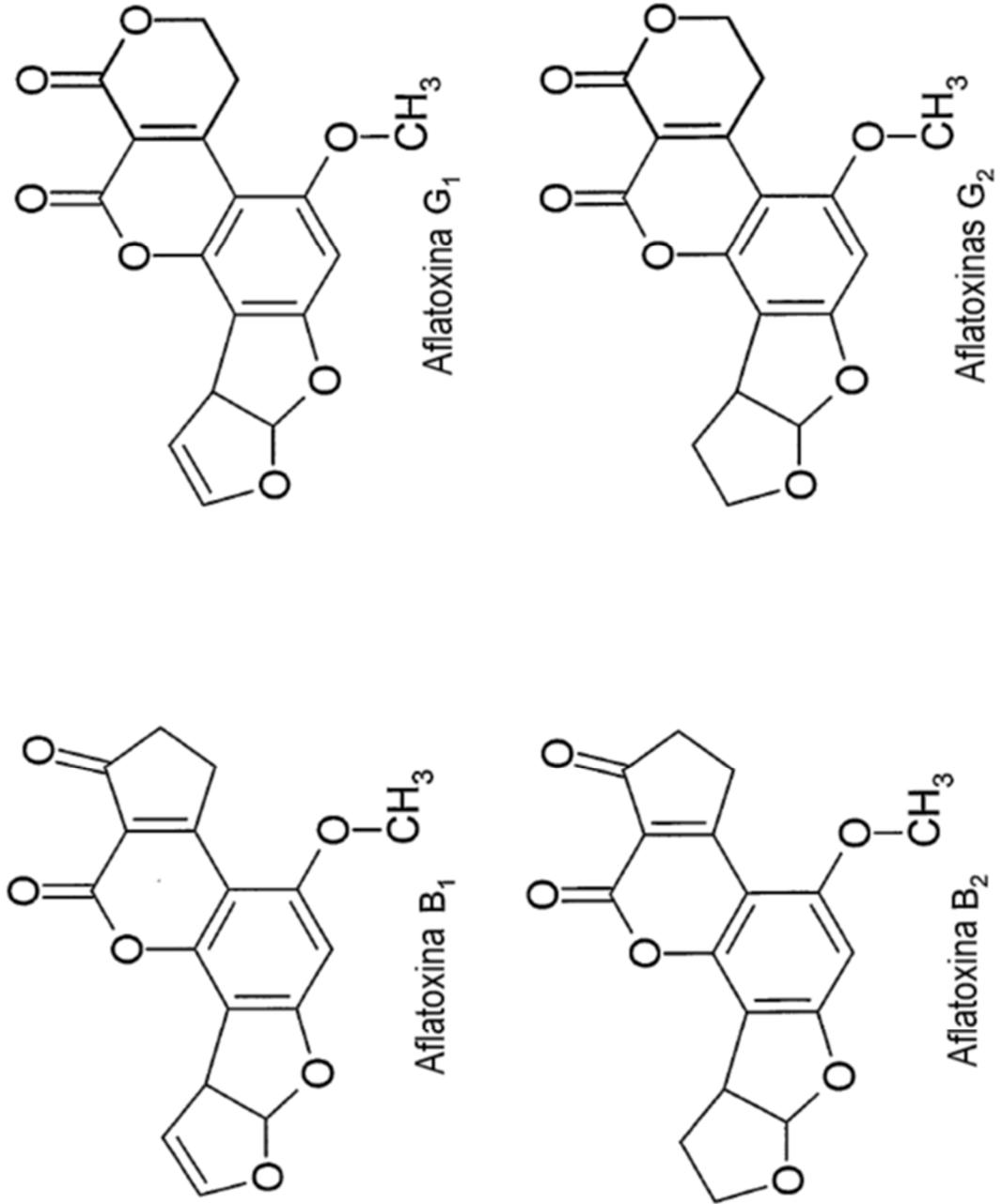


Figura 1

ANIMALES ALIMENTADOS HSCAS	MICOTOXINA EN PIENSO	HSCAS EN PIENSO (% y duración de la exposición)	TOXICIDAD DE HSCAS	PRINCIPALES EFECTOS DE LA ARCILLA HSCAS INFORMADOS EN EL ESTUDIO	REFERENCIAS
Pollos	Aflatoxinas	0,5; 28d	Ninguna	La inhibición del crecimiento disminuyó; cambios hepáticos craves prevenidos	Phillips et al.
Pollos	Aflatoxinas	0,5; 28d	Ninguna	La inhibición del crecimiento disminuyó; decrece la mortalidad	Kubena et al.
Pollos	Aflatoxinas	0, 1/0,5 (24h)	Ninguna	Disminución de la biodisponibilidad de aflatoxina en el hígado y la sangre de una manera dependiente de la dosis	Davidson et al.
Pollos	Aflatoxinas	0,5/1,0 (21 d)	Ninguna	Reducción de los efectos inhibidores del crecimiento	Araba & Wyatt
Pollos	Aflatoxinas	0 - 1,0 (21 d)	Ninguna	Conversiones de alimentaciones mejoradas: inhibición del crecimiento disminuida	Doerr
Pollos	Aflatoxinas	1,0 (21 d)	Ninguna	Inhibición del crecimiento completamente prevenido	Ledoux et al.
Pollos	Afl / Ocratoxina A	0,5 (21 d)	Ninguna	Disminución de los efectos inhibidores del crecimiento: sin efecto contra la ocratoxina	Huff et al.
Pollos	Afl / Tricotécenas	0,5 (21 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento: sin efecto contra los tricotécenos	Kubena et al.
Pollos	Afl / Tricotécenas	0,25/0,37/0,8 (21 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento: sin efecto contra los tricotécenos	Kubena et al.
Pollos	Ninguna	0,5/1,0 (14 d)	Ninguna	HSCAS no perjudicó la utilización de fósforo inorgánico	Chung & Baker
Pollos	Ninguna	0,5/1,0 (14 d)	Ninguna	HSCAS no afectó la utilización de riboflavina, vitamina A o Mn; ligera reducción de Zn	Chung et al.
Pollos	Aflatoxinas	0,125-0,5 (21)	Ninguna	Protegió contra el acortamiento de la vitamina A en los hígados de los pollos expuestos a aflatoxinas	Pimpukdee et al.
Pollos	Ninguna (def. orés)	0,5 (19 d)	Ninguna	No afectó el rendimiento del crecimiento o las concentraciones minerales fibrales de los pollos	Southern et al.
Pavos	Aflatoxinas	0,5 (21 d)	Ninguna	Disminución de la mortalidad	Kubena et al.
Pavos	Aflatoxinas	0,5 (21 d)	Ninguna	Disminución de la excreción urinaria de aflatoxina M ₁	Eddington et al.
Cerdos	Aflatoxinas	0,5	Ninguna	Disminución de aductos de ADN en el hígado y reducción de residuos tisulares de aflatoxinas totales	Beaver et al.
Cerdos	Aflatoxinas	0,5 (42 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento: prevención de efectos séricos y lesiones hepáticas	Lindemann et al.
Cerdos	Aflatoxinas	0,5/2,0 (28 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento: lesiones hepáticas	Harvey et al.
Cerdos	Aflatoxinas	0,5/2,0 (28 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento: lesiones hepáticas e inmunosupresión	Harvey et al.
Cerdos	Aflatoxinas	0,5 (35 d)	Ninguna	Reducción de los efectos inhibidores del crecimiento	Schell et al.
Cerdos	Ocratoxina	1,0	Ninguna	Sin efecto significativo	Bauer
Cerdos	Tricotécenas	0,5/1,0	Ninguna	Sin efecto significativo	Patterson & Young
Perros	Aflatoxinas	0,5 (48 h)	Ninguna	Redujo significativamente la biodisponibilidad de las aflatoxinas y la excreción de M ₁ en la orina	Bingham et al.
Corderos	Aflatoxinas	2,0 (42 d)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento y la inmunosupresión	Harvey et al.
Vacas Lecheras	Aflatoxinas	0,5/1,0 (28 d)	Ninguna	Reducción de aflatoxina M ₁ en leche	Harvey et al.
Vacas Lecheras	Aflatoxinas	1,0/2,0/4,0 (12 d)	Ninguna	Reducción de aflatoxina M ₁ en leche	Smith et al.
Ratas	Aflatoxinas	0,5 (21 d)	Ninguna	Prevención significativa de la toxicidad materna y del desarrollo	Mayura et al.
Ratas	Aflatoxinas	0,5 (21)	Ninguna	Disminución de la inhibición del crecimiento en ratas preñadas	Abdel-Wahhab et al.
Ratas	Aflatoxinas	0,5 (48 h)	Ninguna	Disminución de la excreción urinaria de metabolitos de aflatoxinas (M ₁ y F ₁)	Sarr et al.
Ratas	Ninguna (solo HSCAS)	0,25 . 0,5 . 1,0 . 2,0 (6 meses)	Ninguna	Sin efectos adversos, incluida la utilización de vitaminas	Afrinye-Gyawu et al.

Figura 2

Metales prioritarios y dioxinas en CAS

Contaminante ^a (Metales y dioxinas)	Conc. en CAS ug/g (ppm) ^b	Amt. en 3g dosis de CAS (mg) ^c	JECFA- 1998 (mg/ día) ^d
Co	1,86	0,0056	0,016
Cr	9,70	0,0291	0,250
Zn	119,26	0,3578	10,000
Mo	<2,00	<0,0006	0,110
Se	0,08	0,0002	0,057
Ni	4,00	0,012	0,300
Hg	<0,10	<0,0003	0,043
Pb	13,90	0,0417	0,210
Cd	0,20	0,0006	0,060
As	2,90	0,0087	0,310
Dioxinas (ppt)	ng/Kg (ppt)	pg/Kg BW- día	pg/Kg BW- día
TCDD, etc.	ND	----	2,300
OCDD	2,34	0,1003	?

^aMetales tóxicos prioritarios basados en los criterios de la EPA (Superfund) y la Comisión Mixta FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA);
^bConcentraciones en NS determinadas por análisis de activación de neutrones y espectroscopía de absorción atómica;
^cConcentraciones en NS determinadas por análisis de activación de neutrones y espectroscopía de absorción atómica;
^dIngesta humana tolerable de metal a partir de alimentos basados en JECFA. ND = No detectable. CAS = aluminosilicato de calcio.

Figura 3

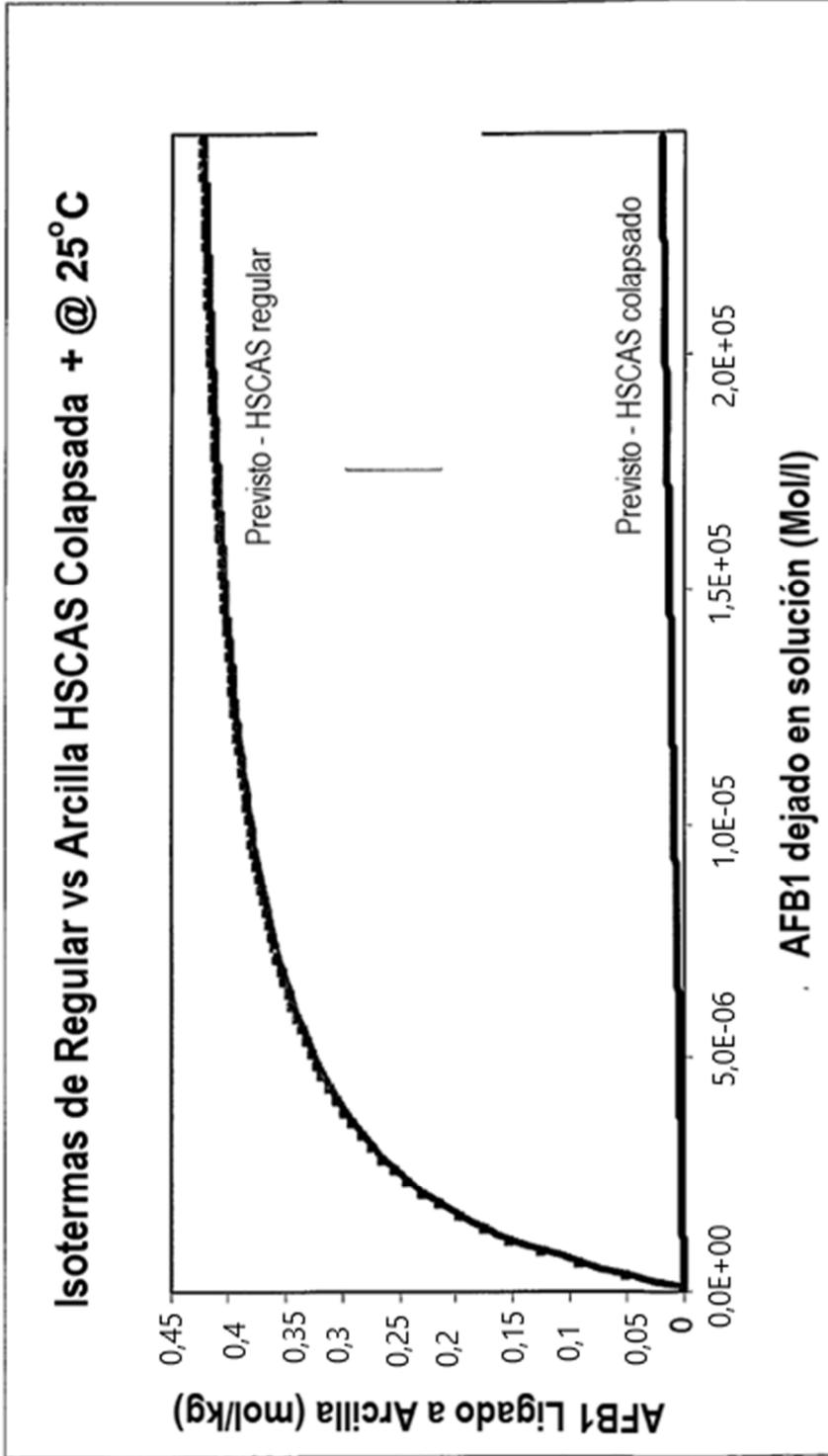


Figura 4

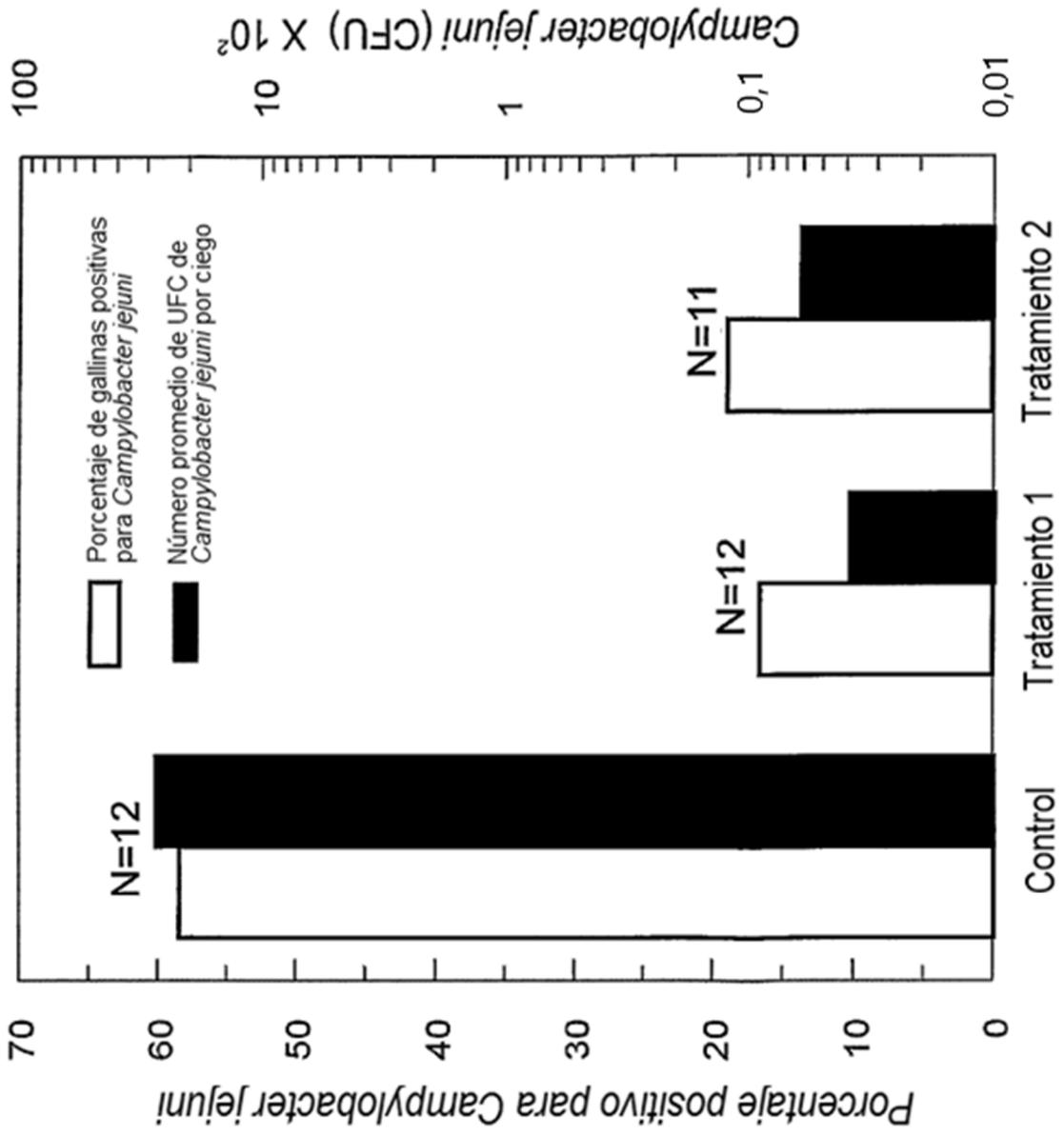


Figura 5