Usos de Principios Zeolíticos Activos en Sistemas de Acuicultura Marina

Gerardo Rodríguez Fuentes², Mirta Mir², Juan Carlos Torres², Ana Isa Pérez², Leonil Barcelona³, Juan M. López Alcalá¹ y [José L. López-Ruiz](#)¹.

¹ Grupo de Investigación Zeolitas-Acuicultura. CASEM. Universidad de Cádiz (España)

² Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas. IMRE. Universidad de La Habana, 10400 La Habana (Cuba)

³ Banco de Sangre Provincial de La Habana, MINSAP (Cuba)

RESUMEN

Se estudian dos de las posibles aplicaciones que ofrecen las zeolitas en sistemas acuícolas: adsorción de amonio y acción microbicida. Para ello se utilizan tres productos zeolíticos: una variedad natural cubana (**NZ**), otras dos intercambiando sus cationes la anterior con iones Na^+ (**AZ**) y Zn^{2+} (**ZZ**), respectivamente. Antes de su uso se les somete a análisis químico y estudian la composición mineralógica mediante DRX. Se mide la capacidad de retención de amonio de los productos **NZ** y **AZ**, así como la desorción de Zn^{2+} que el agua de mar ocasiona sobre **ZZ**. Además, se llevan a cabo estudios microbiológicos para determinar la dosis mínima inhibitoria de **ZZ** y su espectro microbicida.

SUMMARY

Two of the possibilities offered by zeolites in marine aquacultural systems have been studied: ammonium adsorption and microbicidal action. Three zeolitic products were used: a naturally occurring zeolite from Cuba (**NZ**); another exchanged with Na^+ ions (**AZ**); and the third exchanged with Zn^{2+} ions (**ZZ**). Before use, a chemical analysis of them was carried out and their mineralogical composition were determined by XDR. The capacity for ammonia retention of the zeolites **NZ** and **AZ**, and desorption of Zn^{2+} undergone by **ZZ** in contact with seawater, were measured. In addition, microbiological studies were undertaken to determine the minimum inhibitory dose of **ZZ** and its microbicidal spectrum.

INTRODUCCION

En relación con la producción y eliminación de amonio en sistemas acuícolas (1), el Grupo de Investigación Zeolitas-Acuicultura de la Universidad de Cádiz, ha desarrollado trabajos previos con zeolitas, y sintetizado productos de naturaleza zeolítica (2 y 3). También ha estudiado la intervención de estos productos en determinados procesos biológicos, tal como el cultivo de microalgas marinas (4).

Por otra parte, en trabajos llevados a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas de la Universidad de La Habana, se ha demostrado la versatilidad de las zeolitas naturales en las numerosas aplicaciones que proporcionan sus propiedades. Por ejemplo, substratos de

suelos pobres para cultivos de plantas (5), tratamiento de subproductos procedentes la hidrometalurgia del cobre, conteniendo altos niveles de amonio, níquel y cobalto (6); y, recientemente, el desarrollo de principios zeolíticos activos (PZAs) para la producción de productos medicinales (7).

El objetivo de este trabajo se ha centrado en las posibilidades acuícolas de tres PZAs: zeolita natural purificada (**NZ**); la forma sódica de esta **NZ** (**AZ**); y la forma zíncica al someter **NZ** a un intercambio catiónico con Zn^{2+} (**ZZ**). De especial interés para su utilización en granjas acuícolas, es el comportamiento de los PZAs en la eliminación de amonio. Rodríguez (8) ha confirmado en estudios cinéticos y termodinámicos, la alta selectividad de **NZ** con respecto a la retención de NH_4^+ , presentando una capacidad de cambio total de 2,04 meq NH_4^+ /g. Estos resultados han aconsejado el desarrollo de dicha aplicación.

Por varios autores (9 y 10) han sido demostrada las propiedades fungicidas y microbicidas de zeolitas conteniendo iones de metales pesados, entre los que se encuentra el Zn^{2+} . La efectividad del amplio espectro microbicida de **ZZ** ha hecho posible el desarrollo de métodos de purificación de aguas de bebida para el consumo humano (11). También, su capacidad microbicida es muy útil para la preservación de las especies cultivadas en granjas marinas.

En el presente trabajo presentamos resultados obtenidos en la colaboración desarrollada entre los dos citados Grupos de zeolitas. Muestras de PZAs obtenidos en el Laboratorio de La Habana, han sido caracterizados por ambos Grupos. Posteriormente se han llevado a cabo evaluaciones preliminares para determinar su utilización como mantenedores de condiciones ideales en sistemas de cultivos marinos, y en las del transporte de peces.

MATERIAL Y METODOS

Los tres productos zeolíticos que se ensayan han sido obtenidos de zeolita natural procedente del depósito de Tasajeras en la provincia de Santa Clara (Cuba). La forma purificada de **NZ** fue producida sometiendo una fracción de menos de 0,8 mm a tratamiento en lecho fluidizado. Por variación de la velocidad de flujo del agua se origina la separación de distintas fases minerales. De este modo se eliminan arcillas, cuarzo, feldespato, óxidos de hierro y otras partículas extrañas, obteniéndose un material en el que más del 70% está formado por clinoptilolita-heulandita + mordenita.

Las formas sódicas y zíncicas se obtienen por intercambio catiónico de **NZ** con disoluciones 0,1 M de NaCl y de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ de calidad XXII USP, a temperatura de ebullición y reflujo de 4 horas. El tiempo en cada ocasión es variable hasta obtener la saturación. Las muestras se analizan, previa disolución en ácido fluorhídrico, por espectrometría de absorción atómica.

Los estudios de difracción por rayos X permiten evaluar los cambios estructurales o transformaciones aparecidas en cada muestra después del tratamiento. El proceso computacional teórico de los DRX estándares fue hecho por el Método Rietveld con programa FULL-PROF de CEA-CRNS. Los datos de las distancias de enlaces entre los átomos que constituyen la estructura cristalina de la clinoptilolita-heulandita, son los obtenidos por Alberti (12). Se determina la composición de las fases de cada PAZ, junto con su cristalinidad.

Se lleva a cabo también evaluación de la capacidad de cambio amónico de los productos

NZ y **AZ** por elución en columna a temperatura de 25°C, de 6 litros de disolución NH₄Cl 1 M, a razón de 1 litro/hora. Las zeolitas saturadas de amonio se lavan con agua desionizada y con etanol, y secan a 60°C para la eliminación de éste. Puestas de nuevo en la columna, se les hace pasar disolución de NaCl 1 M, para desplazar al amonio, el cual es medido espectrofotométricamente.

Además, se estudian las capacidades de retención amónica en condiciones similares a aquellas existentes en sistemas marinos. Para ello, 1 gramo de cada PZA, a su tamaño original de menos de 0,8 mm de grano, se suspenden en 100 ml de disolución conteniendo 10 ppm de NH₄⁺(NH₄Cl) en agua de mar (3,5% de salinidad). Se agitan durante 48 horas, a 20°C, midiendo las concentraciones amónicas iniciales y finales mediante el método espectrofotométrico del indofenol (13). En análogas condiciones se experimenta con disoluciones en agua destilada.

Por otra parte, la zeolita **ZZ** se somete a un proceso de desorción del ion Zn²⁺, suspendiendo 0,5 g en 100 ml de agua de mar, a 20°C, con agitación durante 48 horas. Periódicamente se van midiendo espectrofotométricamente (14) las cantidades de Zn²⁺ desorbidas. También se estudia dicha desorción cuando se utiliza agua doméstica de 59,4 ppm (Ca²⁺ + Mg²⁺) de dureza, a su paso por una columna de 6 x 2,5 cm, conteniendo 20 g de **ZZ**, con flujos de 25 y de 80 ml/minuto. En los eluidos se miden las concentraciones de Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, Na⁺ y Zn²⁺.

Los estudios microbiológicos se llevan a cabo para determinar las dosis mínimas de niveles inhibitorios y el espectro microbicida de **ZZ**. Se usan 35 diferentes tipos microbianos, Gram+ y Gram-, junto con levaduras, en un medio de cultivo con agar (15).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de los análisis químicos se muestran en la Tabla I. Puede observarse que **NZ** es una clinoptilolita-heulandita natural cálcica. El cambio iónico con Na⁺ y con Zn²⁺ se produce después de cuatro horas de tratamiento hidrotérmico. La concentración que se obtiene de estos cationes son óptimos para los objetivos que se proponen de eliminación de bajas concentraciones de NH₄⁺ y de desprendimiento de Zn²⁺ en el medio marino.

TABLA I: Composición química (%) de los PAZs

PAZ	CaO	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	Na ₂ O	MgO	SiO ₂	Al ₂ O ₃	ZnO
NZ	3.32	1.82	1.12	1.45	0.71	63.27	11.78	-
AZ	1.36	1.79	1.04	4.25	0.66	66.33	11.83	-
ZZ	1.57	1.97	1.28	1.06	0.23	65.12	12.21	2.66

Los análisis de rayos X realizados a cada muestra prueban que no ha habido transformaciones de fases durante el tratamiento hidrotérmico. Las diferencias de las muestras **AZ** y **ZZ** con respecto a **NZ**, están originadas por la incorporación de los iones Na⁺ y Zn²⁺ a la estructura zeolítica. La composición de las fases, determinadas por experimentos usando muestras estándares (16) y por refinamiento computacional, muestran una diferencia del orden del 10% (Tabla II). Estas diferencias podrían ser

debidas al hecho de que las estructuras cristalinas de la clinoptilolita-heulandita y del feldespato poseen líneas muy juntas entre sí, y necesitan corrección adecuada para separarlas.

Además, Mir (17) ha comprobado que el tratamiento térmico a altas temperaturas (>450°C) de clinoptilolita-heulandita natural, las transforma en albita o en anortita, dependiendo de su composición química. El proceso tiene lugar si el crecimiento de la fase feldespato se produce a expensas de la fase zeolítica.

TABLA II: Composición de fases minerales determinadas por DRX, usando muestras estándar y refinamiento computacional por el método Rietveld (cr = refinamiento computacional)

Fase mineral	NZ	NZ(rc)	AZ	AZ(rc)	ZZ	ZZ(rc)
Clinoptilolita-heulandita	64.00	54.20	65.00	40.93	68.00	38.97
Mordenita	11.00	10.91	10.00	13.63	10.00	10.57
Cuarzo	5.00	5.02	6.00	6.55	6.00	6.68
Albita	20.00	29.86	19.00	39.89	16.00	43.79

La Tabla III muestra las retenciones de amonio ($X \cdot 10^{-3}$ meq/gramo de zeolita) en agua de mar de 3,5% de salinidad y en agua destilada, respectivamente, utilizando dos concentraciones diferentes de amonio (5 y 10 ppm) y dos diferentes dosis de zeolitas (10 y 20 g/l). También se indican las concentraciones finales de equilibrio ($C \cdot 10^{-3}$ meq/l) en cada caso.

TABLA III: Retenciones de amonio (X)($\times 10^{-3}$ meq/gr zeolita) y concentraciones finales de equilibrio (C y $C \cdot 10^{-3}$), en agua destilada y en agua de mar, con diferentes concentraciones amónicas iniciales y diferentes dosis de zeolitas.

Muestras	NZ		AZ		ZZ	
	C	X	C	X	C	X
Agua de mar						
10 ppm NH_4^+ y 20 gr zeolita/l	-	-	9.3	3.9	9.3	3.9
5 ppm NH_4^+ y 10 gr zeolita/l	4.4	1.7	4.4	1.7	4.8	0.8
Agua destilada						
10 ppm NH_4^+ y 10 gr zeolita/l	3.9	39.4	3.3	44.5	3.6	42.6

Pueden observarse muy bajos niveles de retención de amonio en agua de mar, lo que está en concordancia con resultados obtenidos en experimentos anteriores llevados a cabo con otras zeolitas. La cantidad de amonio retenida representa no más del 3% de la total capacidad de cambio amónico de las respectivas zeolitas. Para rebajar la concentración amónica final sería preciso la utilización de grandes dosis zeolíticas.

Sin embargo, deberá consignarse, que bajo las condiciones en que hemos experimentado, **NZ** y **AZ** presentan una capacidad de cambio amónico mucho mayor que **ZZ**, en el caso de disoluciones con 5 ppm inicial. El hecho de que el número de miliequivalentes cambiados de amonio sea el doble para las citadas dos zeolitas, puede ser debido a la selectividad de cada zeolita para los iones marinos que entran en competición bajo las

condiciones experimentales. Son las siguientes:

- Ca^{2+} - NH_4^+ - Na^+ para **NZ**
- Na^+ - NH_4^+ para **AZ**
- Zn^{2+} - NH_4^+ - Na^+ para **ZZ**

De todos modos, la alta concentración con que se presentan los iones Na^+ y K^+ en el agua del mar los hacen preferente en su retención zeolítica frente al amonio, cuya concentración en cualquier caso, muy escasa (8).

En agua destilada, por el contrario, se ha visto que la retención amónica de los productos que estudiamos es mucho mayor; del mismo orden que la de otras zeolitas que hemos experimentado en trabajos anteriores.

Por otra parte hay que hacer constar que la concentración amónica no es el único parámetro perjudicial que hay que tener en cuenta en el cultivo y en el transporte de peces, sino que existen factores biológicos que hay que tener muy en cuenta (17) y que pueden ser controlados por las propiedades microbicidas de **ZZ**.

La Tabla IV muestra los resultados de la desorción de iones Zn^{2+} procedentes de **ZZ** en contacto con agua de mar. El aumento de la presencia de este catión en la disolución ha sido estudiada a lo largo de 24 horas, alcanzando 56.0 ppm al cabo de dicho tiempo. El intercambio de Zn^{2+} en la zeolita tiene lugar fundamentalmente por su sustitución por iones Na^+ , catión para el que la clinoptilolita presenta una alta selectividad (8, 18).

TABLA IV: Concentración (ppm) de iones Zn^{2+} procedentes de **ZZ** en agua de mar.

Tiempo (h)	1	2	5	8	12	24
Concentraciones	18	24	37	46	51	56

La concentración que se alcanza de Zn^{2+} al cabo de 24 horas, equivale al 70,5% del contenido original de este catión en **ZZ**. Este valor es mucho mayor que el los niveles ordinarios de este metal que han sido necesarios (<10 ppm) en estudios llevados a cabo con aguas potables contaminadas, con 59,4 mg de dureza, para obtener suficiente eficacia microbicida en la purificación de dichas aguas. En estas aguas duras, el desprendimiento de Zn^{2+} proveniente de **ZZ**, se debe al intercambio que tiene lugar con iones Ca^{2+} , para los que la clinoptilolita tiene menos preferencia que para Na^+ pero más que para Zn^{2+} .

Las concentraciones que se alcanzan de Zn^{2+} en agua de mar con **ZZ** deben ser cuidadosamente consideradas con objeto de aprovechar sus propiedades microbicidas en el transporte de especies marinas, o en el de la conservación de acuarios. En estos se estima que la dosis inhibitoria mínima puede ser de menos del 1%.

En la Tabla V se observa cómo en las condiciones dinámicas experimentadas, y para la composición inicial de iones en ciertas aguas domésticas potables, la participación la Ca^{2+} es claramente fundamental en el proceso del desplazamiento del Zn^{2+} procedente del **ZZ** microbicida. Otra observación es que el aumento de concentración de Na^+ en las mencionadas aguas sobre sus niveles originales, se debe a que han sido sustituidos en la estructura zeolítica por iones Ca^{2+} . Al mismo tiempo, se confirma que K^+ y Mg^{2+} no participan en el intercambio, dado que sus concentraciones permanecen constantes

durante el estudio.

La participación del sodio durante los primeros 40 minutos del proceso de cambio iónico en **ZZ** que estamos comentando, es el resultado de la introducción de los iones Zn^{2+} en los lugares más accesibles de la estructura zeolítica, a expensas de los Ca^{2+} , durante el proceso de preparación de **ZZ** a partir de la zeolita natural **NZ**.

TABLA V: Cinética de la sustitución de iones de **ZZ** en agua potable con una dureza de 59.4 ppm y un flujo de 25 ml/min. Concentraciones de cationes en diferentes momentos

Tiempo	0	5	10	15	20	25	30	35	40
Ca²⁺	51	40	45	46	47	48	49	49	50
Na⁺	18	24	21	20	19	18	17	16	16
Mg²⁺	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Zn²⁺	0	7	4	3	3	2	3	4	4
K⁺	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Como puede ser observado en la Tabla I, la concentración de calcio disminuye en un 1,75% en las transformaciones a **AZ** y a **ZZ**, mientras que el sodio lo hace sólo en un 0,39%. Más tarde, el intercambio inicial de iones Ca^{2+} en **ZZ** desplaza a los más accesible iones Na^{+} , a los que los iones Zn^{2+} no tenían capacidad para desplazar inicialmente.

Después de 40 minutos finaliza el cambio $Ca^{2+} \rightarrow Na^{+}$, mientras que desde entonces continúa el intercambio de Zn^{2+} . Por otra parte, el grado de intercambio puede ser establecido mediante la velocidad de flujo que se imponga. Mediante la citada condición de 25 ml/min, se alcanza una elución de Zn^{2+} equivalente al 1,3% del contenido original de este ion en **ZZ**. Este desprendimiento es mucho menor que el que se alcanza en agua de mar, en donde la alta concentración de Na^{+} sumada a la mayor selectividad de la clinoptilolita para este ion, determinan mayor desprendimiento de Zn^{2+} .

En la Tabla VI se muestran los resultados llevados a cabo sobre las dosis mínimas inhibitorias de **ZZ** para 35 tipos microbianos. Es de notar que para dosis por encima del 10% de **ZZ** se consigue una inhibición total de los tipos ensayados. Además, una letalidad efectiva se alcanza al cabo de 12 horas de contacto de **ZZ** con el medio de cultivo (Tabla VII).

TABLA VI: Dosis letales del principio zeolítico activo **ZZ**, con indicación del número de colonias presentes.

Dosis	0	1	5	10	15
Colonias	100	90	62	0	0

TABLA VII: Conducta de la dosis letal (10%) de **ZZ**, en función del tiempo.

Horas	0	6	12	24	30
Colonias	100	94	62	0	0

La Tabla VIII muestra la sensibilidad microbiana determinada con la dosis letal de 10% **ZZ**. Puede verse que un gran número de los tipos ensayados son sensibles a la presencia de **ZZ** en el medio de cultivo. Los estudios se llevaron a cabo con productos medicinales que usan **ZZ** como principio activo confirman la efectividad de este producto zeolítico como antiséptico de amplio espectro, para animales y personas.

El estudio de esta sensibilidad microbiana fue llevado a cabo usando los tipos de microbios más frecuentemente implicados en la salud de las especies marinas.

TABLA VIII: Sensibilidad microbiana de **ZZ**

Tipo de microbio ensayado	Sensibilidad
<i>Arizona</i> 173-6734	-
<i>Arizona</i> 67341	+
<i>Bacillus cereus</i>	+
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-
<i>Candida albicans</i> BSG 002	+
<i>Candida albicans</i> BSG 003	+
<i>Candida albicans</i> BSG 007	+
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 2090	+
<i>Citrobacter freundii</i> BSG 032	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> BSG 023	+
<i>Escherichia coli</i> 44	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BSG 032	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ISA	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BSG 034	-
<i>Proteus mirabilis</i> BSG 013	+
<i>Proteus rettgeri</i> ATCC 1407	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	+
<i>Proteus vulgaris</i> BSG 015	+
<i>Providencia</i> ISA 21	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27857	-
<i>Salmonella anatum</i> BSG 012	+
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14628	+
<i>Salmonella typhimurium</i> BSG 030	+

<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	-
<i>Serratia marcescens</i> BSG 033	+
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12027	-
<i>Shigella flexneri</i> BSG 009	-
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 75921	+
<i>Staphylococcus aureus</i> BSG 031	+
<i>Staphylococcus epidermis</i> BSG 021	+
<i>Streptococcus cloacae</i> ATCC 23355	-
<i>Streptococcus freundii</i> BSG 036	+

CONCLUSIONES

Este estudio ha permitido comprobar la posibilidad del empleo de los llamados principios zeolíticos activos, preparados a partir de clinoptilolita-heulandita natural cubana, en procesos de eliminación de amonio en agua de mar, obteniendo resultados comparable con aquellos obtenidos previamente con productos zeolíticos sintéticos.

La sensibilidad microbiana observada en el principio zeolítico activo **ZZ** en aguas domésticas duras y los valores de las concentraciones de Zn^{2+} obtenidos con aguas de mar, permiten predecir que el efecto microbiano de dicho **ZZ** será de gran utilidad en sistemas marinos.

BIBLIOGRAFIA

1. **López Ruiz, J. y Gómez Garrudo, M^a.E.** (1994). *Aquacultural Engineering*, 13: 147.
2. **López Ruiz, J.** (1996) *Chem. and Industry*. 16, 642.
3. **Ferreiro Almeda, M^a S., Ramos López, S. y López Ruiz, J.** (1995). *XX Reunión Ibérica de Adsorción*. Departamento de Química. Santander (Spain)
4. **López Ruiz, J. , García García, R. y Ferreiro Almeda, M^a S.** (1995) *Aquacultural Research*, 14, 367.
5. **Rodríguez Fuentes, G. y Rivero, L.** (1988). *Proceeding 8th International Congress Soil-less Culture*. Wagenigen. The Netherland
6. **Rodríguez Fuentes, G., Picard, A. et al.** (1982). *Patent 21503*
7. **Rodríguez Fuentes, G.** (1993). *I Curso Iberoamericano de Tamices Moleculares*. Caracas. Venezuela
8. **Rodríguez Fuentes, G.;** (1987) *Tesis doctoral*. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Cuba (1987).
9. **Kamasato, K. et al.** (1991). *Jpn Kokai Tokkyo Koho*, 92224029
10. **Teramoto, H.** (1992). *Jpn Kokai Tokkyo Koho*, 93246813
11. **Rodríguez Fuentes, G. et al.** (1994). *IX National Forum of Science and Technique*. Havana
12. **Alberti, A.** (1975) *TMPM Tschermaks Min.Petr.Mitt.*, 2225.
13. **Strickland, J.D.H. y Parsons, T.R.** (1972). *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa
14. **Tackett, S.L.** (1969). *Anal. Chem.*, 411703.
15. **Rivero, L. y Iglesias, D.** (1995). *Tesis de Grado Universitario*. Instituto de

- Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana
16. **Infante, G. et al.** (1991). *Memoirs 3rd International Conference on Occurrence, Properties and Utilizations of Natural Zeolites*. G. Rodríguez and J.A. González (Eds). Part. I, 127. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Havana
 17. **Mir Caraballo, M.** (1990). *Tesis de Grado Universitario*. Facultad de Física. Universidad de La Habana
 18. **Chelishchev, N.F. et al.** (1988). *Intercambio iónico en Zeolitas Naturales de Alta Sílice*. Editorial Nauka. Moscow. Cap. 4, pp. 74.
-

AquaTIC

Artículo publicado en la Revista AquaTIC n° 8, noviembre 1999