

UDK: 631.41
Originalni naučni rad

POVRŠINSKI MODIFIKOVAN KLINOPTILOLIT-NOVI EFIKASNI ADSORBENT MIKOTOKSINA

*M. Tomašević-Čanović¹, A. Daković¹, O. Vukićević¹, M. Adamović²,
N. Bočarov-Stančić³, G. Rottinghaus⁴*

Izvod: Novi mineralni adsorbent mikotoksina Min-a-zel Plus, je dobijen katjonskom izmenom površinski izmenljivog neorganskog katjona minerala zeolita sa organskim katjonom. Organskom modifikacijom minerala dolazi do promena u površinskom naelektrisanju i hidrofobnosti. Oba ova parametra utiču na efikasnost adsorpcije organskih molekula. Na osnovu laboratorijskih rezultata definisana je tehnološka šema za proizvodnju novog adsorbenta mikotoksina čija efikasnost adsorpcije u ogleđima in vitro iznosi preko 90% za aflatoksine, zearalenon, ohratoksin A i grupu ergot alkaloida. Adsorpcija T-2 toksina na ovom adsorbentu iznosi 84% a DAS 50% kada su prisutni zajedno. Proces adsorpcije je brz, završava se za 30 minuta kontakta adsorbent/mikotoksin a desorpcija se ne javlja (praćena je do 24 h).

Ključne reči: clinoptilolit, organska modifikacija, adsorpcija, mikotoksini

Uvod Postoje brojne tehnike ^{7,10} kojima se može izvršiti dekontaminacija stočne hrane zagađene mikotoksinima. Visoka cena kao i komplikovana tehnološka rešenja obzirom na veliki kapacitet takvih postrojenja ograničavaju mogućnost primene metoda kao što su:

Fizičke metode: čišćenje, razdvajanje i sortiranje, razdvajanje prema gustini, termička degradacija, mikrotalasno tretiranje-za trihotecene, solarna degradacija-za aflatoksine, ekstruzija-za fuzariotoksine, mokro mlevenje itd.

Hemijske metode: termički tretman u redukujućoj atmosferi, alkalna hidroliza, bisulfitni tretman, amonizacija, tretiranje vodonik peroksidom/natrijum bikarbonatom, ozonizacija, tečna ekstrakcija itd.

Mikrobiološke metode: fermentacija etanola, probiotici.

¹ Dr Magdalena Tomašević-Čanović, naučni savetnik; Mr Aleksandra Daković, istraživač saradnik, Olivera Vukićević, stručni savetnik, ITNMS, P.O. Box 390, Beograd

² Dr Milan Adamović, naučni savetnik, Institut PKB-Agroekonomik, Beograd-Padinska Skela

³ Dr Aleksandra Bočarov-Stančić, naučni saradnik, Tehnološko ekološki centar, Zrenjanin

⁴ Dr Georg Rottinghaus, Prof., College Veterinary Medicine, University of Missouri, USA

Dodaci obrocima: dodatak stočnoj hrani holina, metionina, vitamina, proteina, masti, antioksidanata i enzima takođe može smanjiti toksični efekat mikotoksina.

Novi pristupi na sprečavanju dejstva mikotoksina, odnosno na detoksifikaciji hrane zagađene mikotoksinima su fokusirani na osvajanje efikasnih adsorbenata koji se dodaju kao aditivi stočnoj hrani u određenoj koncentraciji. Njihov zadatak je da efikasno, selektivno i brzo adsorbuju mikotoksine i na taj način znatno smanjuju njihovu biodostupnost i samim tim njihovu toksičnost.

Zeolitski i glineni minerali ^{2,4,8,9,11,12,13,14} adsorbuju na svojoj površini sa većom ili manjom efikasnošću različite mikotoksine. Njihova efikasnost zavisi od kapaciteta adsorpcije, kristalne strukture i površinskog naelektrisanja sa jedne strane, kao i od osobina prisutnih mikotoksina sa druge strane.

Gline i zeoliti inače predstavljaju veoma široku grupu prirodnih alumosilikatnih minerala, funkcionalno veoma različitih osobina. Karakteriše ih visoka specifična površina i visoka vrednost kapaciteta katjonske izmene koji potiče od izomornih supstitucija trovalentnog alumunijuma sa dvovalentnim katjonima (Mg^{2+} , Ca^{2+}), zbog čega poseduju negativno naelektrisanje površine koje je kompenzovano sa katjonima koji se mogu lako zameniti sa drugim. Struktura glinenih minerala je takva da su svi izmenljivi katjoni dostupni za izmenu bilo sa drugim neorganskim kao i sa velikim organskim katjonima. Za razliku od glina, zeoliti imaju još veći kapacitet katjonske izmene, ali su sva izmenljiva mesta dostupna za izmenu sa neorganskim i malim organskim katjonima, dok je za zamenu sa velikim organskim katjonima dostupno svega $\approx 10\%$ od ukupno izmenljivih položaja.

Mikotoksini čiji molekuli spadaju u grupu polarnijih molekula, kao što su aflatoksini veoma se efikasno adsorbuju na prirodnim mineralima koji poseduju negativno naelektrisanje površine. Sa smanjenjem polarnosti molekula mikotoksina, opada i efikasnost njihove adsorpcije na neorganskim formama bilo glina bilo zeolita.

Na ideju da vršimo ispitivanja primene organozeolita za adsorpciju mikotoksina došli smo na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem njihove primene za adsorpciju nepolarnih organskih zagađivača prisutnih u vodama ³ kao i rezultata koje su Phillips i saradnici dobili ispitivanjima efekata adsorpcije zearalenona na različitim formama organobentonita⁶.

Površinska modifikacija zeolita

Mi smo utvrdili da katjoni koji se nalaze na površini prirodnog zeolita (klinoptilolita) a koji služe za uspostavljanje ravnotežnog naelektrisanja kristala (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+}) se mogu zameniti sa kvaternarnim aminima dugih lanaca, velike molekulske mase. Ovakva katjonska izmena je kvantitativna samo sa onim katjonima koji su dostupni, odnosno koji se nalaze na spoljnoj površini jedinične ćelije kristala, jer se zbog svojih dimenzija ne mogu uvući u strukturne (unutrašnje) pore minerala, u kojima se nalazi većina izmenljivih katjona.

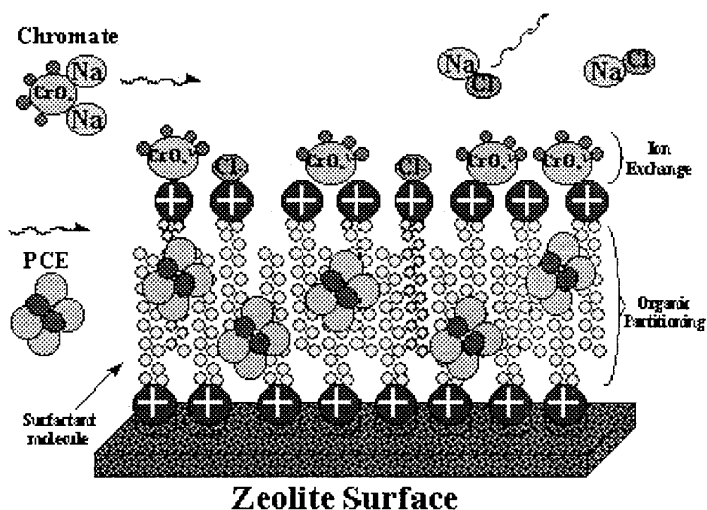
Upravo zbog ovih karakteristika zeolitski minerali su daleko pogodniji od bentonita za delimičnu korekciju površinskog naelektrisanja. Sa malim procentom amina (1-2%) kod zeolita postiže se daleko bolji efekat nego kod bentonitskih glina gde treba

dodati 15-20% amina za iste promene naelektrisanja, odnosno adsorpcije slabo polarnih molekula⁶.

Istovremeno sa delimičnom izmenom neorganskih katjona organskim, ostaju na zeolitu izmenljiva mesta sa osobinama da i dalje vežu teške metale, amonijak kao i polarne organske molekule.

Sorpcija kvaternarnih amina menja drastično fizičko hemijske osobine spoljne površine minerala. Ove promene se ogledaju u stvaranju dvostrukog sloja organskog liganda na kome se adsorbuju nepolarni organski molekuli.

Organozeolit (Slika 1.) kao graničnu fazu sad nema hidrofilnu negativno naelektrisanu površinu, već je ona pretvorena u hidrofobnu što je čini kompatibilnom sa nepolarnim organskim molekulima. Ovo istovremeno dovodi i do promene površinskog naelektrisanja iz negativnog u pozitivno uz relativno malo prisustvo organskog ugljenika. Pozitivno površinsko naelektrisanje stvara nove centre na kojima se adsorbuju anjoni kao što su hromati i nitrati. Organski sloj na površini minerala stvara istovremeno nove efikasne centre na kojima se adsorbuju manje polarni i nepolarni molekuli kao što su zearalenon, ohratoksini, T-2 toksin i drugi. Zaostali neorganski izmenljivi katjoni zadržavaju polazne osobine tj. deo površine ostaje negativno naelektrisan. U celini gledano ovi novi proizvodi imaju bipolarnu karakteristiku.



Slika 1. Površinska modifikacija zeolita organskim katjonima

U ITNMS je definisan tehnološki postupak i utvrđeni uslovi za dobijanje i proizvodnju novog tipa mineralnog adsorbenta mikotoksina koji je u dosadašnjim ispitivanjima dao najbolje rezultate kako sa aspekta broja i vrste mikotoksina koji se na njemu adsorbuju tako i sa aspekta kritične mase organske faze koja dozvoljava nesmetanu primenu u hrani za životinje. Adsorbent ispunjava sve zahteve koji su propisani za ovu vrstu materijala (visok sadržaj klinoptilolita, nizak sadržaj teških metala, visoka kiselinska stabilnost)⁵.

Adsorpcija mikotoksina

Ispitivanja efekata adsorpcije strukturno različitih mikotoksina na mineralnom adsorbentu su vršena po istom postupku u tri laboratorije. U ITNMS (zajedno sa Toksikološkom laboratorijom-VMA) su praćeni efekti adsorpcije aflatoksina i zearalenona; u Tehnološko-Ekološkom centru u Zrenjaninu su praćeni efekti adsorpcije T-2 toksina i DAS prisutnih zajedno. Najveći broj ispitivanja je izvršen u College of Veterinary Medicine, University of Missouri. U svim laboratorijama uporedno su vršena ispitivanja na neorganskoj formi klinopitolita (Min-a-zel) i na organski modifikovanoj formi (Min-a-zel Plus).

U Tabeli 1 su prikazani ovi rezultati adsorpcije.

Tabela 1: Indeksi adsorpcije mikotoksina na Min-a-zelu i Min-a-zelu Plus (in vitro).

Mikotoksin	Min-a-zel	Min-a-zel Plus
Aflatoksin B ₁	99% ^(1,2)	99% ^(1,2)
Aflatoksin B ₂	85% ⁽¹⁾	
Aflatoksin G ₂	82% ⁽¹⁾	
Zearalenon	33% ⁽¹⁾	94% ^(1,2)
Ohratoksin A	40% ^(1,2)	96% ⁽²⁾
T-2 toksin	35% ^(1,3)	83% ⁽³⁾
DAS		50% ⁽³⁾
Vomitoksin	1% ⁽²⁾	9% ⁽²⁾
Ergosin	92% ⁽²⁾	96% ⁽²⁾
Ergotamin	94% ⁽²⁾	97% ⁽²⁾
Ergokornin	82% ⁽²⁾	92% ⁽²⁾
Ergokriptin	87% ⁽²⁾	98% ⁽²⁾
Ergokristin	94% ⁽²⁾	98% ⁽²⁾

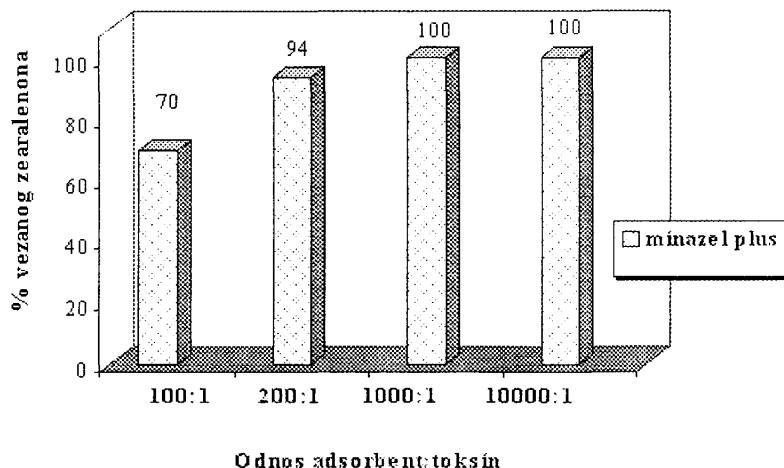
(1) Rađeno u ITNMS

(2) Rađeno u Vet. Med. Diag. Lab., College of Vet. Med., University of Missouri, Columbia, USA

(3) Rađeno u Tehnološko Ekološkom Centru, Zrenjanin

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 1 se može videti da Min-a-zel Plus adsorbuje 94% prisutnog zearalenona, 96% ohratoksina A, 84% T-2 toksina, 50% DAS, >90% mikotoksine iz grupe ergot alkaloida, dok se DON (Vomitoksin) adsorbuje samo 9%; što je znatno bolje u odnosu na neorgansku formu-Min-a-zel. Aflatoksin B₁ se adsorbuje i na Min-a-zelu i na Min-a-zelu Plus 99%.

Ispitivanja adsorpcije zearalenona na Min-a-zelu Plus su rađena pri različitim odnosima toksin:adsorbent. Rezultati su prikazani na Slici 2.



Slika 2: Adsorpcija zearalenona na Min-a-zelu Plus pri različitim odnosima toksin:adsorbent

Iz ovih podataka datih na Slici 2 se može videti da je efikasnost adsorpcije Min-a-zela Plus u odnosu na zearalenon visoka. Pri masenom odnosu Min-a-zel Plus/zearalenon 200:1, što znači da ako je u hrani prisutno 0.2% adsorbenta, može se očekivati da će prisustvo zearalenona u količini 10 mg/kg hrane biti smanjeno za više od 90%. Ukoliko je sadržaj zearalenona 20 mg/kg hrane, tada će ista količina adsorbenta (0.2%) adsorbovati 70% prisutnog zearalenona. Na osnovu ovih podataka može se zaključiti da bi dodatak 0.2% Min-a-zela Plus stočnoj hrani mogao efikasno da spreči negativne efekte prisutnih mikotoksina, a posebno zearalenona. Velik broj ogleđa je izvršen na više farmi svinja, na kojima je u hrani bio prisutan zearalenon i problemi vezani sa trovanjem zearalenonom (vulvovaginitis kod svinja ženskog pola svih uzrasta). Dodatak Min-a-zela Plus čak i u količini 0.1% je znatno smanjio negativan efekat zearalenona, dok su za količinu od 0.2% potpuno nestali efekti trovanja.

Efekti Min-a-zela Plus su ispitivani na prisutne mikro elemente kao i vitamin B6. Dobijeni rezultati su pokazali da se Min-a-zel Plus ponaša identično kao i Min-a-zel, tj ne adsorbuje mikroelemente kao ni vitamin B615.

Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjima in vitro jasno se vidi da delimičnom modifikacijom površine zeolita sa organskim katjonom, dolazi do stvaranja aktivnih centara na kojima se adsorbuju slabo polarni molekuli mikotoksina. Dobri efekti su postignuti za aflatoxin B1, zearalenon, ohratoksin A i ergot alkaloiode (preko 90%); istovremeno T-2 toksin se adsorbuje preko 80% dok DAS prisutan zajedno sa T-2 toksinom nešto slabije-50%. Adsorpcija Vomitoksina na Min-a-zelu Plus iznosi 9%.

Literatura

1. Avakumović Đ., Rajić I., Marijaš J., Vukićević Olivera, Tomašević-Čanović Magdalena: Efikasnost redukcije štetnih efekata mikotoksina prisutnih na farmama svinja primenom novog mineralnog adsorbenta mikotoksina Min-a-zela Plus, III Simpozijum "Uzgoj i zaštita zdravlja svinja", Vršac, 155-156, 2000
2. Bočarov-Stančić Aleksandra, Tomašević-Čanović Magdalena, Daković Aleksandra: Mogućnost upotrebe preparata klinoptilolita (Minazela) za prevenciju mikotoksikoza prouzrokovanih trihotecenima tipa A, Časopis "Ekologija" br 25, Beograd, 162-164, 2000
3. Bowman R. S., Haggerty G. M., Huddleston R. G.: Sorption of nonpolar organic compounds and inorganic cations by surficant modified zeolite, ACS Symposium, Series 594, Washington, 54-64, 1995
4. Daković Aleksandra, Ispitivanje adsorpcije aflatoksina na prirodnim i modifikovanim mineralnim adsorbentima, Magistarska teza, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, 1998
5. Daković Aleksandra, Tomašević-Čanović Magdalena: Adsorpcija mikotoksina mineralnim adsorbentima, II Savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, Budva, 199-203, 2000
6. Lemke S. L., Grant P. G., Phillips T. D.: Adsorption of Zearalenone by Organophylic Montmorillonite Clay, J. Agric. Food Chem., 46, 3789-3796, 1998
7. Lopez-Garsia R., Park D. L., Phillips T. D.: Integrated mycotoxin management system, Food Nutrition and Agriculture, 23, 38-48, 1999
8. Phillips T. D., Sarr B. A., Grant P. G.: Selective Chemisorption and Detoxification of Aflatoxins by Phyllosilicate Clay. Natural Toxins, 3, 204-213, 1995
9. Resanović Rada: Ispitivanje zaštitnog efekta modifikovanog klinoptililta na živinu izloženu dejstvu aflatoksina B1, Doktorska disertacija, fakultet veterinarske Medicine, Beograd, 2000
10. Riley R. T., Norred W. P.: Mycotoxin prevention and decontamination-a case study on maize, Food Nutrition and Agriculture, 23, 25-32, 1999
11. M.Tomašević-Čanović, M.Dumić, O.Vukićević, I.Rajić, T.Palić: Mineralni adsorber mikotoksina, kao dodatak stočnoj hrani, postupak za njegovu proizvodnju preradom zeolitskog tufa. Patent P- 683/93
12. Tomašević-Čanović Magdalena, Dumić M., Vukićević Olivera, Radošević P., Rajić I., Palić T.: The adsorption effects of mineral adsorber on the clinoptilolite basis; Part I: Adsorption of aflatoxins B1 and G2. Acta Veterinaria, 44, 5-6, 309-318, 1994
13. M.Tomašević-Čanović, M.Dumić, O.Vukićević, Z.Mašić, O.Zurovac-Kuzman, A.Daković: The Adsorption of Mycotoxins on Modified Clinoptilolite. Natural Zeolites "Sofia Zeolite Meeting '95", Edited by G. Kirov, L. Felizova, O. Petrov, Pensoft- Sofia-Moskow, 127-132, 1997

14. Tomašević-Čanović Magdalena, Daković Aleksandra, Marović Vesna, Stojšić D., Dumić M., Vukićević Olivera: Comparative study of Aflatoxin B1 on different modified clinoptilolite and montmorillonite, Zeolite 97, 5th International Conference on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolite, Naples, Italy, 290-292, 1997
15. Tomašević-Čanović Magdalena, Daković Aleksandra, Marković Vesna, Radosavljević-Mihajlović Ana, Vukićević Jelica: Adsorption Effects of Mineral Adsorbents: Part III: Adsorption Behaviour In The Presence of Vitamin B6 and Microelements, Acta Veterinaria, 50, 1, 23-30, 2000

UDC: 631.41

Original scientific paper

THE SURFACTANT MODIFIED CLINOPTILOLITE-NEW EFFICIENT ADSORBENT FOR MYCOTOXINS

M. Tomašević-Čanović¹, A. Daković¹, O. Vukićević¹, M. Adamović², A. Bočarov-Stančić³, G. Rottinghaus⁴

Summary:

The new mineral adsorbent for mycotoxins adsorption Min-a-zel Plus was obtained by cation exchange of inorganic exchangeable cations from zeolite surface with organic cations. Organic modification influence on change of surface charge and hydrophobicity. Both these parameters determine the efficiency for organic molecules adsorption. On the basis of laboratory results, the technology for production of the new mycotoxins adsorbent having adsorption level in in vitro tests over 90% for zearalenone, aflatoxin B1, ochratoxin A and ergot alkaloids was determined. T-2 toxin adsorption on this sorbent was 84% and DAS was 50% while Vomitoxin was adsorbed only 9%. The adsorption process was fast and complete in 30 minutes contact adsorbent/toxin without desorption.

Keywords: clinoptilolite, organic modification, adsorption, mycotoxins

¹Ph.D. Magdalena Tomašević-Čanović, M.Sc. Aleksandra Daković, B.Sc. Vukićević, ITNMS, P.O. Box 390, Beograd

² Ph.D. Milan Adamović, Institut PKB-Agroekonomik, Beograd-Padinska Skela

³ Ph.D. Aleksandra Bočarov-Stančić, Tehnološko ekološki centar, Zrenjanin

⁴ Ph.D. George Rottinghaus, College Veterinary Medicine, University of Missouri, USA