

Universidad Nacional del Comahue

Facultad de Ingeniería



Trabajo Final:

*“Evaluación de la capacidad de retención de aflatoxinas
utilizando bentonitas comerciales de la Norpatagonia
Argentina”*

Autora: *Claudia Gisela Centellegher*

Directora: *Dra. Gisela R. Pettinari*

Co-Directora: *Dra. María Eugenia Parolo*

RESUMEN

El presente trabajo consistió en la caracterización físico-química de cuatro muestras de bentonitas comerciales provenientes de diferentes yacimientos de la Norpatagonia: CATAE, BN, BC y BA. Con el objetivo de ampliar su aptitud de uso, estas bentonitas fueron optimizadas mediante la modificación orgánica de su superficie para obtener materiales capaces de retener aflatoxinas (AF).

Las bentonitas naturales están constituidas por 82-94% de montmorillonita y como minerales acompañantes cuarzo, feldespatos, cristobalita, calcita y ceolita. El argilomineral se clasificó por su composición química como montmorillonita sódica para: CATAE, BC y BA, mientras que BN se clasificó como férrica. A fin de aumentar la capacidad de adsorción las muestras fueron modificadas con hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) mediante un proceso sencillo de intercambio catiónico. El rendimiento de la modificación orgánica fue evaluado mediante espectroscopía IR, difracción de rayos X y análisis termogravimétrico. Se observaron las bandas de absorción IR del grupo C-H (entre 2911 cm^{-1} y 2926 cm^{-1} para a los estiramientos asimétricos, entre 2842 cm^{-1} y 2854 cm^{-1} para los simétricos y entre 1466 cm^{-1} y 1480 cm^{-1} para las vibraciones de flexión) correspondiente a la cadena carbonada del HDTMA; un aumento del espaciado basal que sugiere diferentes acomodamientos de la molécula de surfactante: pseudo-tricapa, parafina monocapa y bicapa; mientras que el porcentaje de pérdida de masa atribuido a la presencia de una sustancia orgánica se encontró entre 24,8 y 39,4%.

La adsorción de distintas concentraciones de AFB1 (0,2, 0,5 y $1,0\mu\text{g/L}$) se realizó en modo *batch* a 20°C con $1\text{g}/100\text{mL}$ de cada muestra de bentonita natural y modificada. Los resultados demostraron que el mayor porcentaje de adsorción para una concentración de AFB1 de $0,5\mu\text{g/L}$, se obtuvo para las muestras modificadas BC OB (99,17%) y el menor para CATAE OB (84,47%), mientras que para las muestras sin modificar se obtuvo el mayor porcentaje para BC (98,91%) a una concentración de $1\mu\text{g/L}$ y el menor porcentaje para CATAE (93,58%) a $0,5\mu\text{g/L}$. Sin embargo no se encontró una relación directa entre el contenido de HDTMA de las organobentonitas con su capacidad de retención de AFB1.

El contenido de carbono orgánico de las bentonitas modificadas podría representar un medio de partición para contaminantes no polares e hidrófobos. A fin de interpretar estos resultados experimentales se podría proponer el mecanismo de partición junto con la interacción ión-dipolo para la adsorción de AFB1.

Palabras claves:

Bentonita – Aflatoxina AFB1 – Hexadeciltrimetilamonio.

ABSTRACT

The present work consists of the physical-chemical characterization of four samples of commercial bentonites from different deposits of the Northpatagonia: CATAE, BN, BC and BA. In order to expand their usefulness, these bentonites were optimized by organic modification of their surface to obtain materials capable of retaining aflatoxins (AF).

Natural bentonites are composed of 82-94% montmorillonite and quartz, feldspars, cristobalite, calcite and zeolite, as additional minerals. The argilomineral was classified by its chemical composition as sodium montmorillonite for: CATAE, BC and BA, in turn BN was classified as ferric. In order to increase the adsorption capacity, the samples were modified with hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) by a simple cation exchange process. The organic modification performance was evaluated by IR spectroscopy, X-ray diffraction and thermogravimetric analysis. The IR absorption bands of the CH group corresponding to the carbon chain of the HDTMA were observed (between 2911 cm^{-1} and 2926 cm^{-1} for the asymmetric stretch, between 2842 cm^{-1} and 2854 cm^{-1} for the symmetrical stretch and between 1466 cm^{-1} and 1480 cm^{-1} for bending vibrations). In addition, it was observed an increase in the basal spacing suggesting different adaptations of the surfactant molecule: pseudo-trilayer, monolayer and bilayer paraffin; meanwhile, the percentage of mass loss attributable to the presence of an organic substance was between 24.8-39.4%.

The adsorption of different AFB1 concentrations (0.2, 0.5 and $1.0\mu\text{g} / \text{L}$) was performed in batch mode at 20°C with $1\text{g} / 100\text{mL}$ of each natural and modified bentonite sample. The results showed that, the highest percentage of adsorption for a AFB1 concentration of $0.5\mu\text{g} / \text{L}$ was obtained for the modified samples BC (99.17%) and the lowest one was acquired for CATAE (84.47%), while for the unmodified samples the highest percentage was obtained for BC (98.91%) at a concentration of $1\mu\text{g} / \text{L}$ and the lowest percentage for CATAE (93.58%) at $0.5\mu\text{g} / \text{L}$. However, it was not found a direct relationship between the HDTMA content of organobentonites and their AFB1 retention capacity.

The organic carbon content of the modified bentonites could represent a means of partition for non-polar and hydrophobic contaminants. In order to interpret these experimental result, we could propose the partition mechanism together with the ion-dipole interaction for the AFB1 adsorption.

Key words

Bentonite - Aflatoxin AFB1 - Hexadecyltrimethylammonium.

INDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	4
INDICE.....	6
AGRADECIMIENTOS.....	8
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Objetivos específicos	11
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	12
2.1 Terminología utilizada	12
2.2 Estructura y clasificación de los minerales arcillosos.....	13
2.3 Propiedades fisicoquímicas de las bentonitas	15
2.4 Métodos de caracterización de los materiales estudiados	17
2.4.1 Difracción de rayos X.....	17
2.4.2 Espectroscopía de IR (IR).....	18
2.4.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	19
2.4.4 Análisis térmicos diferencial/Termogravimétrico (ATD -TG)	20
2.5 Conceptos de Adsorción y síntesis de organobentonitas	20
2.6 Micotoxinas Aflatoxinas	23
2.6.1 Valores admitidos de Aflatoxinas en alimentos	24
2.7 Aplicaciones de las bentonitas naturales y organobentonitas en la industria alimentaria.....	25
2.8 Productos comerciales para la adsorción de micotoxinas	26
2.8.1 Bentonitas y Organobentonitas como adsorbentes de micotoxinas	27
3. MATERIALES Y METODOS	32
3.1 Materiales	32
3.2 Métodos de estudio	33
3.2.1 Análisis mineralógico	39
3.2.1 Análisis químico.....	34
3.2.2 Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC).....	36
3.2.3 Superficie Específica Total.....	37
3.2.4 Índice de Hinchamiento (IH).....	38
3.2.5 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	39

3.2.6 Análisis mineralógico.....	39
3.2.7 Espectroscopia FTIR (IR).....	40
3.2.8 Análisis térmicos diferencial/Termogravimétrico (ATD -TG)	41
3.3 Modificación de las bentonitas.....	41
3.4 Adsorción de Aflatoxina	42
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	44
4.1 Análisis químico.....	44
4.2 Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC)	47
4.3 Superficie Específica Total (EGME)	48
4.4 Índice de hinchamiento	49
4.5 Microscopía electrónica de barrido	51
4.6 Análisis mineralógico.....	52
4.6.1 Mineralogía sobre muestra total	52
4.6.2 Mineralogía de la fracción < 2 µm	54
4.6.3 Mineralogía de las organobentonitas.....	56
4.7 Espectroscopia FTIR.....	60
4.8 Análisis Termogravimétricos	65
4.9 Adsorción de Aflatoxina	70
4.9.1 Adsorción sobre bentonitas naturales.....	70
4.9.2 Adsorción en organobentonitas (OB).....	74
4.9.3 Aplicaciones de la bentonita en la elaboración de alimentos balanceados.....	77
5. CONCLUSIONES	79
6. BIBLIOGRAFÍA	81
7. ANEXO	92

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres en primer lugar ya que sin su incondicional apoyo esto no hubiese sido posible. Sus consejos, sus motivaciones y su amor me ayudaron a llevar adelante esta etapa de mi vida.
- A mi pareja Julián, que desde el principio estuvo al lado mío, en las buenas y en las malas con su amor y paciencia.
- A mi tutora Gisela Pettinari por aceptarme para realizar mi tesis bajo su dirección. Su apoyo constante, paciencia, consejos en momentos difíciles y sus amplios conocimientos hicieron posible la realización de este trabajo.
- A María Eugenia Parolo, por abrirme sus puertas y dedicarme parte de su tiempo para acompañarme y ayudarme en este trabajo. Cada etapa y discusiones fueron muy valiosos para mi aprendizaje gracias a su sabiduría.
- A mis compañeros de carrera, que gracias a sus mates, charlas y compañía fueron fundamentales para mi crecimiento no solo como profesional sino como persona, encontré grandes amigos en este largo pero grato camino.
- A mis amigos de la vida, siempre con su apoyo desde afuera del ámbito universitario fue muy importante para no bajar los brazos en momentos difíciles.
- A mis familiares, que estuvieron siempre presentes con aliento y felicitaciones en las buenas, y con apoyo y animo en las malas.
- A la Universidad Nacional del Comahue, por facilitarme herramientas para llevar a cabo mi carrera y a sus profesionales que desde su cargo me brindaron todos sus conocimientos.
- A quienes trabajan en el CIMAR, por su buena onda y por darme un espacio en su lugar de trabajo para que yo pueda llevar a cabo mis experiencias y aprendizajes.
- A la minera José Cholino e hijos S.R.L. por facilitarnos muestras para que pueda realizar mi trabajo.
- A Dios, la Virgen María y todos los santos por escuchar cada plegaria, protegerme durante este camino, fortaleciendo mi corazón para afrontar las dificultades.

1. INTRODUCCIÓN

Las bentonitas son arcillas constituidas principalmente por montmorillonita, mineral arcilloso del grupo de las esmectitas, cuyas propiedades físico-químicas le confieren numerosas aptitudes de uso. Son ampliamente utilizadas en diferentes procesos industriales tales como: cerámica, tecnología de alimentos, papel, petróleo, impermeabilización, construcción, farmacología, entre otros así como también en la remediación del medio ambiente. En particular, en la industria alimentaria para animales de granja, las bentonitas se utilizan como agentes detoxificantes. Las micotoxinas son metabolitos producidos por diversas especies de hongos y se pueden encontrar en los ingredientes y/o alimentos procesados (Berthiller *et al.*, 2009). Entre ellas una de las más nocivas se encuentran las aflatoxinas y particularmente la Aflatoxina B1 (AFB1) producidos por especies de *Aspergillus*, contaminante natural de alimentos para animales (Dalcero *et al.*, 1997; Magnoli *et al.*, 1998). Existen en la bibliografía numerosos antecedentes respecto de la capacidad adsorbente de bentonitas sódicas naturales para retener AFB1 en soluciones acuosas. La formación de un complejo insoluble entre la bentonita y la AFB1 sería la responsable de prevenir la absorción de toxinas en el intestino (Diaz *et al.*, 2004; Eckhardt *et al.*, 2014; Magnoli *et al.*, 2008; Nones *et al.*, 2015; Ramos *et al.* 1996a, b; Rosa *et al.*, 2001).

Debido a las características hidrofílicas de los minerales arcillosos y a su carga estructural negativa, es conocida su afinidad por sustancias contaminantes polares y en particular, catiónicas. Estos minerales presentan una excelente capacidad de adsorción de cationes debido a su carga negativa superficial pero no adsorben eficientemente contaminantes aniónicos o sustancias orgánicas no polares. Se han identificado varios factores experimentales que afectan esta capacidad de adsorción: el porcentaje de esmectita en la bentonita natural, la concentración del adsorbato en el medio acuoso, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de la esmectita, radio de hidratación del catión de la intercapa, distribución de tamaño de partícula, área superficial específica, naturaleza y tipo de sustituciones isomórficas, presencia de carbono orgánico, origen geológico, entre otras (Altin *et al.*, 1999; Jaynes *et al.*, 2007).

A partir de la modificación de la superficie de las arcillas, en particular por reacción de intercambio catiónico con una sal de amonio cuaternaria, se obtienen materiales con características hidrofóbicas, las organoarcillas. Entre los surfactantes más utilizados para la modificación de la superficie del mineral por intercambio catiónico se encuentra el hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) que actúa como un tensioactivo modificando la estructura del mineral arcilloso con un aumento del

espacio de intercapa (Baglieri *et al.*, 2013; Elemen *et al.*, 2012; Nones *et al.*, 2016; Sarkar *et al.*, 2013; Schamper *et al.*, 2016, Yu *et al.*, 2014). El incremento observado en el espaciado basal es dependiente de la cantidad de moléculas orgánicas intercaladas (situación que determina la capacidad de adsorción de las organoarcillas sintetizadas), de la longitud de la cadena, del agente tensioactivo y de la densidad de carga del mineral de arcilla (Wang *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 2001).

La formación del complejo de adsorción entre las sustancias orgánicas y los minerales arcillosos se lleva a cabo en virtud de diversas fuerzas atractivas de diferente naturaleza, tales como la fisisorción (fuerzas de Van der Waals, interacciones polares, puentes de hidrogeno) y la quimisorción (formación de enlaces covalentes), pudiendo coexistir los dos mecanismos (Deng *et al.*, 2010; Girona y Giménez, 1997).

En este sentido, Parolo *et al.* (2014) evaluaron la capacidad de adsorción de contaminantes orgánicos en aguas residuales de una bentonita sódica (Río Negro) y de organobentonitas obtenidas por intercambio catiónico y silanización. A partir de la modificación de su superficie, por reacción de intercambio catiónico con una sal de amonio cuaternaria (HDTMA), se logró obtener materiales con características hidrofóbicas, las organoarcillas. Se determinó que hay un aumento de la capacidad de retención de sustancias orgánicas no iónicas del tipo anilina (cantidad máxima de adsorción (Q_{max}) se calculó en 49 mmol/kg. La linealidad de las isotermas de adsorción evidencia que el principal mecanismo de adsorción es la partición de la sustancia orgánica entre el medio acuoso y la superficie del material adsorbente hidrofóbico.

Recientemente, Li *et al.* (2018), presentaron una revisión de algunos de los principales mecanismos de adsorción de micotoxinas en bentonitas naturales y modificadas encontrando que los principales modos de interacción son los siguientes: 1) modelo de donador-aceptor de electrones (EDA), 2) la quimisorción selectiva y 3) enlace de hidrógeno y enlace a través de anillo de furano. Los mecanismos de adsorción AFB1- mineral arcilloso si bien han sido extensamente estudiados, aún siguen siendo motivo de discusiones.

De acuerdo a lo expuesto, y conocida la extensa disponibilidad en la región Norpatagónica de las arcillas esmectíticas, se propone evaluar la aptitud de diferentes bentonitas comerciales de la región y también optimizadas orgánicamente, con el propósito de obtener agentes detoxificantes con posible aplicación en la elaboración de alimentos para animales. El uso de este tipo de adsorbentes constituye un procedimiento simple que puede ser llevado a una mayor escala y con un costo reducido.

1.1. Objetivos específicos

- Caracterizar las arcillas naturales y modificadas mediante diferentes técnicas como espectrofotometría Infrarojo (IR), difracción de rayos X (DRX), determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) por el método de Cu(II) trietilentetramina, superficie específica (SE) por el método etilenglicol monoetiléter (EGME) y análisis químicos mediante fluorescencia de RX (FRX).
- Optimizar las arcillas naturales mediante modificación orgánica de su superficie hidrofílica para obtener materiales capaces de retener contaminantes hidrofóbicos.
- Realizar ensayos de adsorción en *batch* bajo diferentes condiciones experimentales.
- Determinar la capacidad de retención de aflatoxinas (AFB1) para bentonitas naturales regionales.
- Estudiar los complejos de adsorción AFB1-arcilla mediante métodos espectroscópicos, de difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica.
- Comparar la capacidad de adsorción de las arcillas modificadas respecto de las naturales para aflatoxinas y evaluar la posibilidad de utilización de los materiales estudiados como agentes detoxificantes en alimentos.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

En este capítulo se desarrollarán los conceptos teóricos utilizados en el presente trabajo.

2.1. Terminología utilizada

Arcilla: se refiere a un material que se origina naturalmente, constituido principalmente por minerales de grano fino, el cual es generalmente plástico a contenidos de agua apropiados y que se endurece cuando se seca o calcina. Las fases asociadas en una arcilla pueden incluir materiales que no imparten plasticidad, así como también materia orgánica (Guggenheim y Martin, 1995).

Mineral arcilloso: minerales que pertenecen a la clase de los silicatos, grupo de los filosilicatos.

Esmectita: nombre del grupo para los minerales de filosilicatos 2:1 con una carga neta de capa negativa de aproximadamente -0.2 y -0.6 por unidad de fórmula en la capa. La fórmula generalizada es $X_{0.3}Y_{2-3}Z_4O_{10}(OH)_2.nH_2O$, donde X es el catión intercambiable (ej.: Ca^{+2} , Na^+ , K^+ , Mg^{+2}), Y es un catión de tamaño pequeño a mediano (ej.: Al, Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Li, Mg, Ni, Zn), Z = Si, Al, y n es un número racional. La esmectita a menudo se caracteriza por la solvatación de sus cationes en la capa intermedia causando un hinchamiento pronunciado entre las capas (perpendicular al plano (001)). Por esta razón, la esmectita se conoce comúnmente como arcilla expansiva. (CMS, 2018).

Montmorillonita: es un mineral arcilloso del grupo de las esmectitas, subgrupo dioctaédrico. Entre sus características se destacan un alto contenido en Al y capacidad de intercambio catiónico, el origen de la carga corresponde a la hoja octaédrica. (CMS, 2018).

Bentonita: Fue definida por R.E. Grim (1978): "bentonita es una arcilla compuesta esencialmente por minerales del grupo de las esmectitas, con independencia de su génesis y modo de aparición".

Recientemente la CMS se propuso una definición de bentonita que consiste en:

Término mineralógico-petrológico: es una roca suave, plástica, de color claro, compuesta principalmente por minerales arcillosos del grupo de las esmectitas, particularmente montmorillonita. Su génesis más frecuente es por alteración química de ceniza volcánica bajo condiciones marinas o por alteración hidrotermal.

Término industrial: una bentonita es un material arcilloso plástico, altamente coloidal, principalmente compuesto por montmorillonita, el cual es comúnmente utilizado en fangos de perforación, como aglomerante en arenas de moldeo, como constituyente de arenas para gato y alimento balanceado, en cementos, cerámicos, entre otros. (CMS, 2018).

2.2. Estructura y clasificación de los minerales arcillosos

Los minerales arcillosos son aluminosilicatos hidratados y se clasifican como filosilicatos (phyllos = hoja/lámina); tienen como rasgo estructural tetraedros (SiO_4)⁴⁻, la unión de estas unidades en disposición bidimensional dará lugar a la formación de dos tipos de hojas (Moore y Reynolds, 1997). La Fig. 1 muestra la estructura de un filosilicato donde se identifican los siguientes componentes en la estructura:

- La hoja tetraédrica (T), la cual tiene una composición química representada por TO_4 , siendo T el catión tetraédrico (Si^{4+} , Al^{3+} o Fe^{3+}). Los tetraedros de sílice que contienen un átomo de Si^{4+} , ocupa el intersticio del centro, rodeado de cuatro átomos de oxígeno, la carga de tal unidad es -4 y los tetraedros se unen entre sí compartiendo tres oxígenos basales conformando así la hoja tetraédrica. El cuarto oxígeno apical apunta en dirección normal a la hoja y al mismo tiempo forma parte de una hoja octaédrica inmediatamente adyacente.
- La hoja octaédrica (O), se forma cuando un catión (Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} o Fe^{3+}) que ocupa el centro y coordina a su alrededor seis oxígenos u hidroxilos, conforma un octaedro y estos comparten lateralmente los hidroxilos formando una hoja octaédrica extendiéndose en forma bidimensional. Cuando en la celda unitaria de esta hoja, todos los sitios octaédricos están ocupados, se denominan trioctaédricas, si en cambio cuatro de los seis octaedros están ocupados, serán dioctaédricas.

El vértice no compartido de la hoja tetraédrica también forma parte de un lado de la hoja octaédrica, pero se localiza un átomo adicional de oxígeno arriba en la hoja tetraédrica, al centro del sexto tetraedro. Ese átomo de oxígeno, se une al átomo de hidrógeno formando un grupo OH en la estructura. La unión entre la hoja tetraédrica (T) y octaédrica (O), da lugar a dos tipos de estructuras que se llaman capa T:O o tipo 1:1 y T:O:T o tipo 2:1. En la sucesión o apilamiento de capas, queda un espacio que se denomina espacio intercapa o interlaminar.

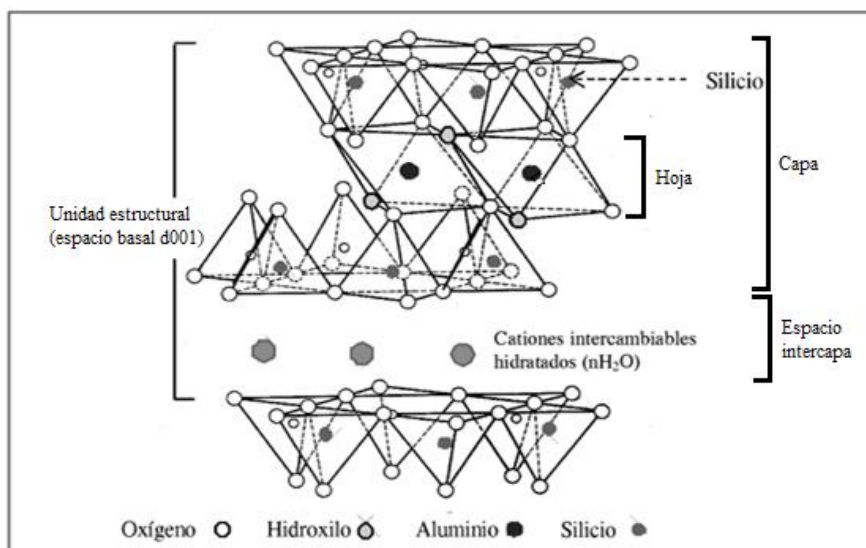


Figura 1: Estructura del mineral arcilloso tipo 2:1 (Moore y Reynolds, 1997).

Los minerales del tipo 1:1 suelen ser estructuras eléctricamente neutra mientras que los minerales del tipo 2:1 suelen estar cargadas negativamente.

La carga superficial puede ser de dos tipos: permanente, generada debido a sustituciones isomórficas proveniente de procesos geológicos donde por ej. el Al³⁺ sustituye al Si⁴⁺ en la hoja tetraédrica, quedando con carga negativa la capa producto del reemplazo de átomos de la estructura por otros de menor valencia, o Al³⁺ por Mg²⁺ en la hoja octaédrica e independiente del entorno químico; y cargas variables en los bordes de la estructura que son dependientes del pH del medio debido a la posibilidad de protonación o deprotonación de los grupos superficiales.

En función de sus características estructurales es que estos autores proponen una clasificación según tipo de capa y carga estructural definiendo grupos y subgrupos de minerales arcillosos (Tabla 1).

Tabla 1: Clasificación de minerales arcillosos (Moore y Reynolds, 1997).

Tipo de capa	Grupo (X=carga)	Subgrupo	Minerales
1:1	Caolin/serpentina X ~ 0	Caolines (Di)	Caolinitas, Dickita, Nacrita, Halloysita.
		Serpentinas (Tr)	Crisotilo, Antigorita, Lizardita
2:1	Talco/pirofilita X ~ 0	Talcos (Tr), Pirofilitas (Di)	
	Esmectita X ~ 0,2 – 0,6	Esmectitas (Tr) Esmectitas (Di)	Saponitas, Hectorita Montmorillonita, Beidellita, Nontronita
	Vermiculita	Vermiculitas, dioctaédricas	

	X ~ 0,6 – 0,9	y trioctaédricas	
	Illita 0,6>X< 0,9	Illita (Tr) Illita (Di)	Illita, Glauconita
	Mica X ~1	Micas y micas frágiles dioctaédricas y trioctaédricas	Biotita, moscovita, clintonita, margarita
	Clorita X ~ variable	Cloritas (Tr) (Di)	Sudoita, Cookeita
2:1 Capas invertidas	Sepiolita / palygorskita	Sepiolitas, Palygorskitas	

La composición química de las esmectitas representada por las siguientes fórmulas por celda unidad (Newman, 1987):

Dioctaédricas

- Montmorillonita $(\text{Na}, \text{Ca})_{0,3}(\text{Al}, \text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}$.
- Beidellita $(\text{Na}, \text{Ca } 0.5)_{0,3} \text{Al}_2(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}$.
- Nontronita $(\text{Na}_{0,3}\text{Fe}^{3+})_2(\text{Si}, \text{Al})_4 \text{O}_{10}(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}$.

Trioctaédricas

- Hectorita $\text{Na}_{0,3}(\text{Mg}, \text{Li})_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{F}, \text{OH})_2$
- Saponita $(\text{Ca}^{2+}, \text{Na})_{0,3}(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})_3(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}$
- Sauconita $\text{Na}_{0,3}\text{Zn}_3(\text{Si}, \text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}$

2.3. Propiedades fisicoquímicas de las bentonitas

Las esmectitas, tienen una carga superficial que es fundamentalmente del tipo permanente y negativa ~ (-0,2 a -0,6 por unidad estructural) para valores de pH superiores a 2,5 (CMS, 2018; Stumm y Morgan, 1981). Son varios los cationes que pueden ocupar los sitios en las hojas tetraédricas, octaédrica o espacio intercapa, y como se indicó anteriormente, estas sustituciones isomórficas determinarán las propiedades fisicoquímicas de estos minerales arcillosos, entre las que se destacan:

- Superficie específica
- Capacidad de intercambio catiónico (CIC)
- Hinchamiento

- Plasticidad
- Tixotropía

La superficie específica de una arcilla se define como el área de la superficie externa más el área de la superficie interna de las partículas constituyentes, por unidad de masa, expresada en m^2/g . En los materiales constituidos por minerales expansibles (esmeclita), pueden ser determinadas dos tipos de superficies específicas: superficie específica total y superficie específica externa. La superficie específica total está conformada por el área interlaminar más la superficie externa de los “cuasi-cristales” de arcilla (Aylmore y Quirk, 1969); mientras que la superficie externa sólo está conformada por esta última. El propósito de las mediciones de superficie es comúnmente determinar la accesibilidad del complejo mineral de arcilla a las moléculas o iones que pueden ser adsorbidos sobre el mismo.

La capacidad de intercambio de cationes (CIC) es una medida de la cantidad de cationes intercambiables que balancean la carga negativa en las estructuras de minerales. La CIC tiene dos orígenes: (1) la presencia de cargas permanentes resultantes de sustituciones isomorfas en las hojas octaédricas y tetraédricas de minerales de arcilla, y (2) la formación de cargas negativas en los bordes. Como las cargas permanentes son independientes del pH (siempre que los protones en medio ácido no ataquen las hoja), la CIC es constante debido a las cargas permanentes (Anderson y Sposito, 1991; Chorover y Sposito, 1995; Jasmund y Lagaly, 1993; Lagaly *et al.* 1997; Schroth y Sposito, 1997).

En una dispersión acuosa de esmeclitas, esta carga negativa está naturalmente compensada por cationes intercambiables (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) localizados en el espacio de la intercapa (Bergaya *et al.*, 2006). Estos cationes hidratados forman complejos denominados de esfera interna - los cationes deben perder agua de la primera esfera de solvatación- y de esfera externa -el catión está separado de la superficie al menos por una molécula de agua-. Esta hidratación le otorga a las esmeclitas su naturaleza hidrofílica y su capacidad de hinchamiento o expansión (Fig. 2).

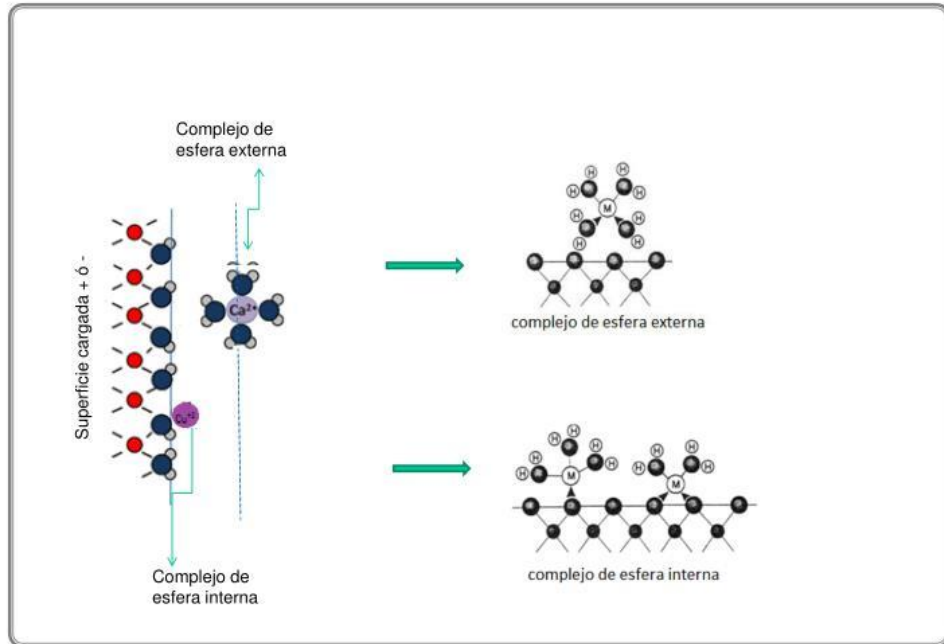


Figura 2: Hidratación de cationes en la superficie del mineral

El hinchamiento, es un ensayo que mide la expansión volumétrica de una masa de bentonita (en ausencia de fuerzas de agitación) que ocupa un volumen conocido en seco. El índice de hinchamiento de una bentonita es una de las propiedades que define su aptitud para los diferentes tipos de uso. Por ej., las esmectitas sódicas tienen la capacidad de hincharse considerablemente (10-20 veces su volumen), mientras que las cálcicas no poseen esta propiedad. (Moreira Toja, 2016).

2.4. Métodos de caracterización de los materiales estudiados

2.4.1. Difracción de rayos X

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas con longitudes de onda en el rango entre 0,02 y 100 Å. La producción de rayos X en un tubo de RX consiste en: un filamento capaz de emitir electrones por calentamiento, que hace de cátodo, y un ánodo metálico, situados ambos dentro de una ampolla de vidrio en la que se ha hecho un elevado vacío. El calentamiento del cátodo, que es normalmente una espiral de wolframio, se logra haciendo pasar una corriente eléctrica de intensidad (10 – 60 mA). Si entre el filamento y el ánodo se aplica una diferencia de potencial (10 – 60 kV), los electrones emitidos por el filamento incandescente son fuertemente acelerados hacia el ánodo, produciendo, en el choque con él, la emisión de rayos X en todas las direcciones.

Para que se produzca la difracción en fase el ángulo entre el haz incidente y el plano de los átomos, θ (ángulo entre el haz incidente y el plano reticular) debe ser igual al ángulo entre el haz reflejado o difractado y dicho plano. En la Fig. 3 se muestra la condición necesaria para obtener una intensidad difractada máxima, la diferencia del recorrido de las dos ondas es $2d_{hkl} \sin \theta$, donde d_{hkl} es la distancia entre los dos planos de la familia con índices de Miller (hkl) lo cual queda expresado según la Ecuación de Bragg (Ec. 1):

$$n\lambda = 2\theta d_{hkl} \sin \theta \quad (\text{Ec. 1})$$

A partir de esta ecuación se puede obtener “d” (Ec. 2) que es el espaciado interplanar que se puede expresar en Angstrom (\AA) o Nanomicrones (nm).

$$d_{hkl} = \frac{(2\theta \sin \theta_{hkl})}{\lambda} \quad (\text{Ec. 2})$$

Este método permite, además de la identificación de sustancias cristalinas, determinar constantes cristalográficas tales como los parámetros de celda. (Moore y Reynolds, 1997).

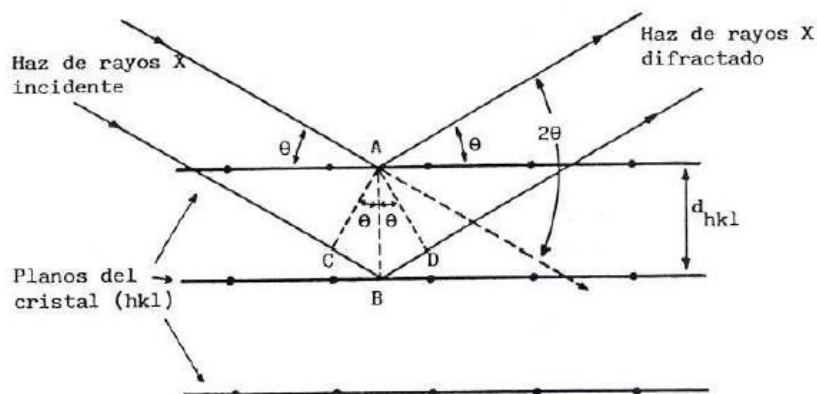


Figura 3: Ley de Bragg

2.4.2. Espectroscopía de IR (IR)

Los espectrómetros infrarrojos suelen operar a longitudes de onda comprendidas entre $2,5 \times 10^{-4}$ cm y 25×10^{-4} cm. Los fotones de luz infrarroja no tienen suficiente energía para producir transiciones electrónicas, pero pueden hacer que grupos de átomos vibren respecto a los enlaces que los conectan. Estas transiciones vibracionales corresponden a distintas energías y las moléculas adsorben radiación infrarroja solo a ciertas longitudes de onda y frecuencias. La frecuencia de la

vibración depende de las masas de los átomos y de la rigidez del enlace, siendo que los átomos más pesados vibran más lentamente que los más ligeros y los enlaces más fuertes vibran más deprisa que los enlaces más débiles. Por otro lado, se debe tener en cuenta el momento dipolar del enlace, ya que en general, si un enlace tiene un momento dipolar, su frecuencia de tensión produce una adsorción en el espectro IR. Si un enlace está simétricamente sustituido y su momento dipolar es cero, no hay vibraciones de tensión en el espectro o ésta es débil (debido a que las colisiones moleculares, rotaciones y vibraciones hacen que estos enlaces sean asimétricos parte del tiempo).

Un espectrofotómetro de infrarrojo mide las frecuencias de la luz infrarroja que son absorbidas por un compuesto. En un espectrofotómetro sencillo se utiliza un haz de la muestra que pasa a través de la celda que contiene la muestra, y un haz de referencia que pasa a través de la celda de referencia que contiene sólo el disolvente. Un espejo que está rotando alternativamente permite que la luz de cada una de las fuentes entre en el monocromador. Este último utiliza prismas o rejillas de difracción que hacen que sólo entre una frecuencia de luz, cada vez, en el detector; explora y hace un barrido en el intervalo de frecuencias del infrarrojo.

El espectro IR de un mineral ofrece información sobre la estructura y el grado de regularidad, la naturaleza de las sustituciones isomórficas; además permite diferenciar el agua de hidratación del grupo hidroxilo estructural y la presencia de impurezas cristalinas y no cristalinas (Farmer, 1979).

2.4.3. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Esta técnica se utiliza con un equipo conformado de la siguiente manera:

- Cañón de electrones que produce un haz de electrones, que consta normalmente de un filamento de wolframio, los electrones son acelerados mediante un campo de 30 kV en una columna al vacío que es dirigido y enfocado sobre la muestra.
- Sistema óptico constituido por bobinas de barrido que permiten al haz barrer una pequeña área de la superficie de la muestra.
- Sistema de detección: los electrones con un ángulo pequeño de dispersión interactúan con la superficie y generan una dispersión de electrones secundarios que producen una señal electrónica que a su vez produce una imagen con una profundidad de campo de aproximadamente unas 300 veces superior a la del microscopio óptico.

- La resolución de la mayoría de estos instrumentos es de 2 a 10 Å, con un amplio intervalo de amplificación (entre 15 a 100000 x).
- Diferentes detectores adicionales para capturar mayor información producida por la interacción de los electrones con la muestra, tal como el EDS (Energía Dispersada por Barrido), el más frecuentemente utilizado porque permite obtener información de la composición química.

La MEB nos permite obtener imágenes de alta resolución de las morfologías de los materiales observados, tamaño y disposición de las partículas.

2.4.4 Análisis térmicos diferencial/Termogravimétrico (ATD -TG)

El análisis térmico implica un enfoque dinámico para el estudio de materiales mediante la observación de su respuesta frente a un cambio de temperatura. Estos son el análisis térmico diferencial (ATD o DTA), el análisis gravimétrico térmico (TG o TGA) y el análisis gravimétrico térmico derivativo (DTG).

Las curvas ATD muestran el efecto de los cambios de energía (reacciones endotérmicas o exotérmicas) en una muestra. Para las arcillas, las reacciones endotérmicas implican la desorción de H₂O superficial (por ejemplo, H₂O en superficies exteriores) y deshidratación (por ejemplo, capa intermedia de H₂O) a bajas temperaturas (<100°C), deshidratación y deshidroxilación a temperaturas más elevadas y, finalmente, fusión. Las reacciones exotérmicas están relacionadas con la recristalización a altas temperaturas que pueden ser casi simultáneas con o después de la deshidroxilación y la fusión. Discriminar entre desorción y deshidratación o deshidratación y deshidroxilación puede ser problemático. Las curvas TG muestran idealmente solo cambios de masa durante el calentamiento. La derivada de la curva TG, la curva DTG, muestra cambios en la pendiente TG que pueden no ser obvios a partir de la curva TG. Por lo tanto, la curva de DTG y la curva de DTA pueden mostrar fuertes similitudes para aquellas reacciones que implican cambios de masa y entalpía, tales como reacciones de desorción, deshidratación y deshidroxilación. (Guggenheim y Van Groos, 2001).

2.5. Conceptos de Adsorción y síntesis de organobentonitas

La adsorción es el fenómeno de acumulación de partículas, moléculas o iones sobre una superficie; la sustancia que se adsorbe es el adsorbato y el material sobre el cual lo hace es el

adsorbente o sustrato. El proceso inverso de la adsorción es la desorción. La naturaleza de la superficie adsorbente es el factor determinante en la adsorción. Para ser eficaz como adsorbente, un sólido debe presentar una gran área superficial por unidad de masa (sólidos porosos que tienen muchas cavidades o poros con diámetros tan pequeños como una fracción de nanómetro). Las superficies de dichos sólidos son necesariamente irregulares a un nivel molecular y contienen sitios de particular atracción para la adsorción de moléculas. Dependiendo de la intensidad de las fuerzas de enlace a los sitios, estas moléculas del adsorbato pueden ser de posición móvil o fija. Las fuerzas relativamente débiles electrostáticas, de inducción y de dispersión favorecen la movilidad y dan como resultado la adsorción física (fisorción). Por otra parte, las fuerzas cuasi-químicas, mucho más intensas, pueden actuar para fijar las moléculas a la superficie promoviendo la quimisorción.

La adsorción de moléculas neutras en esmectitas es impulsada por varias interacciones químicas: puente de hidrógeno, interacción ión-dipolo, enlaces de coordinación, reacciones ácido-base, transferencia de carga y fuerzas de van der Waals (Lagaly, 1993).

Los minerales arcillosos pueden ser modificados en su estructura por intercambio catiónico, la intercalación de oxi-hidróxidos poliméricos de aluminio, hierro, cromo y surfactantes catiónicos, entre los más estudiados. Estos materiales modificados presentan cambios en el área superficial y porosidad que les confieren aptitudes de uso de interés en diferentes industrias.

El reemplazo de los cationes intercambiables inorgánicos del mineral por cationes orgánicos de distinta longitud de cadena alquílica, a través de reacciones de intercambio iónico, origina el cambio de la superficie del silicato de hidrófila a hidrófoba (Jones, 1983; Jordan, 1950; Lagaly *et al.*, 1983). El equilibrio hidrófilo/hidrófobo depende de la longitud y la densidad de empaquetamiento de las cadenas de alquilo (Lagaly, 1984, 1987; Weiss, 1966).

La disposición y orientación del catión orgánico en el espacio interlamina depende no sólo del tamaño y forma de la molécula sino también de la densidad de carga del mineral arcilloso.

En relación a los sitios activos del mineral, un catión orgánico interacciona con los sitios de sustitución isomórfica y las cargas de borde por intercambio iónico y con la superficie siloxánica neutra por interacciones de van der Waals. Cuando el soluto orgánico aumenta su tamaño molecular, se incrementa la contribución de las fuerzas de atracción de van der Waals, pudiendo llegar a dominar el proceso de adsorción (Theng, 1974). Sin embargo, si la molécula es de muy grandes dimensiones y el mineral tiene una densidad de carga elevada, el impedimento estérico dificulta el

acceso al espacio interlaminar. Para una esmectita, esto ocurre cuando la longitud transversal de la molécula orgánica es de aproximadamente 50 Å (Johnston, 1996).

Los cationes de amonio cuaternario son tensioactivos catiónicos, con cadenas alquílicas de 16-20 átomos de carbono, y son la fuente orgánica más utilizada para preparar arcillas orgánicas mediante el intercambio con los iones de origen natural (Baglieri *et al.*, 2013; Ikhtiyarova *et al.*, 2012; Jaynes y Boyd, 1990; De Paiva *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2011; Sarkar *et al.*, 2013; Schampera *et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 1998). En este trabajo, se intercaló la molécula de bromuro de HDTMA (Fig. 4) para las organobentonitas.

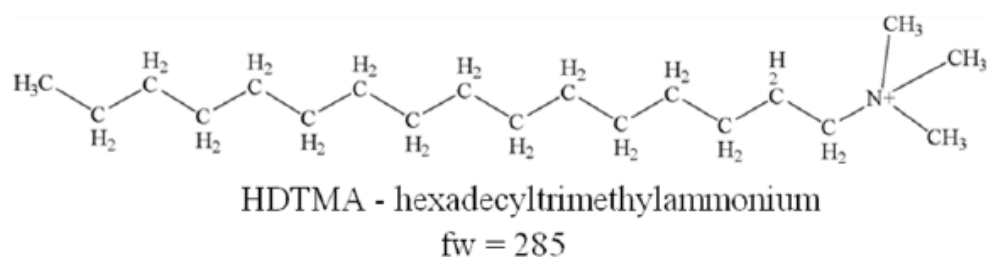


Figura 4: Estructura de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA⁺) (Jaynes W. F., Zartman R. E., 2011).

La retención de estos cationes orgánicos se produce dentro del espacio de intercapa de las arcillas y aumentan el espaciado basal lo cual proporciona un entorno hidrofóbico óptimo para la retención de moléculas orgánicas tales como las micotoxinas (Fig. 5). El incremento del espaciamiento basal provocado por el intercambio catiónico depende de la longitud de la cadena, del agente tensioactivo y de la densidad de carga del mineral de arcilla (Wang *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 2001).

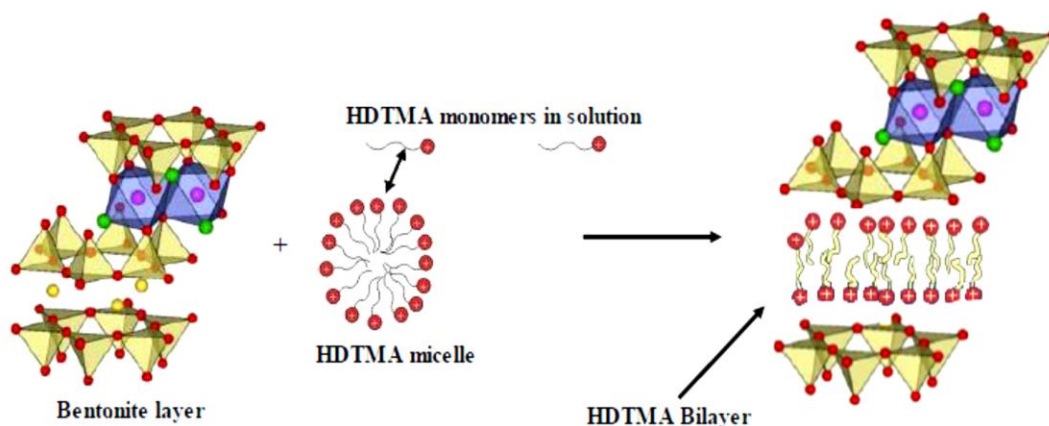


Figura 5: Representación de cationes orgánicos insertados en la intercapa de la arcilla esmectita. (Anirudhan y Ramachandran, 2015).

2.6. Micotoxinas: Aflatoxinas

La FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1991) define a las micotoxinas como metabolitos de hongos que provocan cambios patológicos tanto en los seres humanos como animales, y la micotoxicosis son los síndromes de la toxicidad resultante de la absorción de micotoxinas. El término micotoxina deriva de las palabras griegas *mykes* (hongos) y *toksicons* (veneno). Son metabolitos secundarios de hongos, producidos en la etapa final del crecimiento exponencial de una colonia fúngica y no tiene aparentemente una importancia en el crecimiento o metabolismo de estos organismos.

Se pueden encontrar en los ingredientes y/o alimentos procesados en formas solubles, conjugadas, o incorporadas a macromoléculas (Berthiller *et al.*, 2009). Son toxinas producidas por hongos tóxico genético del género *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, principalmente. Las aflatoxinas son los metabolitos más comunes y nocivos, producidos por diferentes cepas de *Aspergillus* como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* (Dalcero *et al.* 1997; Heathcote y Hibbert, 1978; Magnoli *et al.*, 1998). Entre los diferentes miembros de la familia de las aflatoxinas (AFB1, AFG1, AFB2 y AFG2) (Fig. 6), la aflatoxina B1 (AFB1) posee las características más tóxicas y cancerígenas para los animales y los seres humanos (McLean y Dutton, 1995).

Las diferentes series de aflatoxinas tienen una actividad muy diferente debido a la pequeña diferencia en la estructura (Fig. 6): (1) la serie B de aflatoxinas contiene un anillo de ciclopentenona, mientras que la serie G contiene un anillo de lactona; (2) se encuentra un enlace doble 8,9 en forma de un éter vinílico en el anillo de furano terminal en la aflatoxina B1 y G1, pero no B2 y G2 (Asao *et al.*, 1965; Buchi *et al.*, 1967).

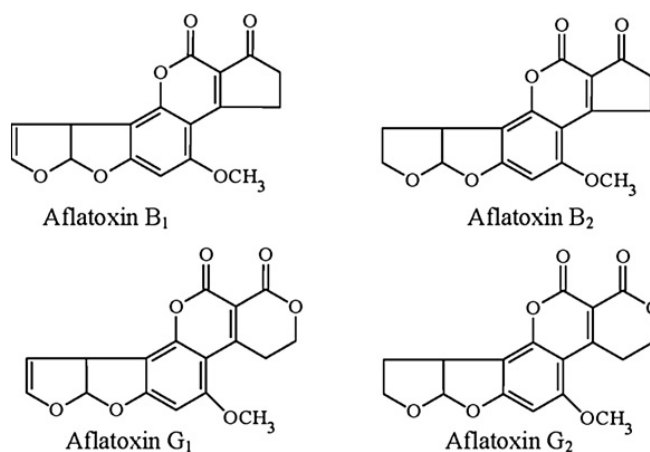


Figura 6: Estructuras de las aflatoxinas AFB1, AFG1, AFB2 and AFG2.

La molécula AFB1 consiste principalmente en dos grupos funcionales principales: dos anillos de furano relacionados con la toxicidad (Wong, *et al.*, 1976) y una cumarina altamente sustituida relacionada con la carcinogenicidad (Kang *et al.*, 2016; Lacy, *et al.*, 2004). Este último contiene una lactona orgánica, dos carbonilos adyacentes, un anillo de cinco carbonos y un grupo fenilo (Fig. 7). Los grupos carbonilo se consideran ricos en electrones, por lo que interactúan fuertemente con grupos superficiales carentes de electrones o especies cargadas positivamente (Deng *et al.*, 2010), como también pueden participar en la formación de enlaces de hidrogeno con los grupos superficiales.

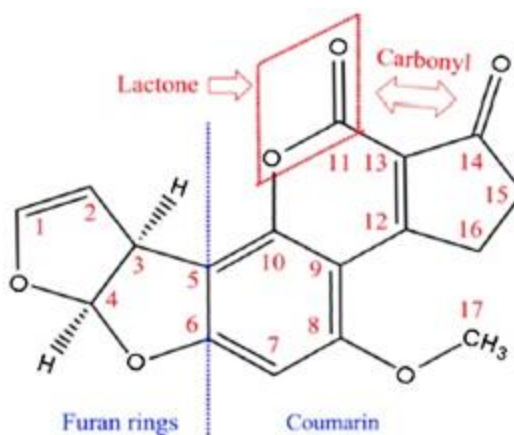


Figura 7: Estructura de la molécula de Aflatoxina B1 (AFB1) (Kang *et al.*, 2016).

2.6.1 Valores admitidos de Aflatoxinas en alimentos

Dada la importancia para la salud pública mundial, en varios países se han establecido normas regulatorias y directrices para los niveles de tolerancia para las micotoxinas más importantes, como aflatoxinas, ocratoxina A, deoxinivalenol, patulina, zearalenona, T-2 y fumonisinas. La Comisión del Codex Alimentarius (CCA), de la FAO, ha abordado este problema en un intento de armonizar las normas (Visawanat, 2004). La CCA, apoyada por la FAO y la WHO (World Health Organization), apunta a facilitar el comercio mundial y a proteger la salud de los consumidores mediante el desarrollo de normas internacionales para los alimentos y las raciones. Dentro de la CCA, el Comité del Codex para Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CCFAC) establece límites máximos para los aditivos y los contaminantes en los alimentos, los que resultan decisivos en caso de conflictos comerciales.

Son varios los países que han adoptado reglamentos para proteger a los consumidores de los efectos nocivos de las micotoxinas que puedan contaminar los alimentos y para asegurar las prácticas en su comercio. En el año 2002, el Instituto Nacional para la Salud Pública y el Medio Ambiente de los Países Bajos comenzó una encuesta internacional sobre las micotoxinas. Como parte de ésta, se solicitó a los servicios agrícolas de las embajadas holandesas en el mundo que recopilasen de las autoridades locales información actualizada sobre la situación reglamentaria de las micotoxinas en tantos países como fuese posible. Los rangos de concentraciones aceptadas varían de acuerdo con los países y su forma de legislar, sin embargo se pueden encontrar tendencias relacionadas a los bloques económicos mundiales. Los niveles máximos tolerables para la AFB1 se encontraron en un rango de 1-20 µg/kg, donde 29 países tienen como límite 2 µg/kg.

En Argentina se impusieron límites de aflatoxinas B1 de 5 µg/kg y 20 µg de aflatoxinas totales (B1, B2, G1, G2)/kg para el contenido en alimentos de consumo humano, mientras que FAO/WHO (World Health Organization) establecieron 15 µg de aflatoxinas totales/kg basadas en los posibles problemas económicos que generaría un nivel menor (Carrillo y Audisio, 2007).

2.7 Aplicaciones de las bentonitas naturales y organobentonitas en la industria alimentaria

El campo de aplicación de las bentonitas es amplio debido a que depende principalmente de la composición mineral total, de la distribución del tamaño de partícula, de las condiciones de procesamiento y particularmente del estado y la distribución de la carga electrostática de las capas estructurales de los minerales de arcilla (Maes *et al.*, 1979).

Las bentonitas, son ampliamente utilizadas en diferentes procesos industriales tales como: cerámica, tecnología de alimentos, papel, petróleo, impermeabilización, construcción, farmacología, entre otros así como también en la remediación del medio ambiente. Se comercializa en diferentes formas: en estado natural o activadas, en bruto, triturada, molida en diferentes mallas según el destino final. Según la estadística minera, entre los años 2003-2005, la demanda de bentonita por usos en Argentina es la siguiente: petróleo: 53%; fundición: 23%; alimentos balanceados: 7%; bentonita activada: 5,4%; pelletizaciones (obtención de pellets): 5,2%; clarificantes: 2,4%; cerámica: 2%; obras públicas: 1%; otros: 1% (INTI).

Particularmente, en la industria alimentaria, las bentonitas son muy efectivas como adsorbente de la aflatoxina en alimentos para animales; es decir, actúa en el tracto gastrointestinal

disminuyendo la biodisponibilidad de estas micotoxinas. Las mejoras en el rendimiento o en la salud animal cuando se incluyó la bentonita en la alimentación han sido del 30 al 100% (Desheng *et al.*, 2005; Dixon *et al.*, 2008; Grim, 1962; Kubena *et al.*, 1998; Phillips *et al.*, 2002).

Se ha reportado que la modificación orgánica de bentonitas con cloruro de benzalconio (BAC) y con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) (o HDTMA) mejora la capacidad de una bentonita para adsorber AFB1 aumentando hasta un 25,2% (valor correspondiente a una bentonita tratada con 2% de CTAB a 30°C) la adsorción de la organobentonita con respecto a la bentonita natural (Nones *et al.*, 2015, 2016). Los resultados obtenidos indican que las organoarcillas utilizadas como aditivo para piensos pueden representar una nueva estrategia para prevenir la aflatoxicosis en animales alimentados con alimentos contaminados con aflatoxinas.

En la Tabla 2, se detallan los resultados obtenidos por diferentes autores, en montmorillonitas modificadas con otros surfactantes como OTAB (bromuro de octadeciltrimetilamonio), DODAC (cloruro de dioctadecildimetilamonio) y BAC (cloruro de benzalconio) utilizadas para la adsorción de AFB1.

Tabla 2: Adsorción de micotoxinas en organobentonitas (Li *et al.*, 2018).

Muestras	Dosaje (mg/mL)	Concentración AFB1 (µg/mL)	pH	Eficiencia de adsorción (%)	Referencia
OTAB-Mt	1	36,40	3,50	55,20	Wang <i>et al.</i> (2018)
DODAC-Mt	1	36,40	3,50	29,80	Wang <i>et al.</i> (2018)
BAC-Mt	0,6	0,30	-	76,90	Nones <i>et al.</i> (2016)

2.8 Productos comerciales para la adsorción de micotoxinas

Después de ser ingerido por el animal, la AFB1 se absorbe rápidamente a través del tracto gastrointestinal y llega al hígado a través de la vena porta. En general, la concentración de toxinas en el hígado alcanza la cantidad más alta después de ingerirse en aproximadamente una hora o media (Ding *et al.*, 1996). Por lo tanto, un buen adsorbente sería aquel que se una a la AFB1 rápidamente y de manera irreversible (Pimpukdee *et al.*, 2004; van Rensburg *et al.*, 2006). Se han estudiado varias estrategias para la reducción o inactivación de las aflatoxinas durante muchos años. En la actualidad, el adsorbente utilizado debe ser práctico y rentable para la desintoxicación de alimentos contaminados a gran escala (Bailey *et al.*, 1998; Pimpukdee *et al.*, 2004).

Un proyecto de investigación de varios años entre la empresa **BIOMIN** -líder mundial en investigación sobre hongos y micotoxinas- y la Universidad de Austria, evaluaron más de 300

materiales adsorbentes diferentes, tales como aglutinantes orgánicos, componentes celulares, aluminosilicatos y carbón activado. Los investigadores encontraron que cinco características son claves para definir un material apropiado para este uso, y son: *alta capacidad de adsorción*; *irreversibilidad del proceso*- que las toxinas no se liberen nuevamente; *especificidad* - que sólo las aflatoxinas sean adsorbidas; *seguridad* - el material adsorbente debe ser no tóxico y sus efectos no pueden ser transferidos a la carne y otros productos animales; *estudios de biomarcadores in vivo* - efectos estadísticamente significativos que se deben brindar para demostrar la eficacia en la dosis.

2.8.1 Bentonitas y Organobentonitas como adsorbentes de micotoxinas

Para seleccionar o modificar las esmectitas para desintoxicar efectivamente un medio debido a la presencia de las aflatoxinas en alimentos o ingredientes alimentarios, se necesita una comprensión a nivel molecular de los mecanismos de interacción aflatoxina-esmectita.

La formación del complejo de adsorción entre las aflatoxinas y la esmectita se lleva a cabo en virtud de diversas fuerzas atractivas de diferente naturaleza, siendo éstas en ocasiones de naturaleza física (fuerzas de Van der Waals, interacciones polares, puentes de hidrogeno, etc.), y en otros casos de naturaleza química (formación de enlaces covalentes), tratándose de un proceso de fisisorción o quimisorción, respectivamente. (Girona y Giménez, 1997).

Li *et al.* (2018), presenta una revisión de algunos de los principales mecanismos de adsorción de micotoxinas en bentonitas naturales y modificadas. Para bentonitas naturales propone los siguientes modos de interacción: 1) modelo de donador-aceptor de electrones (EDA), 2) la quimisorción selectiva y 3) Enlace de hidrógeno y enlace a través de anillo de furano.

1) Según Phillips *et al.* (2006), quien tomó el modelo de EDA para explicar la adsorción de AFB1 en bentonita comercial (NovaSil), los grupos carbonilo en la molécula AFB1 pueden compartir electrones de la superficie cargada negativamente a través de la carga parcialmente positiva de los átomos de carbono de este grupo fuertemente polarizado. Confirmaron que la carga positiva de los átomos de carbono del carbonilo en la molécula AFB1 eran bastante importantes para el proceso de adsorción, que mostró una correlación positiva con la fuerza de adsorción.

2) Mediante espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) se indicó que hubo interacciones entre los grupos carbonilo de AFB1 y la arcilla (Phillips *et al.*, 1995). Es decir, los dos grupos carbonilo podrían formar fácilmente un quelato mononuclear

(bidentado) con los metales de transición entre las capas de la montmorillonita. Los dos grupos carbonilo proporcionan electrones, mientras que los metales de transición proporcionan orbitales sin completar (Fig. 8). Los anillos de quelato formados por el β -dicarbonilo de las acetilacetonas y los iones metálicos se han descrito como planos y simétricos, lo que proporciona una fuerte evidencia de la existencia de una estabilización por resonancia del complejo de unión (Nakamoto, 1963). La arcilla que utilizan en la experiencia para proponer este modelo es un aluminosilicato de calcio y sodio hidratado.

Se entiende por quelato bidentado a aquellas moléculas que poseen dos átomos donadores capaces de coordinarse simultáneamente a un ion metálico, por lo que ocupa dos o más sitios de coordinación. (Fig. 9).

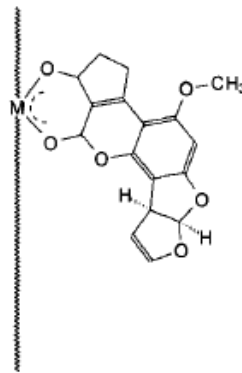


Figura 8: Estructura propuesta del complejo bentonita-AFB1, que sugiere la formación de un quelato (Phillips *et al.*, 1995).

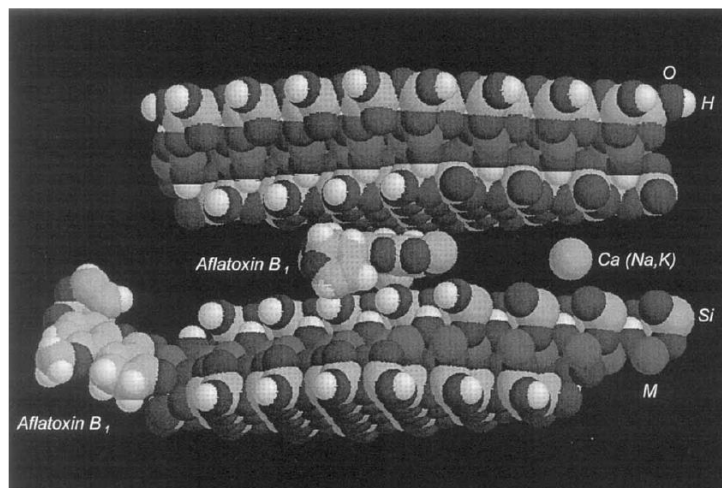


Figura 9: Modelo molecular (RasMol VZ.1B) del complejo bentonita-AFB1 propuesto. Las moléculas de aflatoxinas se acoplan en un sitio de borde y dentro del canal interlamilar en una partícula de bentonita. Los átomos constituyentes están etiquetados en el modelo (M = aluminio u otros metales) (Phillips *et al.*, 1995).

3) Se propuso que la AFB1 se une en los bordes de la montmorillonita por un doble enlace de hidrógeno (Fig. 10), y quedan la moléculas de AFB1 que no penetraron en la intercapa (Desheng et al., 2005). El método consistió en contactar 50mg con distintas cantidades de AFB1 0, 0,1; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0 o 20,0 μg y agua (pH 2,0 o 8,0) a 10 mL. El espaciado entre capas de montmorillonita (d001) no se modificó significativamente antes o después de la absorción de AFB1 y permaneció aproximadamente a 14,1 \AA , lo que sugiere que las moléculas de AFB1 pueden adsorberse en el borde pero no en la capa intermedia. Estos autores comprobaron por IR que la banda (1355 a 1403 cm^{-1}) correspondiente al enlace $-\text{OH}$ desaparece después de la adsorción de la AFB1 indicando el mecanismo de quimisorción por la formación del doble enlace de hidrogeno entre AFB1 y la montmorillonita.

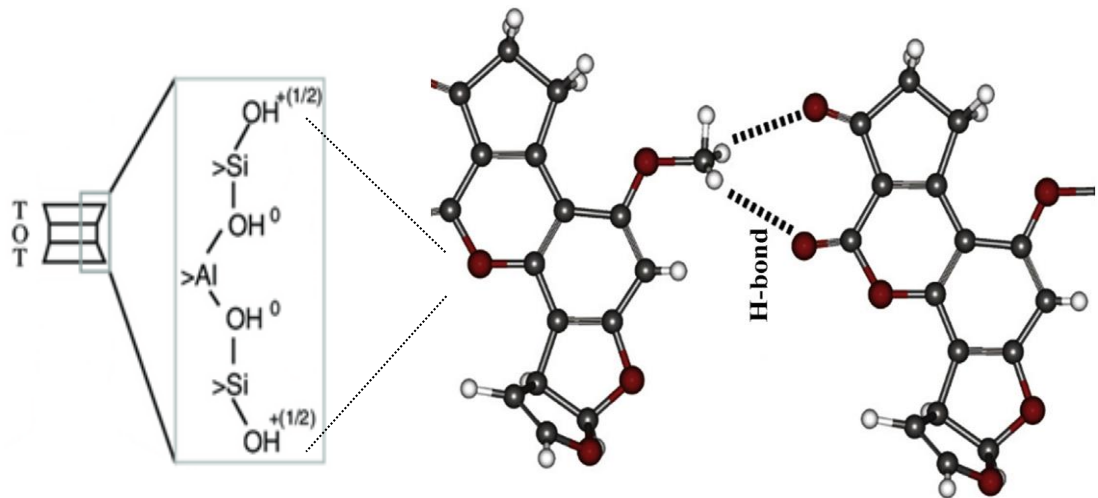


Figura 10: Doble enlaces de hidrógeno entre AFB1 y sitios de borde Mt. La imagen fue reproducida de Deng *et al.* (2010).

Por otra parte también se sugirió una unión entre AFB1 y bentonita en los anillos de furano. Otra posible unión tendría lugar entre los dos oxígenos en el anillo de cumarina de AFB1 y los cationes de la capa intermedia o sus moléculas de agua asociadas (Arvide *et al.*, 2008). En dicha experiencia se utilizó concentraciones de 0,0; 0,4; 1,6; 3,2; 4,8; 6,4 y 8,0 ppm con 0,1 mg de esmectita.

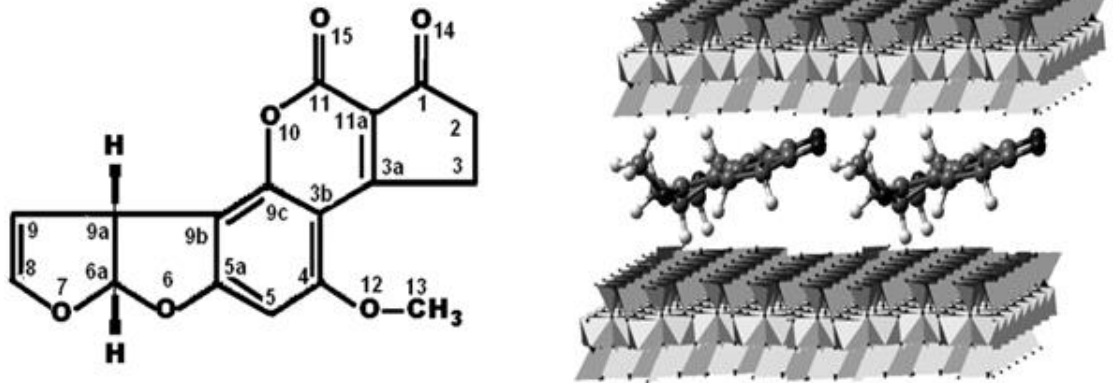



Figura 11: A la izquierda la molécula de AFB1 indicando la posición de los átomos de carbono, a la derecha, esmectita intercalada con la AFB1 (Arvide *et al.*, 2008).

- Pavao *et al.* (1995) indicaron que AFB1, un reactante electrofílico, es en gran parte una molécula plana y el anillo de dihidrofurano sobresale de este plano, de modo que C8 y C9 (Fig. 11) son susceptibles a la reacción. Debido a que la banda 1735 cm^{-1} está en la región de C-O, se sugiere una reacción entre AFB1 y esmectita por epoxidación.

- La reacción entre la esmectita y el AFB 1 aparentemente involucra grupos carbonilo y oxígenos O15 y O10 (Fig. 11) de la cumarina. El anillo de ciclopentanona y los cationes metálicos de la capa intermedia, como Ca^{2+} , Na^+ y Mg^{2+} , pueden interactuar a través de los enlaces de coordinación formados en el proceso de adsorción, es decir $\text{M} \left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \end{array} \right) \text{C}=\text{CH}_2$.

- La banda fuerte a 1735 cm^{-1} aparentemente está asociada con un anillo de lactona de seis miembros  (Coates, 2000). La prominencia de esta banda en los datos actuales plantea la cuestión de que el secuestro de AFB1 puede haber influido en el anillo de lactona y posiblemente producido un segundo anillo, y por lo tanto modificado AFB1 a AFG1. Otra posible reacción es la epoxidación de los carbonos 8 y 9. Esta reacción permite la unión de AFB1 a macromoléculas celulares como el ADN (Phillips *et al.*, 1995; Urbanek, 1997). Los átomos C8 y C9 también están involucrados en reacciones de hidroxilación (Pavao *et al.*, 1995).

Estos modelos propuestos implican tres tipos de fuerzas: interacciones electrostáticas, interacciones coordinativas e interacciones de enlaces de hidrógeno. Las tres fuerzas están estrechamente conectadas principalmente con los dos grupos carbonilo de la AFB1, y los grupos superficiales del mineral arcilloso. En general, la eficiencia de adsorción de AFB1 muestra

correlaciones positivas con el área superficial específica, las cargas negativas de la superficie y los espaciados basales de la montmorillonita.

Además, varios modelos, como Langmuir, Freundlich y Liner, fueron empleados por Wang *et al.* (2018) para explicar la adsorción de AFB1. La adsorción de AFB1 en las organobentonitas se produjo en la capa intermedia con los surfactantes, y las largas cadenas de carbono intercaladas en la capa intermedia de la bentonita funcionaron como un medio de partición. Sin embargo, las interacciones ión-dipolo también podrían tener lugar entre los cationes de los surfactantes y los grupos carbonilo de AFB1 (Fig. 12).

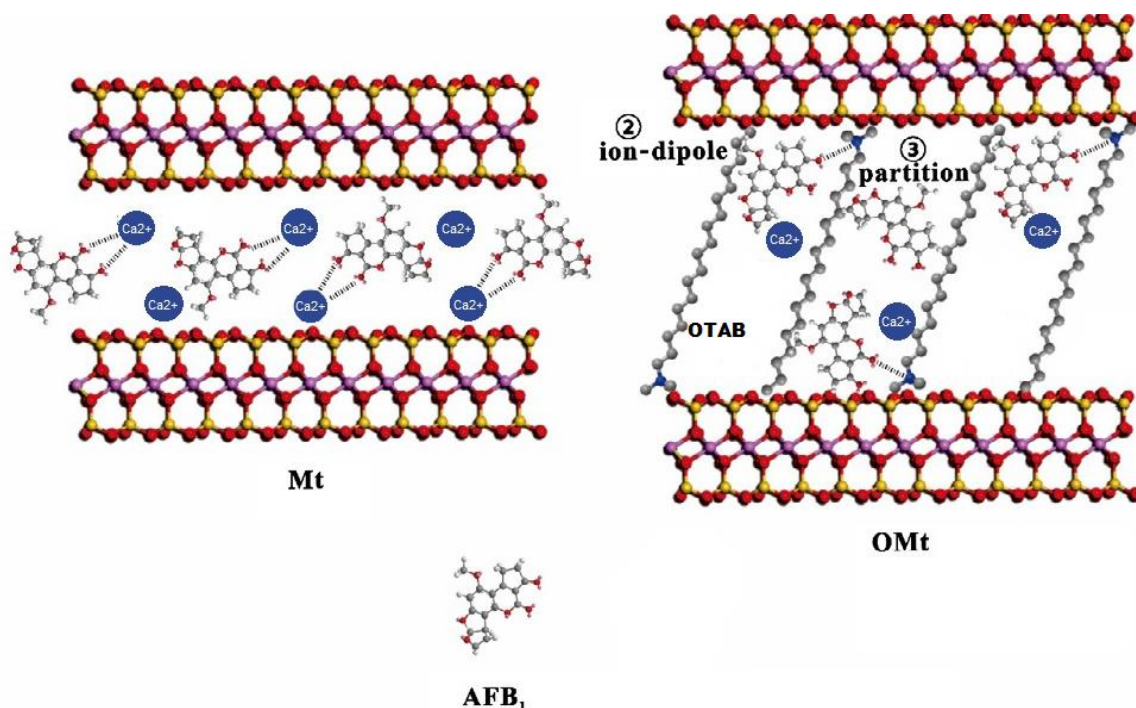


Figura 12: Representación de la unión de la AFB1 con la arcilla natural y la organobentonita modificada con OTAB (Wang *et al.*, 2018).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

Los materiales propuestos para el presente trabajo consisten en bentonitas comerciales explotadas por la empresa Minera J. Cholino e Hijos S.R.L provenientes de diferentes formaciones (Fm) y canteras de la Norpatagonia (Tabla 3). Las bentonitas BA y BC son utilizadas en las industrias del petróleo mientras que BN sólo es apta para la industria alimentaria ya que no alcanza el valor mínimo de viscosidad Fann a 600 rpm (BN 7 cP, para un valor requerido mínimo de 30 cP) y exceden el de filtrado (obtuvo 24 cm³ mientras que el máximo requerido es 15cm³) que las normas API STD 13A exigen para que una bentonita sea apta para perforación (Pignatelli, 2018). La muestra CATAE será utilizada como referencia, ya que ha sido extensamente caracterizada desde un punto de vista geológico, mineralógico, fisicoquímico, geotécnico e hidráulico por el grupo de investigación al que pertenecen las directoras del presente trabajo (Musso *et al.*, 2010; Musso *et al.*, 2013). Además, la bentonita CATAE fue modificada orgánicamente en trabajos previos con el surfactante catiónico hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) para obtener un material de naturaleza hidrofóbica con capacidad de retener contaminantes orgánicos, tales como anilina (Parolo *et al.*, 2014).

Los reactivos utilizados para la modificación de las bentonitas son:

- HDTMA (98 % pureza, SIGMA; Concentración miselar crítica 361 mg/L en agua deionizada)
- Nitrato de plata (AgNO₃).

Para ajuste de pH:

- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Ácido clorhídrico (HCl).

Tabla 3: Descripción de las muestras naturales utilizadas.

Muestra	Formación	Proveniencia
BA	Fm Allen	25 de Mayo, La Pampa
BC	Fm Allen	25 de Mayo, La Pampa
BN	Fm Cerro Bandera	Barda Negra, Neuquén
CATAE (referencia)	Fm Allen	Lago Pellegrini, Río Negro

3.2. Métodos de estudio

En la Tabla 4 se detallan los ensayos realizados a cada muestra de bentonita sobre muestra natural, fracción <math><2\mu\text{m}</math> y organobentonita.

Tabla 4: Ensayos de caracterización para las muestras de bentonitas: IR: infrarrojo, CIC: capacidad de intercambio catiónico, SE: superficie específica, IH: índice de hinchamiento, A.químico: análisis químico, DRX: difracción de Rayos X, MEB: microscopía electrónica de barrido, TGA: análisis termogravimétrico.

MUESTRA	TIPO	IR	CIC	SE	IH	A. químico	DRX	MEB	TGA
CATAE	Natural	x	x		x				
	<math><2\mu\text{m}</math>								
	Organobentonita	x					x		x
BA	Natural	x	x		x		x		
	<math><2\mu\text{m}</math>	x		x		x			
	Organobentonita	x					x		x
BC	Natural	x	x		x		x		
	<math><2\mu\text{m}</math>	x		x		x			
	Organobentonita	x					x		x
BN	Natural	x	x	x	x		x	x	
	<math><2\mu\text{m}</math>	x		x		x			
	Organobentonita	x					x		x

Fracción <math><2\mu\text{m}</math>

- Las muestras en esquirla provenientes de los diferentes yacimientos, se secaron a temperatura ambiente durante 48h. Luego se cuarteó y se separó 4 g de cada una de ellas. Serán denominadas muestra natural.
- Se molió la muestra con mortero y se pasó por un tamiz malla #200.
- Se preparó una dispersión diluida de la muestra (4g/200mL), posteriormente se procedió a la agitación mecánica (multimixer de paletas rotativas) y posteriormente se llevó la dispersión a baño ultrasónico.
- La separación se realizó centrifugando durante 6 minutos a 3600 rpm. El tiempo de centrifugación para la separación de las partículas en medio líquido usando la centrífuga Luguimac LC-25D (A2 70) fue calculado de acuerdo a la Ec. 3:

$$T = \frac{(\eta \cdot \log_{10}(\frac{R_2}{R_1}))}{[3,81 \cdot r^2 \cdot N^2 \cdot (\rho - \rho_0)]} + 2 \left(\frac{t_a + t_d}{3} \right) \quad (\text{Ec.3})$$

Dónde:

T= tiempo total (s)

t_a = tiempo de aceleración (s)

t_d = tiempo de desaceleración (s)

η = viscosidad (poises)

R_1 = distancia inicial de la partícula al eje de rotación (cm)

R_2 = distancia final de la partícula al eje de rotación (cm)

r = radio de la partícula (cm)

N= velocidad angular (RPM)

ρ = densidad de la partícula (g/cm³)

ρ_0 = densidad del líquido (g/cm³)

Se supone aceleración y desaceleración constantes.

e) Luego, se separó el sobrenadante para su concentración; realizando el procedimiento del punto d) en 3 veces, con el fin de coleccionar muestra de esta fracción para posteriores ensayos.

f) Las muestras fueron llevadas a estufa a 50°C hasta que el agua se evaporó por completo.

3.2.1. Análisis químico

Los análisis químicos fueron realizados sobre fracción <2 μ m a las muestras BN, BC y BA. Se determinaron por fluorescencia de RX los contenidos de SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃, CaO, Na₂O, K₂O y pérdida por calcinación. Con los valores obtenidos sobre la fracción <2 μ m se procedió a realizar el cálculo de fórmula estructural siguiendo a Moore y Reynolds, 1997. Para caracterizar CATAE se tomaron los datos de Musso *et al.* (2010).

Para clasificar las muestras se volcaron los porcentajes de óxidos calculados en un diagrama ternario de Al/Fe/Mg (Palin *et al.*, 2014).

Equipo utilizado: Espectrómetro Dispersivo en Energía Shimadzu, modelo EDX-800HS, con ánodo de Rh y detector de Si(Li) (Laboratorio AUZA, UNComa).

Cálculo de Fórmula estructural

En la Tabla 5 se detalla, a modo de ejemplo, el cálculo de fórmula estructural para BN siguiendo a Moore y Reynolds, 1997.

Tabla 5: Análisis químicos sobre la fracción <math><2\mu\text{m}</math>. Valores y cálculos desarrollados para la realización de la fórmula estructural según Moore y Reynolds (1997).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Óxidos	%Conc	% Correg.	PM (g)	CI	A	B	C	D
2	SiO ₂	51,767	61,198	60,085	4	15,021	3,446	14,899	3,725
3	Al ₂ O ₃	18,262	21,589	101,963	6	16,994	1,075	4,646	1,549
4	Fe ₂ O ₃	8,971	10,605	159,694	6	26,616	0,337	1,457	0,486
5	MgO	1,693	2,001	40,305	2	20,153	0,084	0,363	0,182
6	CaO	1,38	1,631	56,080	2	28,040	0,049	0,213	0,106
7	Na ₂ O	0,749	0,885	61,975	2	30,988	0,024	0,104	0,104
8	K ₂ O	0,326	0,385	94,197	2	47,098	0,007	0,030	0,030
9	TiO ₂	1,275	1,507	79,900	4	19,975	0,064	0,276	0,069
10	SO ₃	0,042	0,050	141,947	6	23,658	0,002	0,008	0,001
11	MnO	0,023	0,027	70,938	2	35,469	0,001	0,003	0,001
12	SrO	0,016	0,019	151,992	2	75,996	0,000	0,001	0,000
13	Otros	0,085	0,100				0,231	22,000	

1. Óxidos analizados.
2. % óxido.
3. % óxido base seca.
4. PM: peso molecular (g).
5. CI: carga del ion.
6. A: peso equivalente = peso de la fórmula/valencia o carga del catión en el óxido. (PM/CI).
7. B: carga / g. Equivalente (% óxido/A).
8. C: carga catión/fórmula unidad. (B/Sumatoria de todos los óxidos/22); (0,231); 22: valencia de 11 oxígenos.
9. D: Número de cationes por fórmula unidad (C/carga del catión).

3.2.2. Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC)

Para la determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se siguió el método de Cu(II) trietilentetramina según Meier and Kahr, 1999.

Procedimiento

- a) Se preparó 100 mL de la solución 0,01 M de cobre (II)-trietilentetramina di sulfato: comenzando con $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 0,01 M del ligando trietilentetramina (a partir de trietilentetramina disulfato) en agua destilada y se llevó a pH 7.
- b) Se pesó 0,025 g de la bentonita en tubos de centrifuga de 10 mL y posteriormente se agregó 5 mL de agua destilada a pH 7. Se agitaron las dispersiones y luego se mantuvo en ultrasonido (400 w / 20 KHz) durante una hora.
- c) Luego del proceso de dispersión se agregó 3 mL del reactivo cobre trietilentetramina di sulfato y se agitó durante 3 horas en agitador. Se centrifugaron las dispersiones a 8000 rpm durante 30 minutos.
- d) Se separó el sobrenadante y se registró la absorbancia a 584 nm en una cubeta de 10mm, utilizando agua como blanco.

Para la cuantificación del complejo de cobre en el sobrenadante se construyó una curva de calibración con soluciones de cobre trietilentetramina di sulfato en un intervalo de concentraciones de 0,001-0,015 M. Previamente se obtuvo el espectro UV-visible de una de las soluciones para determinar el máximo de absorción.

- e) Simultáneamente a las mediciones de CIC se determinó el peso seco de las muestras, que fueron colocadas en desecador con nitrato de magnesio y luego en estufa a 105° C hasta peso constante. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

La CIC se calculó aplicando la Ec. 4, expresando los resultados en referencia al peso seco de la muestra:

$$\text{CIC} \left(\frac{\text{mmol}}{100\text{g}} \right) = \frac{(\text{mg Cu intercambiados} \times 2 \times (100 + \% \text{humedad}))}{63.54 \times \text{masa arcilla}} \times 100 \quad (\text{Ec. 4})$$

Equipo utilizado: Espectrofotómetro UV-visible modelo T60 (PG instruments).

3.2.3. Superficie Específica Total

El procedimiento para la determinación de superficie específica total por el método EGME se realizó para bentonitas <math><2\mu\text{m}</math> según Carter *et al.* (1986).

- Se colocó aproximadamente 1g de muestra <math><2\mu\text{m}</math> a estufa a 100°C por eliminar el exceso de agua hasta peso constante.
- Se pesó 1g de cada muestra seca y se extendió sobre cajas de petri las cuales se colocaron destapadas en el desecador junto con 250g de sulfato de sodio (Na_2SO_4) como adsorbente de humedad. Se evacuó el desecador aplicando vacío, por medio de una bomba (0.250 mm de Hg), durante una hora y se deja secar a peso constante. El peso constante se alcanza en aproximadamente 6 a 7 h para grupos de cuatro a seis muestras (se dejó 24h) (Fig. 13).
- Se fueron pesando las muestras secas a distintos tiempos, tratando de minimizar la absorción de humedad.
- Luego se humedecieron las muestras con aproximadamente 3 mL de EGME (indicar que es) para formar una suspensión de arcilla y se colocaron las cajas de petri, que contienen las suspensiones, en desecador con CaCl_2. Se dejaron 30 min para que la muestra se equilibre. Se evacuó el desecador con una bomba de vacío durante unos 45 min y se dejó reposar en desecador a temperatura ambiente durante 4 a 6 horas.
- Se pesaron las cajas de petri, antes de comenzar el ensayo y después con las muestras extraídas del desecador luego de haber liberado el vacío, teniendo la precaución de que no tome contacto con la atmósfera.

Este procedimiento de pesada se realizó cada 24h hasta peso constante.

Para calcular la superficie específica se utiliza la Ec. 5 que tiene en cuenta la superficie de la molécula de EGME:

$$S = \frac{\text{masa de adsorbato} * N * A * 10^{-6}}{\text{masa bentonita} * PM} \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde S: superficie de arcilla (m^2/g), N: número de Avogadro (N° moléculas/mol), A: área de la molécula de adsorbato ($\text{mm}^2/\text{molécula}$) (agua=$0,106\text{nm}^2$, EGME=$0,552\text{nm}^2$, glicerol=$0,270\text{nm}^2$), 10^{-6} factor de conversión de nm^2 a m^2, PM: peso molecular del adsorbato (g/mol).

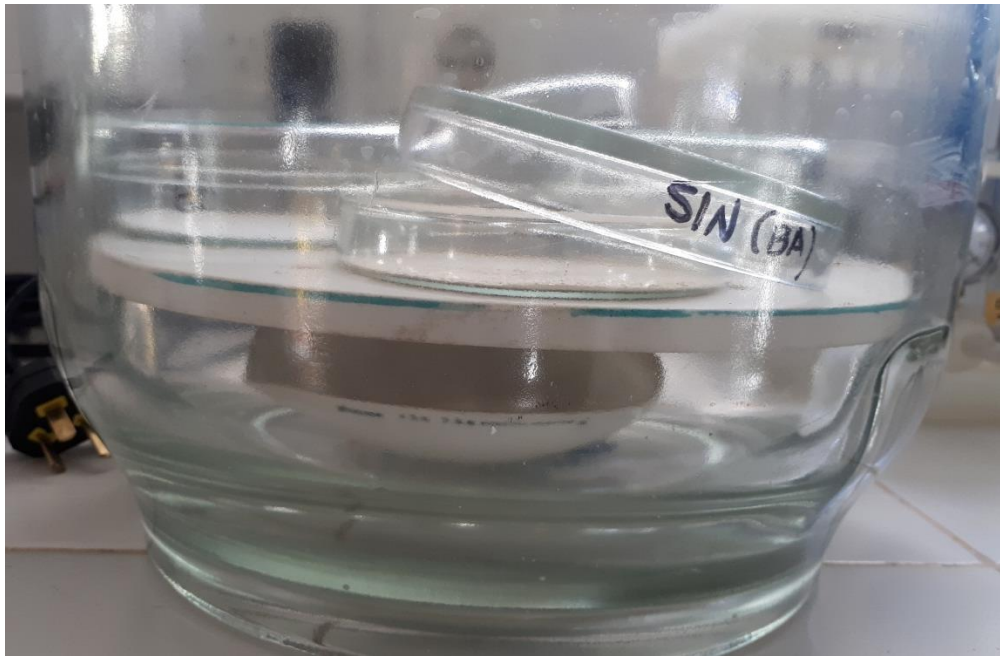


Figura 13: Muestras colocadas en desecador para el análisis de superficie específica.

3.2.4. Índice de Hinchamiento (IH)

Una de las propiedades características de las bentonitas es la capacidad de hincharse en contacto con el agua, formando masas gelatinosas. Este procedimiento se realizó para muestras de bentonitas naturales.

La determinación del hinchamiento se realizó según norma ASTM D 5890-06:

- a) Se midió 100 mL de agua destilada en una probeta.
- b) Se pesó 2 g de muestra, se tamizó (tamiz ASTM #200) y se secó en estufa a 105°C.
- c) Se espolvoreó de manera lenta y cuidadosamente la muestra, evitando que esta misma toque la probeta, hasta llegar a la totalidad de los 2 g en un lapso de 2 h aproximadamente (Fig. 14).
- d) Luego de 24 h se procedió realizar la lectura en la probeta del nuevo volumen, el cual se expresa en mL/2g.

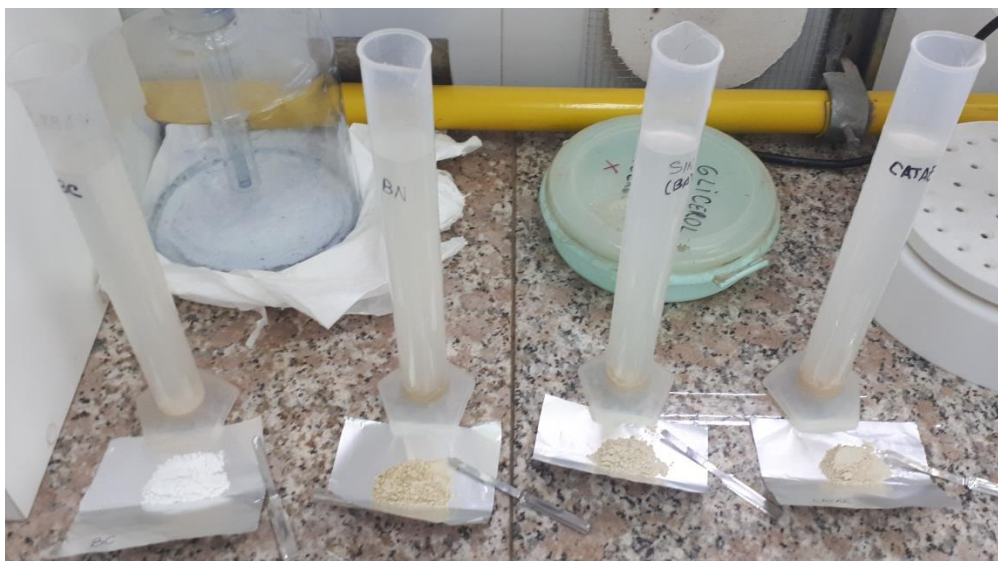


Figura 14: Preparación de muestras para el ensayo de hinchamiento.

3.2.5. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las observaciones se realizaron sobre esquirra de muestra natural (BN), previamente metalizadas con Au, siendo las condiciones de operación: 3Kv, 4Kv y 15Kv. Las microfotografías digitales fueron tomadas en magnificaciones de hasta 12.000 X. Se realizaron además mediciones con detector EDS (Espectrometría de dispersión de energía de rayos X); el espectro de radiación X emitido por un mineral en el proceso puede ser utilizado para hacer un microanálisis químico semicuantitativo mediante la dispersión de longitudes de onda característica de los elementos presentes en la muestra.

Equipo utilizado: Microscopio Electrónico de Barrido, modelo EVO LS15, original Carl Zeiss Microscopy (Laboratorio Microscopía Electrónica, UNRN).

3.2.6. Análisis mineralógico

El análisis mineralógico de las muestras de estudio se realizó por DRX sobre muestra total y fracción $<2\mu\text{m}$ de las bentonitas y las organobentonitas sintetizadas. Se siguieron procedimientos de rutina, según se propone en bibliografía (Moore y Reynolds, 1997).

- a) Total en polvo orientado al azar.
- b) Orientada de la fracción $<2\mu\text{m}$.
- c) Expandida en vapor de etilenglicol.

- d) Calcinada a 550° C durante 2 h.
- a) Total en polvo orientada al azar: se montó 2g de muestra pasante #200 sobre portamuestra de carga vertical. Los difractogramas se pasaron desde 2° 2θ hasta 60° 2θ a una velocidad angular de 3°/minuto. En estos difractogramas se identificaron las reflexiones (00l) y (hkl) características de los minerales arcillosos más abundantes y de los acompañantes.
- b) Fracción <2μm orientada: a efectos de resaltar los parámetros basales de los argilominerales, se prepararon dispersiones diluidas de muestra natural (30g/L en agua destilada), luego se aplicó agitación mecánica (multimixer de paletas rotativas), extracción por pipeteo, de la fracción <2μm a 5 cm de profundidad (Carver, 1971). Luego se procedió a montar sobre vidrio portaobjeto una delgada película que se dejó secar a temperatura ambiente. Se registraron los diagramas desde los 2° 2θ hasta los 40° 2θ.
- c) Expandida en vapor de etilen-glicol: uno de los preparados orientados de la fracción <2μm se sometió a vapores de etilen-glicol en un desecador en estufa a 40° C durante 24 h. Se realizaron difractogramas desde los 2° 2θ hasta los 40° 2θ determinándose los espaciados basales de los argilominerales expansivos.
- d) Calcinadas a 550°C: uno de los preparados orientados se somete a 550°C durante dos horas en la mufla, corriéndose los diagramas desde los 2° 2θ hasta los 15° 2θ, lo que permitió verificar si hay colapso de los minerales arcillosos expansivos.

Se realizó un análisis semicuantitativo de los componentes mineralógicos sobre muestra total siguiendo la metodología propuesta por Schultz, (1964).

Equipo utilizado: Difractómetro Rigaku DII Max C, ánodo CuK, $\lambda=1,5414 \text{ \AA}$, filtro de Ni, 40 Kv, 20 mA, velocidad de barrido 3°/minuto, goniómetro horizontal (perteneciente a CIMAR-CONICET).

3.2.7. Espectroscopia FTIR (IR)

La espectroscopia infrarroja (IR) es un método complementario a la DRX para el análisis de minerales arcillosos.

Se obtuvieron los espectros IR para las muestras de bentonitas naturales y las organobentonitas.

Se aplicó la técnica del disco prensado KBr (pastilla) para la preparación de la muestra que es la más utilizada para preparar una muestra sólida para el escaneo de los espectros en la región del IR medio (MIR).

a) Se dispersaron 3 mg de bentonita en 300 mg de KBr y se llevó a prensa hidráulica (15 tn) durante 10 minutos para posteriormente registrar los espectros en las regiones de 4000-400 cm^{-1} .

b) Tanto las muestras como el KBr utilizado en la preparación de las pastillas se colocaron en estufa a 85°C por 24h para minimizar la presencia de humedad en la pastilla.

Equipo utilizado: Espectrómetro FTIR modelo LUMEX 08.

3.2.8. Análisis térmicos diferencial/Termogravimétrico (ATD -TG)

El análisis térmico diferencial (ATD), el análisis gravimétrico térmico (TG o ATG) y su diferencial (TGD) se realizó para las organobentonitas sintetizadas. Las muestras se colocan en el equipo que proporciona una rampa de temperatura en una atmósfera de aire (ambiente oxidante) en un rango de temperatura entre 20°C y 1000°C a una velocidad de 10°/min. Se registra la pérdida de masa y el intercambio de calor de la muestra en el ambiente oxidante aplicado.

Equipo utilizado: SDT TA Q600 V20.9 Build 20, Dpto de Geología, Universidad Nacional del Sur.

3.3. Modificación de las bentonitas

La montmorillonita intercalada con Hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) se sintetizó siguiendo la metodología propuesta por Parolo *et al.* (2014). Se sintetizó la organobentonita (OB) identificada como 1.5CIC-HDTMA que corresponde a una modificación de la bentonita utilizando una cantidad de surfactante equivalente a 1,5 veces la CIC. Esta condición fue seleccionada debido a que se observó el mayor espaciado basal de la organobentonita en estas condiciones.

Se preparó las soluciones de HDTMA en agua desionizada de cada una de las muestras según la CIC que le corresponde a cada una de ellas:

- CATAE: 0,467g de HDTMA/20mL agua desionizada
- BC: 0,604g de HDTMA/20mL agua desionizada
- BN: 0,338g de HDTMA/20mL agua desionizada
- BA: 0,557g de HDTMA/20mL agua desionizada

- a) Se mantuvo con agitación a temperatura ambiente hasta dispersión total del surfactante (aprox. 3 horas).
- b) Se agregó 1g de arcilla a cada una de las soluciones de HDTMA previamente tratadas a 60°C. De esta manera, la Relación en masa agua/arcilla es 20/1.
- c) Se agitó mientras se agrega la arcilla.
- d) Se mantuvo la dispersión a 60 °C en agitación constante durante 24 horas.
- e) Se centrifugó a 3600 rpm durante 15min.
- f) Se lavó con agua deionizada varias veces (cuatro veces) hasta ensayo de Br⁻ negativo (se agregó 2 gotas de una solución AgNO₃ y se observó turbidez blanca lo que indica presencia de Br⁻).
- g) Se secó el sólido a 60°C y se molió en el mortero de ágata.

3.4. Adsorción de Aflatoxina

Se realizaron ensayos de adsorción en equilibrio tipo batch de Aflatoxina B1 sobre las muestras de bentonitas naturales y modificadas. Los ensayos se realizaron a 20°C con un dosaje de bentonita de 1g/100mL y a concentraciones variables de Aflatoxina.

- a) Las muestras de bentonita tanto naturales como las organobentonitas se hidrataron colocándolas en contacto con 1mL de buffer pH 6 durante 24h antes de realizar el ensayo, luego se centrifugaron según especificaciones y se descartó el sobrenadante.
- b) A los pellets que quedaron de la centrifugación se le agregó 1mL de solución buffer a pH 6 y las diferentes concentraciones de Aflatoxina B1 seleccionadas para los ensayos de adsorción 0,20µg/L, 0,5 µg/L y 1 µg/L (de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).
- c) El contacto se realizó durante 2h con agitación constante a 37°C. Este tiempo de contacto es suficiente para alcanzar el equilibrio (Magnoli *et al.*, 2013).
- d) Luego del contacto se centrifugó durante 15 min a 16,000g y el sobrenadante se trasvasó cuidadosamente en un tubo limpio (hasta sobrenadante limpio).
- e) Se determinó la cantidad de micotoxina presente en el sobrenadante y por diferencia se determinó la cantidad adsorbida por la bentonita por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) (Waters e2695; Waters, Milford, MA) y un detector de fluorescencia de acuerdo a la metodología propuesta por Trucksess *et al.* (1994). La longitud de onda de excitación y emisión fue de 305–395 y 430 –470 nm respectivamente. Una columna C18

Luna Phenomenex (150 mm x 4,6 mm, 5µm; Phenomenex Inc., Torrance, CA) con precolumn. Fase móvil metanol/acetonitrilo/agua (1:1:4 v/v/v) a un flujo de 1,5 mL/min. Para la derivación, se mezclaron alícuotas (200 µL) con 700 µL de solución de ácido acético-ácido trifluoroacético-agua (20:10:70), se dejó reposar durante 9 min a 65°C en la oscuridad (AOAC 1994). El límite de detección fue de 0,001 µg mL⁻¹.

f) La capacidad de adsorción de AFB1 (Γ_{AFB1}) en moles de AFB1 / kg de adsorbente se determinó según la Ec. 6 (Magnoli *et al.*, 2013):

$$\Gamma_{AFB1} = \frac{([AFB1_0] - [AFB1_{eq}]) \times V}{m} \quad (\text{Ec. 6})$$

donde [AFB1]₀ y [AFB1]_{eq} son las concentraciones iniciales y de equilibrio (mol/L), respectivamente, V es el volumen de solución (L) y “m” es la cantidad de adsorbente (kg).

g) Los experimentos de adsorción en cada concentración de toxina se realizaron por duplicado.

*Nota: Este ensayo no pudo realizarse según lo previsto teniendo como variable diferentes concentraciones de la micotoxina debido a dificultades presupuestarias coyunturales. La opción seleccionada fue realizar un ensayo de adsorción de AFB1 según protocolo utilizado en la industria alimentaria animal (European Food Safety Authority (EFSA)).

Equipo utilizado: HPLC (Waters e2695; Waters, Milford, MA) con detector de fluorescencia. Dpto Microbiología, Universidad Nacional de Río Cuarto.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La realización de los distintos métodos, tanto de caracterización de las muestras CATAE, BN, BC y BA naturales, como las organobentonitas, y la adsorción de AFB1 de las mismas arrojaron los resultados que se muestran a continuación.

4.1 Análisis químico

Los resultados de análisis químicos sobre la fracción arcilla de las muestras seleccionadas se muestran en la Tabla 6, las cuales dieron un promedio de %SiO₂ = 63,91, %Al₂O₃ = 22,94, %CaO = 1,25, %Na₂O = 1,21, %MgO = 3,88, %K₂O = 0,29 y %Fe₂O₃ = 5,63. En comparación con muestras de bentonita CATAE (Lago Pellegrini) los rangos de los óxidos son en general cercanos a este tipo. En lo que respecta a las diferencias entre ellas se observó que: BN tiene mayor contenido de hierro, calcio y potasio, BA es la de más alto porcentaje de Na₂O, y BC en MgO.

Tabla 6: Resultado de análisis químico sobre muestra fracción <2μm. *Bentonita de referencia: CATAE homoionizada con calcio (Musso *et al.*, 2010).

Oxido	*CATAE<2μm		BN < 2μm		BC <2μm		BA <2μm	
	%oxido	%correg.	%oxido	%correg.	%oxido	% correg.	%oxido	%correg.
PPC	-	-	15,410	-	18,050	-	16,050	-
SiO ₂	51,90	64,653	51,767	61,198	55,583	67,825	52,651	62,717
Al ₂ O ₃	17,98	22,398	18,262	21,589	18,201	22,210	21,007	25,023
Fe ₂ O ₃	4,73	5,892	8,971	10,605	1,026	1,252	4,219	5,026
CaO	2,39	2,977	1,380	1,631	1,145	1,397	0,607	0,723
Na ₂ O	0,03	0,037	0,749	0,885	0,868	1,059	1,415	1,686
SO ₃	-	-	0,042	0,050	0,069	0,084	0,083	0,099
TiO ₂	0,44	0,548	1,275	1,507	0,211	0,257	0,562	0,669
Cl	-	-	-	-	-	-	-	-
MgO	2,55	3,177	1,693	2,001	4,794	5,850	3,181	3,789
K ₂ O	0,14	0,174	0,326	0,385	-	-	0,158	0,188
SrO	-	-	0,016	0,019	0,012	0,015	0,007	0,008
V ₂ O ₅	-	-	0,036	0,043	0,016	0,020	0,041	0,049
MnO	0,02	0,025	0,023	0,027	0,016	0,020	-	-
CuO	-	-	0,018	0,021	-	-	-	-
ZrO ₂	-	-	0,016	0,019	0,010	0,012	0,019	0,023
ZnO	-	-	0,015	0,018	-	-	-	-
P ₂ O ₅	0,036	0,045	-	-	-	-	-	-
Cr ₂ O ₃	0,003	0,004	-	-	-	-	-	-

La obtención de la fórmula estructural nos permitió analizar las sustituciones en las hojas octaédricas y tetraédricas y mientras que los contenidos de los cationes de la intercapa determinan las propiedades fisicoquímicas de las bentonitas. En la Tabla 7 se detallan las fórmulas estructurales:

Tabla 7: Formula estructural de las muestras CATAE, BN, BC, BA. Comparación con montmorillonita y beidelita ideal.
*CATAE homoionizada con calcio.

MUESTRA	FORMULA ESTRUCTURAL (media celda unidad)
*CATAE (Musso <i>et al.</i> , 2010)	$(Ca_{0,19}, Na_{0,0045}, K_{0,013}) ((Si_{3,853}, Al_{0,147}) (Al_{1,426}, Fe^{3+}_{0,264}, Mg_{0,282}, Ti_{0,024}) O_{10} (OH)_2)$
BN	$(Ca_{0,106}, Na_{0,104}, K_{0,03}) ((Si_{3,725}, Al_{0,275}) (Al_{1,274}, Fe^{3+}_{0,486}, Mg_{0,182}, Ti_{0,069}) O_{10} (OH)_2)$
BC	$(Ca_{0,088}, Na_{0,120}, K_0) ((Si_{3,967}, Al_{0,033}) (Al_{1,498}, Fe^{3+}_{0,055}, Mg_{0,510}, Ti_{0,011}) O_{10} (OH)_2)$
BA	$(Ca_{0,046}, Na_{0,195}, K_{0,014}) ((Si_{3,736}, Al_{0,264}) (Al_{1,493}, Fe^{3+}_{0,225}, Mg_{0,336}, Ti_{0,030}) O_{10} (OH)_2)$
Montmorillonita Ideal (Newman, 1987)	$(K, Na, Ca)_{0,35-0,49} (Si)_{3,98-3,82} (Al)_{0,015-0,175} (Al)_{1,66-1,25} (Mg^{2+}Fe^{3+}Fe^{2+}Ti)_{0,37-0,75} O_{10}(OH)_2)$
Beidelita (Newman, 1987)	$(Ca, Na, K)_{0,36-0,45} ((Si_{3,75-3,45}, Al_{0,25-0,55})(Al_{1,98-1,75}, Fe^{3+}, Mg_0, Ti_0)O_{10}(OH)_2)$

En la fórmula estructural el primer paréntesis representa los cationes de intercambio, el segundo la hoja tetraédrica y el tercero la hoja octaédrica. Si comparamos las muestras BN, BC y BA se observó que:

- En las tres muestras el catión predominante es el Na^+ , siendo BN ligeramente cálcica mientras que BC y BA son bentonitas sódicas.
- En la hoja tetraédrica de BN $-Si_{3,725}, Al_{0,275}-$ y BA $-Si_{3,736}, Al_{0,264}-$ hay mayor sustitución isomórfica Al/Si a diferencia de BC $-Si_{3,967}, Al_{0,033}-$ que se comporta como montmorillonita ideal (Fig. 15).
- En la hoja octaédrica, la sustitución isomórfica Fe/Al en BN es $Fe_{0,486}/Al_{1,274}$ en tanto que para BC $Al_{1,498}, Fe^{3+}_{0,055}$ y BA $Al_{1,493}, Fe^{3+}_{0,225}$ lo que indicaría que BN es una montmorillonita férrica. BN, BC, y BA por la carga octaédrica se consideran montmorillonitas.

Los resultados aquí obtenidos permiten afirmar que las muestras analizadas BN, BC y BA se corresponden con la fórmula ideal de la montmorillonita. Entre ambos extremos hay minerales de composición intermedia, se deben considerar montmorillonita los que más de la mitad de la carga se

origina en el sitio octaédrico y beidelita aquellas que predominan en la tetraédrica. La mayoría de las esmectitas dioctaédricas naturales tienen composiciones entre las de montmorillonita y beidelita porque los miembros finales puros son extremadamente raros.

Además con estos resultados se determinaron los porcentajes de sustitución $\text{Al}^{3+}/\text{Si}^{4+}$, $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ y el Fe octaédrico (Tabla 8), allí vemos que CATAE, BC y BA presentan valores en los rangos dados para una montmorillonita tipo Wyoming. Mientras que BN lo es respecto a una montmorillonita no ideal rica en hierro de referencia internacional.

Tabla 8: Porcentajes de sustituciones $\text{Al}^{3+}/\text{Si}^{4+}$ y $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ y hierro octaédrico para las muestras estudiadas y su comparación con Wyoming (Schultz, 1969) y con una montmorillonita férrica (Brigatti y Poppi, 1981).

Tipo	CATAE	BN	BC	BA	Wyoming	Montmorillonita no ideal rica en Fe
Sustitución $\text{Al}^{3+}/\text{Si}^{4+}$ (%)	3,67	6,87	0,82	6,60	4	-
Sustitución $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ (%)	14,12	9,05	24,59	16,12	-	-
Fe octaédrico (%)	13,22	24,17	2,65	10,8	4-12	15-31

Como complemento a este análisis se volcaron los valores de las composiciones catiónicas de la capa octaédrica a un diagrama de fase ternaria en el que se determinan campos para illita y esmectita (según Güven 1988), donde Bi = beidellitas; Fe-Bi = beidellitas ricas en Fe; M, I = montmorillonitas, illitas; Fe-M = montmorillonitas ricas en Fe; C = celadonitas; Nt = nontronitas (Palin *et al.*, 2014) (Fig. 15). Allí se observó que estas muestras de este trabajo BC y BA son montmorillonitas típicas al igual que CATAE, mientras que BN se puede definir como montmorillonita férrica, en coincidencia con lo determinado por difracción de DRX que se analizará en la sección 4.6. Es importante aclarar que si bien en el diagrama ternario (Fig. 15) en el mismo campo se encuentran representadas además esmectitas e illita, para las muestras BA, BC y CATAE se descartó la presencia de este último mineral analizando los difractogramas donde se constató la ausencia de las reflexiones basales $d_{001}=10\text{\AA}$, $d_{002}=5\text{\AA}$, $d_{003}=3.3\text{\AA}$ (4.6.2 Fig. 19). Se verificó en el mismo sentido para la muestra BN.

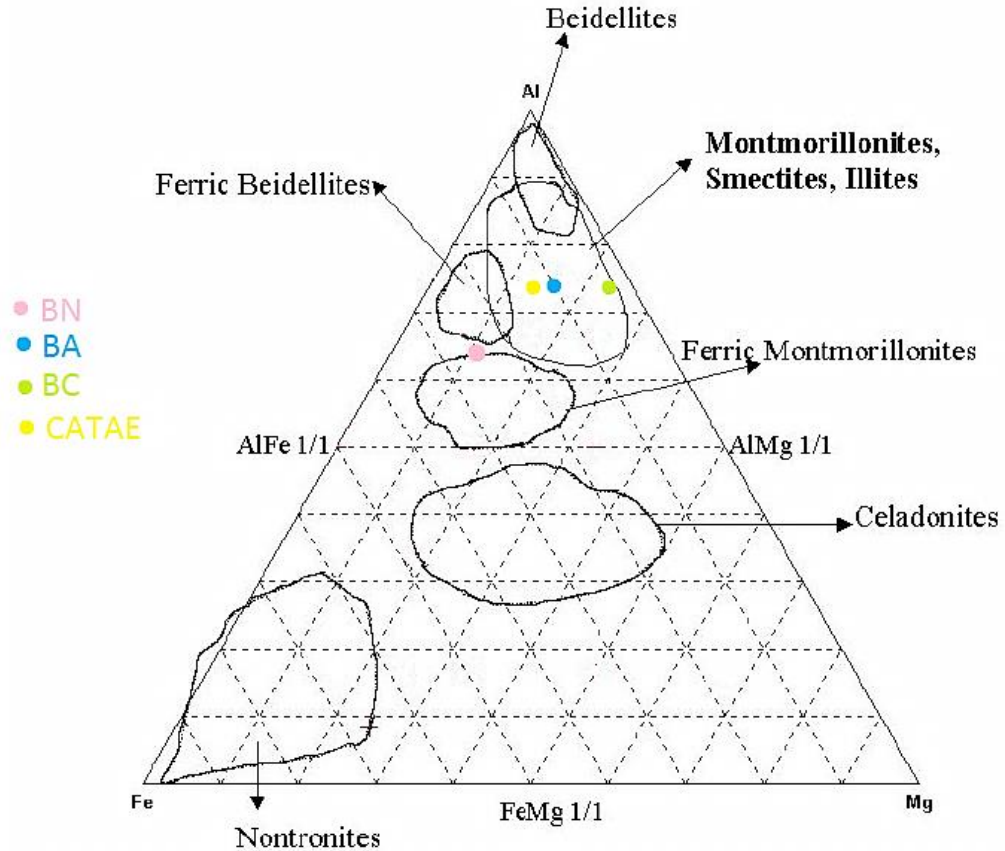


Figura 15: Diagrama Al-Fe-Mg para la fracción $<2\mu$ (Palin *et al.*, 2014).

4.2 Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC)

Las reacciones que ocurren en el espacio interlamilar son de gran importancia y están relacionadas con los cationes que se encuentran en dicho sitio. Estos cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) se encuentran hidratados y son intercambiables (MacEwan y Wilson, 1980; Suquet y Pezerat, 1987).

Para las montmorillonitas, la interacción entre las capas y el catión de intercambio es débil. En este caso, se produce la intercalación de agua, el hinchamiento y la separación de las capas. Esto ocurre porque la carga estructural en las montmorillonitas reside principalmente en la hoja octaédrica.

Este ensayo nos brinda información acerca de la capacidad de las esmectitas de adsorber dichas especies catiónicas de la solución, expresado en miliequivalente de carga positiva por cien gramos de mineral arcilloso (meq/100g).

En la Tabla 9 se muestran los valores de la capacidad de intercambio catiónico de CATAE, BN, BC y BA sobre muestra total, las cuales dieron entre un 62,41 y un 110,62 meq/100g de peso

seco, siendo el valor más bajo para la muestra BN y el más alto para la muestra BC. Los ensayos se realizaron por duplicado y se promediaron los valores finales.

Tabla 9: Valores de capacidad de intercambio catiónico de muestras totales CATAE, BN, BC, BA.

Muestras por duplicado	CIC meq/100g	CIC/100 g peso seco promedio
CATAE (Musso <i>et al.</i> , 2011)	94,87	
CATAE A	80,82	88,11
CATAE B	77,69	
BN A	57,46	62,41
BN B	62,44	
BC A	98,21	110,62
BC B	100,61	
BA A	92,83	101,72
BA B	93,50	

Los altos valores de CIC se corresponden con los de referencia bibliográfica para montmorillonita que se encuentran entre los 70-120 meq/100g (Grim, 1968; Weiss, 1958). Estos minerales arcillosos tienen la capacidad de retener los cationes intercambiables no sólo en su superficie sino también inter e intralaminarmente. Esto altos valores de CIC hace adecuadas a este tipo de bentonitas, a priori, para su uso como adsorbentes de contaminantes, actual finalidad de este trabajo.

Para la muestra CATAE el porcentaje de los cationes de intercambio que se encuentran: 76,4 % de sodio, 12,4% de calcio, 10,9% de magnesio y 0,3% de potasio (Musso, *et al.*, 2010).

4.3 Superficie Específica Total (EGME)

Se determinó la superficie específica total de las muestras BC y BA y BN sobre fracción <2µm y BN total y se comparó con CATAE cuyo valor se extrajo de Musso *et al.* (2009). Los datos se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Resultados de la determinación de superficie específica de las muestras. *Dato del área de superficie específica obtenido de Musso *et al.* (2009).

Muestra	Área de superficie específica (m ² /g)
*CATAE <2µm	754,50
BN <2µm	605,18
BN total	427,91
BC <2µm	506,19
BA <2 µm	552,40

Para las muestras BN, BC y BA los valores se encontraron dentro del rango de 427,91 m²/g a 605,18 m²/g correspondiendo el de mayor valor a la bentonita denominada BN. Sin embargo, se notó un aumento del área para la fracción <2µm en la muestra BN.

Estos valores fueron altos y similares a los esperados para las montmorillonitas (10-800 m²/g) y en comparación con los otros minerales de arcilla, como la Illita (50-100 m²/g) y la Caolinita (10-20 m²/g) tienen rangos más elevados (dependiendo de la participación de las superficies internas; el valor más bajo representa el área de superficie específica externa) (Bergaya *et al.*, 2006). El área de superficie de la muestra de referencia, CATAE, fue el más alto con un valor de 755 m²/g.

El tamaño de los cationes intercambiables influyen en las características fisicoquímicas de las arcillas y la determinación del área de superficie específica no es una excepción. Las esmectitas naturales que contienen sodio como ion intercambiable predominante tienen el tamaño de cristal efectivo más pequeño y el área de superficie más grande en los sistemas agua-arcilla porque su tamaño de cristal natural tiende a ser pequeño y la presión de hinchamiento tiende a romper los cristales entrelazados (Odom, 1984).

4.4 Índice de hinchamiento

En la Tabla 11 se indican los valores de hinchamiento de las bentonitas naturales expresados en mL/2g y en la Fig. 16 se muestra una foto de la experiencia.

Tabla 11: Datos de hinchamiento de las muestras totales

Muestra	Hinchamiento (mL/2g)
CATAE	28
BN	18,5
BC	17
BA	20

La absorción de agua en el espacio interlaminar tiene como consecuencia la separación de las láminas dando lugar al hinchamiento. Este proceso depende del balance entre la atracción electrostática catión-lámina y la energía de hidratación del catión. A medida que se intercalan capas de agua y la separación entre las láminas aumenta, las fuerzas que predominan son de repulsión electrostática entre láminas, lo que contribuye a que el proceso de hinchamiento pueda llegar a

disociar completamente unas láminas de otras. La presencia de cationes mono o divalentes produce marcada diferencia en las cantidades de agua adsorbida, y por lo tanto, en la expansión entre láminas. Cuando el catión interlamilar predominante es el Na^+ (muestra CATAE y BA), las esmectitas tienen una gran capacidad de hinchamiento, pudiendo llegar a producirse la completa disociación de cristales individuales de esmectita, teniendo como resultado un alto grado de dispersión y un máximo desarrollo de propiedades coloidales. Si por el contrario, tienen Ca^{2+} o Mg^{2+} como cationes de intercambio mayoritario (muestra BC y BN) su capacidad de hinchamiento será mucho más reducida (Odom, 1984).

Los principales factores que afectan la hidratación de intercapa de las esmectitas son la energía de hidratación del catión, la polarización de las moléculas de agua próximas al catión, variaciones en el potencial electrostático superficial y localización de las sustituciones isomórficas en las capas del mineral (Brigatti *et al.*, 2006).

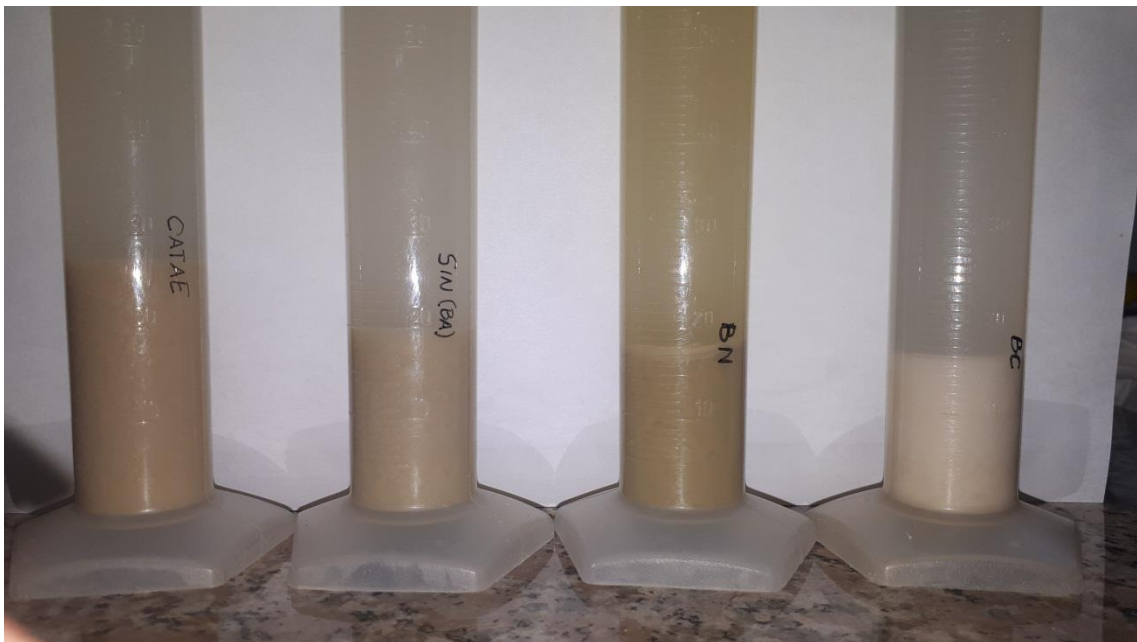


Figura 16: Resultado del análisis de hinchamiento de las bentonitas naturales CATAE, BA, BN y BC.

Los resultados obtenidos mostraron altos valores de capacidad de intercambio catiónico, superficie específica y capacidad de hinchamiento. Este comportamiento es característico de una montmorillonita y estos valores variaron en función del tipo de cationes que se encuentran en la intercapa.

4.5 Microscopía electrónica de barrido

Se realizaron observaciones sobre esquirra de muestra natural BN, el aspecto general es de tipo compacto. La microscopia electrónica de barrido permitió observar que las partículas del argilomineral tiene un tamaño promedio de 2 micrones, sus bordes son crenulados y se disponen de forma cara-borde dando un aspecto “panal de abejas” (Fig. 17). En menor proporción se reconocieron con disposición cara-cara. Las asociaciones de partículas constituyen dominios floculados.

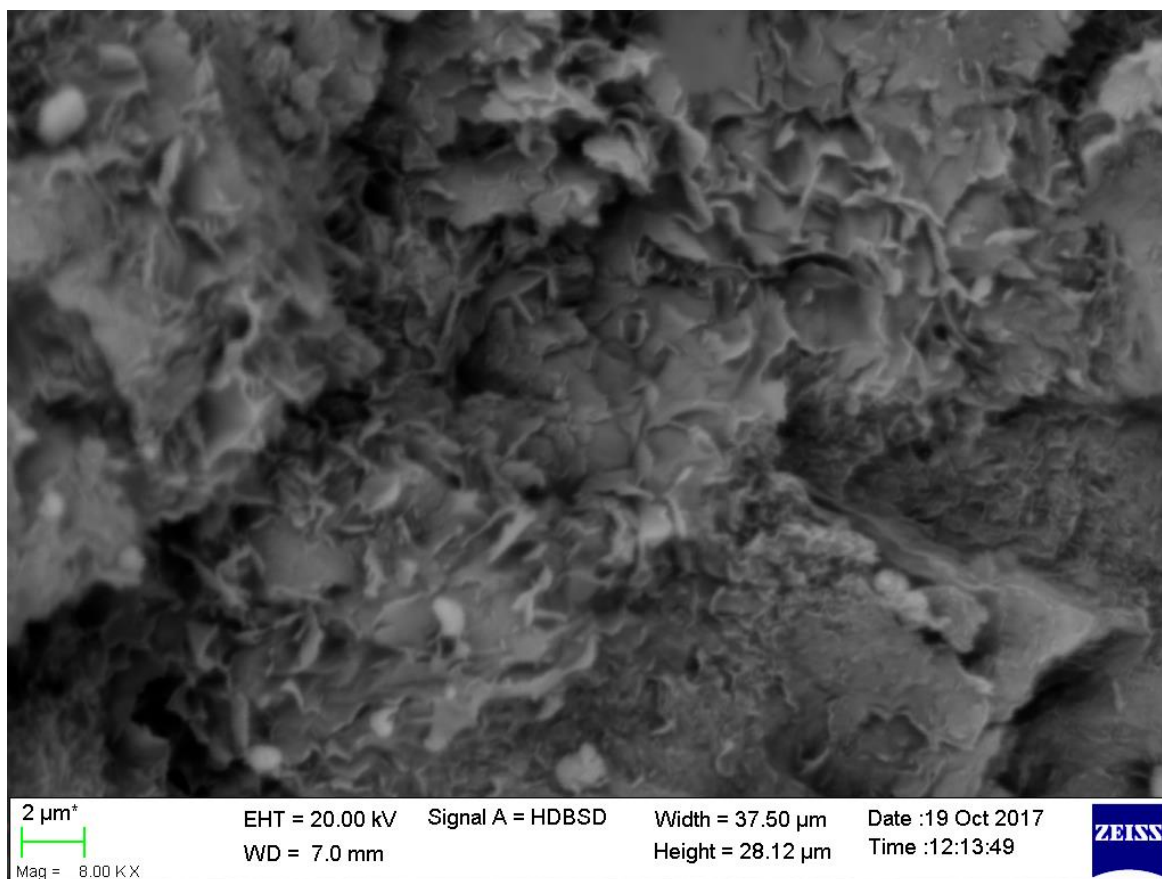


Figura 17: Microscopía electrónica de barrido de la muestra BN.

4.6 Análisis mineralógico

4.6.1 Mineralogía sobre muestra total

La composición mineralógica de las bentonitas naturales analizadas tienen como principal componente una esmectita (82-94%) y como minerales acompañantes se determinaron: cristobalita, feldespatos, cuarzo, calcita, yeso y ceolita. En la Tabla 12 se comparó con la referencia (CATAE), donde se observó que el cuarzo se encuentra presente en todas las muestras y BN es la que tiene mayor proporción de minerales acompañantes.

Tabla 12: Resultados de la semicuantificación sobre muestra total. * Musso *et al.* (2010).

Muestras	Composición mineralógica						
	Mineral arcilloso (%)	Cristobalita	Feldespatos	Cuarzo	Calcita	Yeso	Ceolita
CATAE*	90	-	0,5-1	2±0,5	0,4	-	3-4
BN	82	7	7	3	-	1	-
BC	89	9	-	1	1	-	-
BA	94	-	1	2	-	3	-

En la Fig. 18 se muestran los difractogramas que permiten visualizar las reflexiones diagnósticas de los distintos minerales discriminados en la Tabla 12.

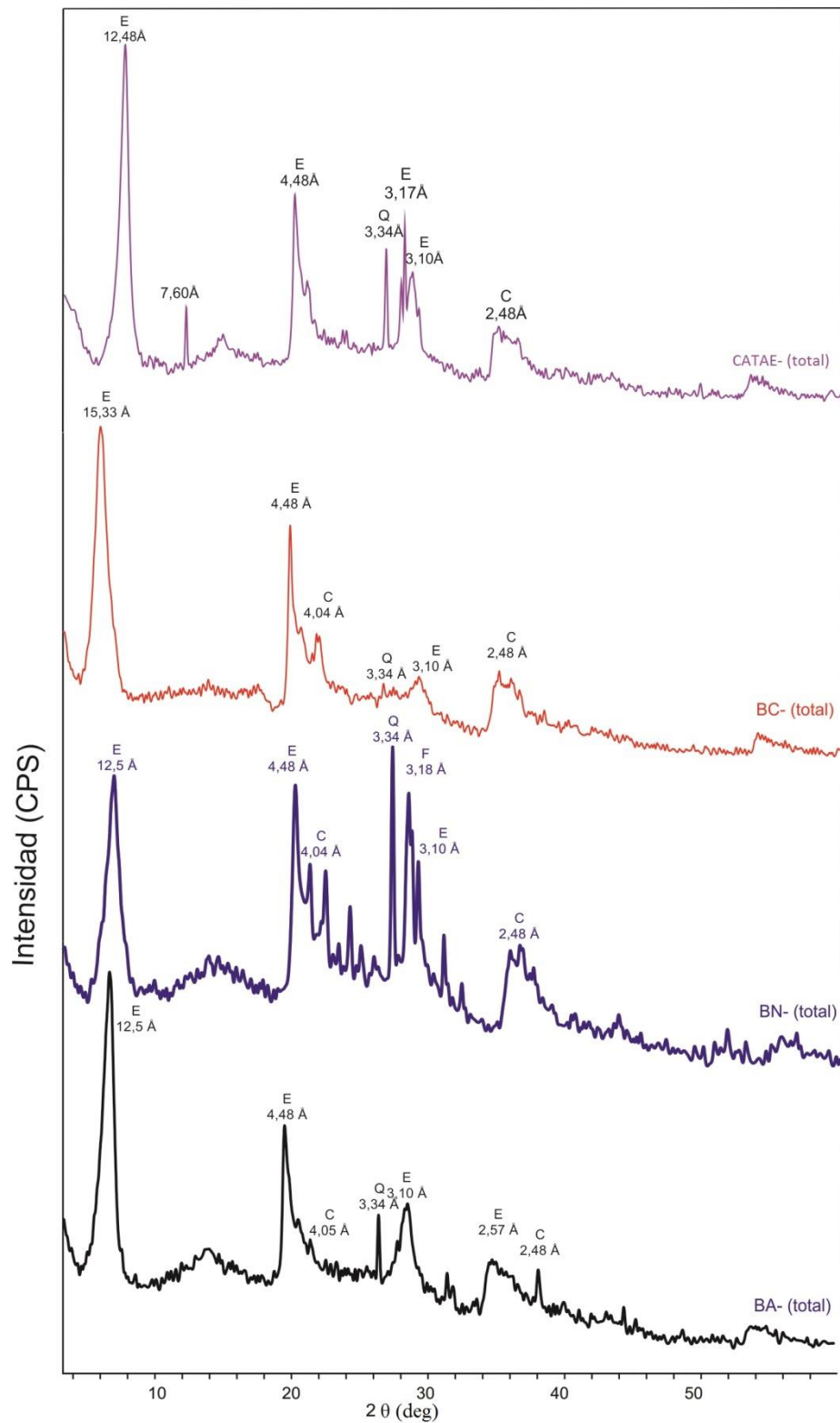


Figura 18: Diagrama de rayos X de muestras totales. E: Esmeclita; C: Cristobalita; Q: Cuarzo; F: Feldespato; Y: Yeso.

4.6.2 Mineralogía de la fracción <2 μ m

En esta fracción se determinó a partir de la reflexión d_{001} , un espaciado basal de 12,40 Å para la muestra BC y 12,51 Å para la muestra BA, valores característicos de una montmorillonita sódica (Fig. 19).

Las reflexiones (001) son simétricas y agudas, mostrando el difractograma un patrón de racionalidad, a modo de ejemplo para la muestra BN, la reflexión (001) el valor de espaciado basal es 12,44 Å, siendo el resto de los órdenes: a $d_{002}=6,21$ Å, a $d_{003}=4,15$ Å y $d_{004}=3,11$ Å y $d_{006}=2,07$ Å. Además, se observó que la reflexión (002) tiene mayor intensidad que la (003), esto está asociado a mayor presencia de Fe en los sitios octaédricos para la muestra BN (Moore y Reynolds, 1997).

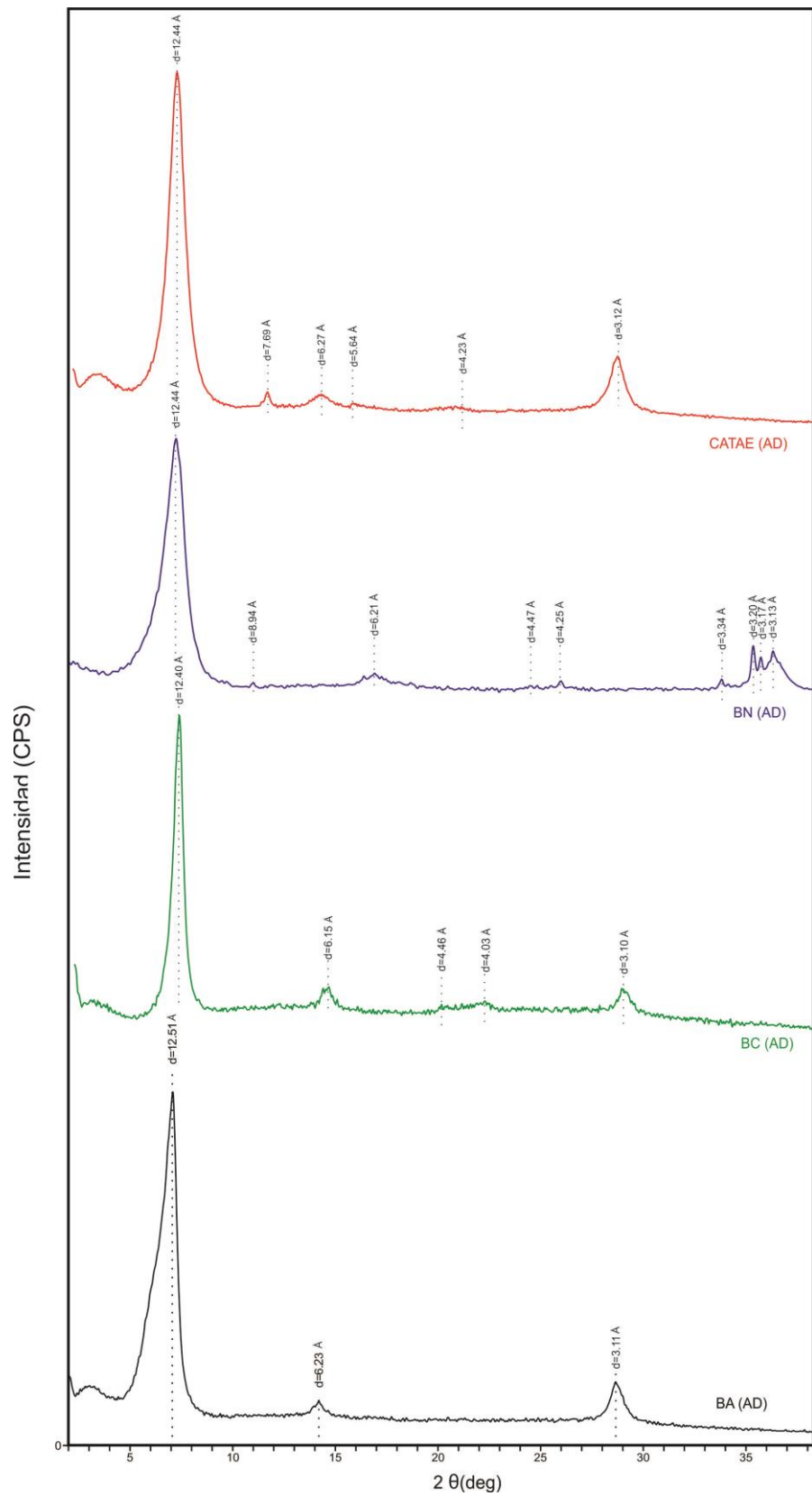


Figura 19: Difractogramas de la fracción $<2\mu\text{m}$ en estado seco al aire: CATAE, BN, BC y BA.

4.6.3 Mineralogía de las organobentonitas

Las reflexiones observadas en los difractogramas de las organobentonitas sufrieron un marcado corrimiento hacia menores ángulos respecto de las bentonitas naturales (Fig. 20). En todas las muestras analizadas el aumento del espaciado basal (Tabla 13) respecto de las muestras no tratadas indica que el surfactante se encuentra en la intercapa.

Tabla 13: Espaciamiento basal (\AA) de las muestras CATAE, BN, BC y BA $<2\mu\text{m}$ y organobentonitas.

Muestra	$d(001) \text{\AA}$	
CATAE	12,44	
CATAE OB	20,72	
BN	12,44	
BN OB	21,03	
BC	12,40	
BC OB	19,36	37,40
BA	12,51	
BA OB	19,53	35,87

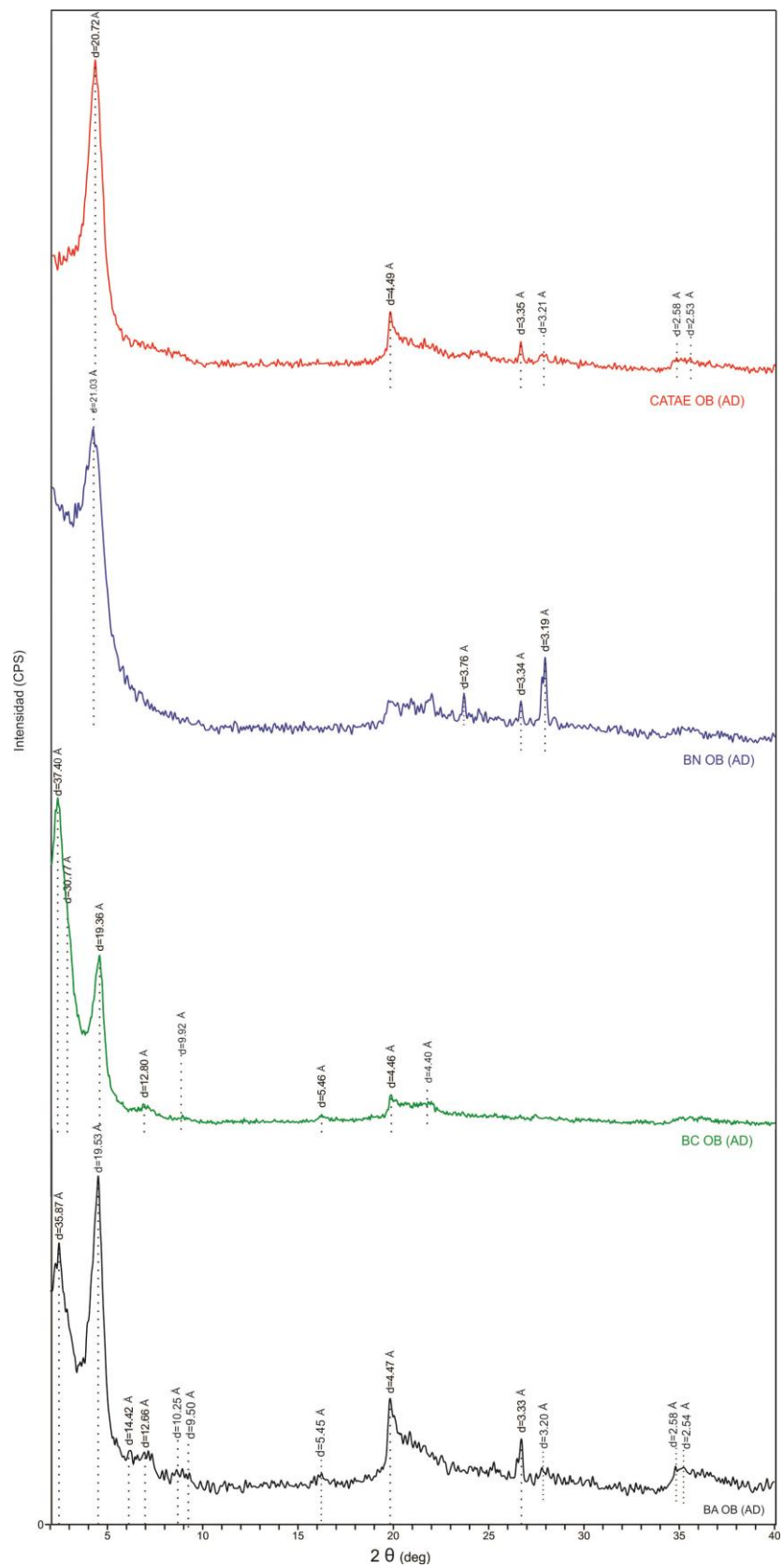


Figura 20: Diagrama de rayos X de las muestras modificadas con HDTMA.

Para analizar los diagramas de las organobentonitas es importante tener en cuenta la forma y tamaño del surfactante utilizado -HDTMA⁺- en la modificación. El HDTMA⁺ presenta una cadena lineal de 16 C y un centro polar que corresponde al catión de amonio cuaternario. La cadena alquílica larga es de 21 Å de longitud y el extremo de la cadena que sostiene tres metilos es de 5,1 y el otro extremo correspondiente al final de la cadena es de 4,1 Å (Fig. 21).

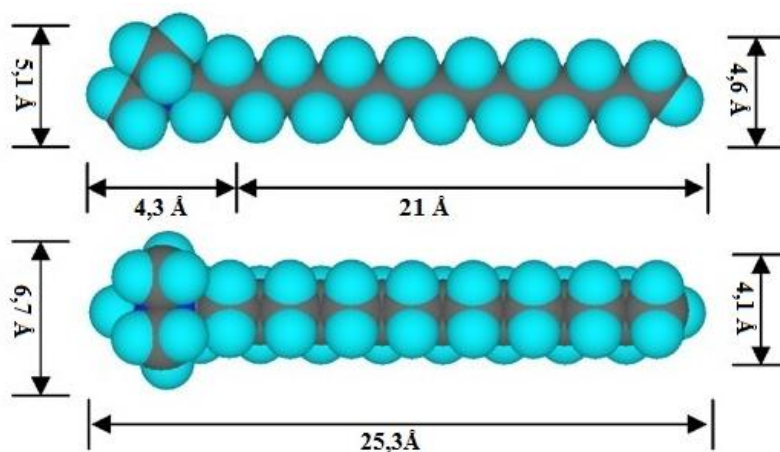


Figura 21: Estructura y dimensión del catión surfactante HDTMA⁺ (Zhu *et al.*, 2008).

Zhu *et al.* (2003) propusieron que el aumento del espaciado está relacionado a la cantidad de surfactante y a la disposición del HDTMA⁺ en el espacio intercapa. Por ejemplo, el espaciado basal obtenido para organobentonitas que se encuentra en 14 Å y en 17 Å (Fig. 22 a y b) corresponde a cuando la cadena se encuentra dispuesta con su mayor eje paralelo al espaciado basal, como monocapa y bicapa, respectivamente.

Del análisis de los difractogramas (Fig. 20) se observa que en CATAE OB la reflexión de primer orden de aspecto simétrico, con un $d_{001} = 20,71 \text{ Å}$ y responde a una -pseudo tricapa- (Fig. 22d). La muestra BN con $d_{001} = 21,03 \text{ Å}$ presenta asimetría hacia los bajos ángulos indicando un arreglo más desordenado del surfactante en el espacio de intercapa.

Por otra parte, en las muestras BA OB y BC OB se produjo un desdoblamiento de las difracciones (001) hacia los bajos ángulos con formas asimétricas en 19,53 Å y el segundo hasta 37,4 Å lo que puede explicarse con un modelo intermedio del tipo parafina monocapa y parafina bicapa, respectivamente.

Asimismo, He *et al.* (2005) realizaron un modelado para la intercalación de HDTMA en montmorillonitas y propuso interpretaciones similares a los mencionados previamente, aunque indica que tras contrastar los DRX reales con los modelados es difícil asegurar los tipos de arreglos moleculares en la intercapa cuando el espaciado es mayor $d=20 \text{ \AA}$, ya que existen posibles arreglos intermedios también denominados de transición que presentan espaciados de intercapa variables.

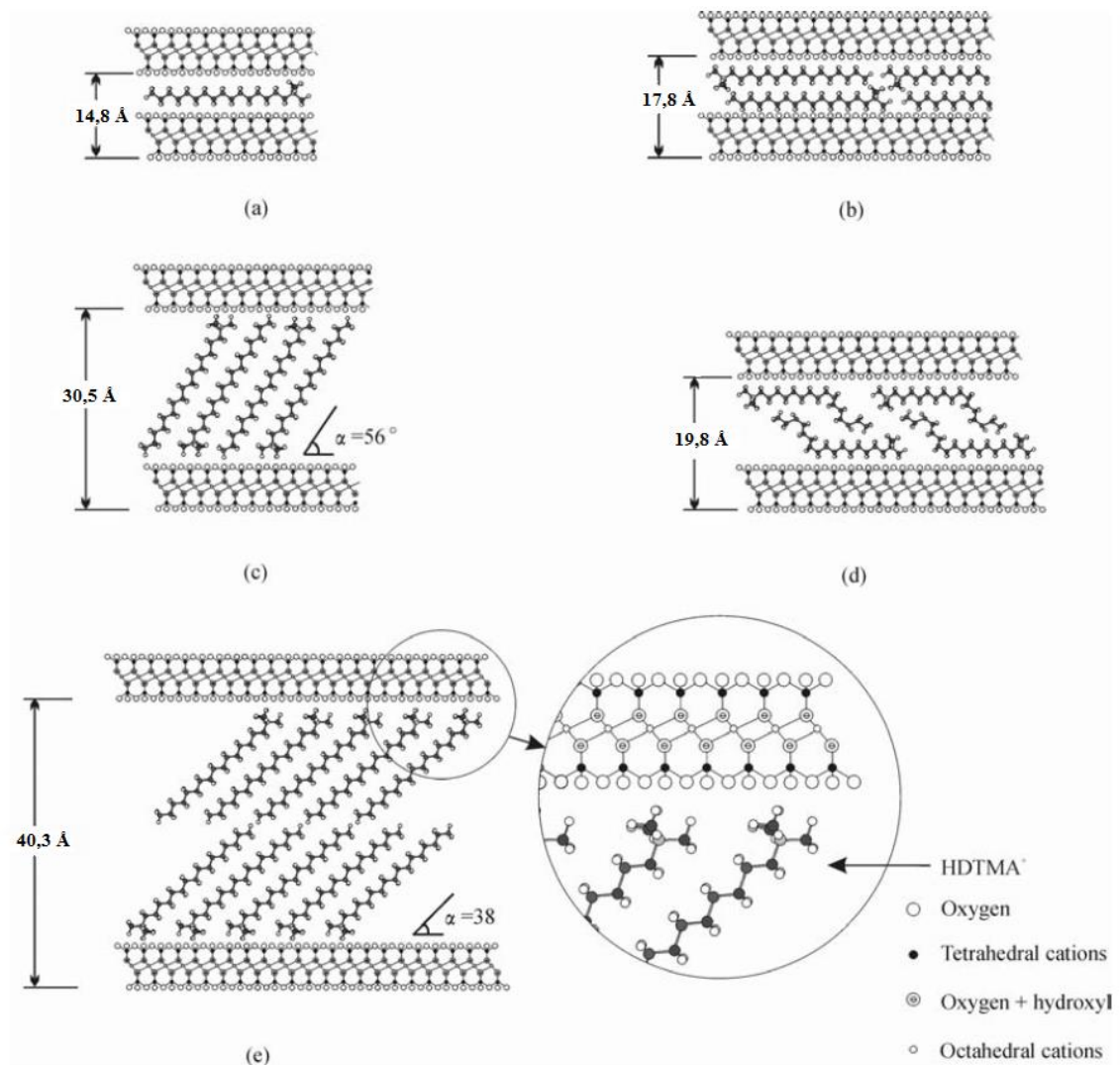


Figura 22: Ubicación de HDTMA⁺ en la intercapa de la montmorillonita: (a) monocapa lateral (b) bicapa lateral (c) tipo parafina monocapa (d) pseudotricapa (e) tipo parafina bicapa (Zhu *et al.*, 2003).

Los DRX permitieron determinar la composición mineralógica de las muestras naturales y comprobar la efectividad de la modificación para las organobentonitas como así también proponer diferentes disposiciones de la molécula de HDTMA en el espacio intercapa que podrían estar

relacionadas con aspectos estructurales de las bentonitas naturales, como la carga estructural y la CIC. En este sentido, las muestras BA y BC son las que presentan mayores valores de CIC, por lo que se espera que la carga positiva del catión de amonio cuaternario sea fuertemente atraída a la superficie del mineral favoreciendo la disposición de la molécula tipo parafina, orientando el centro positivo hacia la superficie y ordenando las cadenas carbonadas de manera paralela en el espacio intercapa.

4.7 Espectroscopía FTIR

En el espectro IR de un mineral se pueden identificar las bandas características de los grupos funcionales, lo cual ofrece información sobre estructura y grado de regularidad, naturaleza de las sustituciones isomórficas, permite diferenciar el grupo hidroxilo estructural y el proveniente del agua de hidratación y la presencia de impurezas cristalinas y no cristalinas (Farmer, 1979).

Los resultados del análisis espectroscópico sobre las muestras estudiadas se resumen en la Tabla 1 del anexo (Capítulo 7), en la cual encuentran los valores de las bandas características de cada una de las muestras total, <2 μ m y modificada con HDTMA.

Las bandas principales de las montmorillonitas fueron:

- entre 3632 cm^{-1} y 3621 cm^{-1} atribuidas a la vibración de estiramiento OH de grupos hidroxilo estructurales,
- entre 3445 cm^{-1} y 3428 cm^{-1} atribuidas a la tensión –OH de agua,
- entre 1636 cm^{-1} y 1642 cm^{-1} atribuidas a la deformación del –OH el agua,
- entre 1035 cm^{-1} y 1049 cm^{-1} atribuidas a la tensión Si-O,
- entre 906 cm^{-1} y 915 cm^{-1} atribuidas a la deformación AlAlOH,
- entre 833 cm^{-1} y 845 cm^{-1} atribuidas a la deformación AlMgOH,
- 878 cm^{-1} atribuidas a las vibraciones estructurales de flexión de OH perteneciente al grupo AlFe³⁺OH
- entre 796 cm^{-1} y 781 cm^{-1} atribuidas a la tensión Si-O de cuarzo,
- entre 618 cm^{-1} y 628 cm^{-1} atribuida vibraciones de los grupos Al-O y Si-O fuera del plano

- entre 514 cm^{-1} y 531 cm^{-1} atribuidas a la deformación Al-O-Si.

Para las organobentonitas, las bandas IR atribuidas a la presencia de HDTMA en la muestra y que se observan en comparación con las muestras no modificadas corresponden a:

- entre 2911 cm^{-1} y 2926 cm^{-1} atribuidas a los estiramiento asimétrico de $-\text{CH}_2$,
- entre 2842 cm^{-1} y 2854 cm^{-1} atribuidas a los estiramiento simétrico $-\text{CH}_2$,
- entre 1466 cm^{-1} y 1480 cm^{-1} atribuidas a las deformaciones del grupo $-\text{CH}_2$,
- entre 716 cm^{-1} y 725 cm^{-1} atribuidas a las oscilación del $-\text{CH}_2$

La comparación de los espectros IR para CATAE total y su organobentonita se muestran en la Fig. 23. Se eligió la muestra CATAE para el análisis de las bandas características por ser la muestra de referencia.

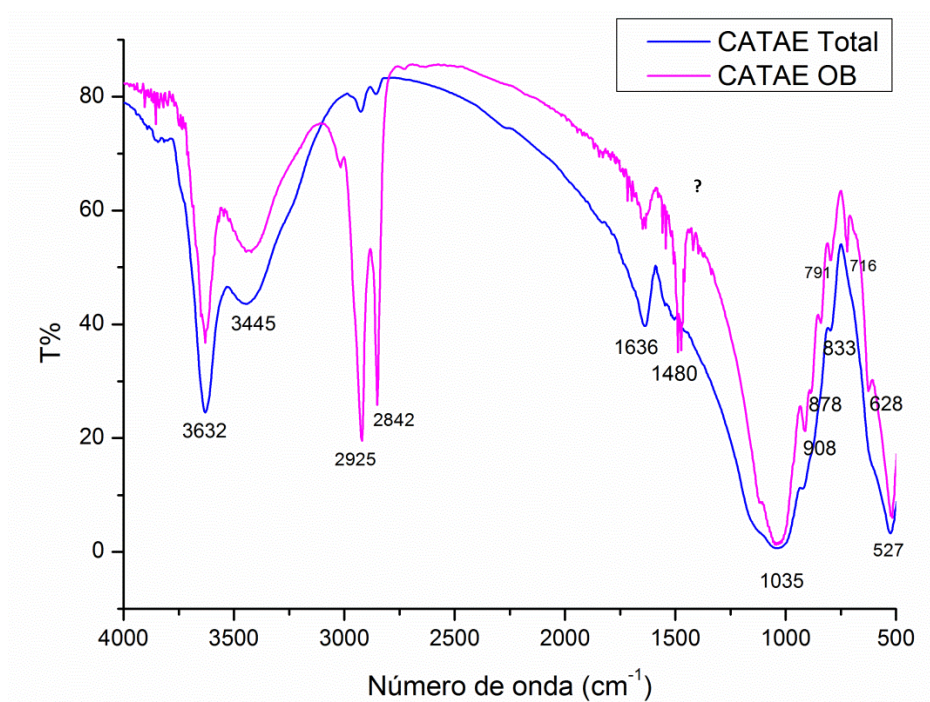


Figura 23: Espectros IR de la muestra CATAE total y su organobentonita.

Las regiones espectrales de interés a analizar en los espectros de la Fig. 23 son:

- Tensión y deformación del enlace $-\text{OH}$ del agua en las bandas 3445 cm^{-1} y 1636 cm^{-1} , respectivamente. La disminución de la intensidad de estas banda en la muestra modificada refleja que la cantidad de moléculas de H_2O , con enlaces de hidrógeno presentes, es menor que en la arcilla natural. Esto podría explicarse por el hecho de que el contenido de H_2O se reduce con el reemplazo de los cationes hidratados por iones HDTMA^+ . Con la intercalación

de surfactantes, la propiedad de la superficie de la montmorillonita se modifica, es decir, la superficie hidrofílica de la montmorillonita ha cambiado a hidrofóbica.

- Estiramientos asimétricos y simétricos del grupo $-\text{CH}_2$ correspondiente a las bandas 2925cm^{-1} y 2842cm^{-1} respectivamente debida a la incorporación del HDTMA. Las vibraciones de flexión (tijera) del $-\text{CH}_2$ en 1480 cm^{-1} que se encuentran en los espectros de las muestras modificadas debido a la intercalación de la molécula de HDTMA en la intercapa. La frecuencia y el ancho de la banda (CH_2) son sensibles a las interacciones de las cadenas de alquilo y a la disposición de empaquetamiento de HDTMA.

- Las frecuencias de deformación del grupo $-\text{CH}_2$ se encuentran entre 1466 y 1472 cm^{-1} (Vaia *et al.*, 1994). En general, mayores frecuencias se registran para cadenas de grupos metileno ordenadas y menores frecuencias (1466 cm^{-1}) y bandas anchas se observan cuando disminuye las interacciones entre cadenas y aumenta la distancia entre cadenas, característica del estado líquido. En nuestra muestra, se observa la $\delta\text{-CH}_2$ a 1480 cm^{-1} correspondiendo a un estado de cadenas carbonadas ordenado. Esta observación es consistente con el patrón DRX de CATAE, que proponía que el HDTMA adopta un ordenamiento de pseudotricapa de las cadenas carbonadas generando un espacio hidrofóbico en la intercapa. (Changchaivong *et al.*, 2009; Vaia *et al.*, 1994; Zhu *et al.*, 2005).

- La banda que corresponde a la tensión de Si-O a 1035 cm^{-1} es más aguda que la correspondiente a la muestra natural, debido a la incorporación de la molécula HDTMA y posibles interacciones con los grupos de borde del mineral.

- Oscilación del $-\text{CH}_2$ en 716 cm^{-1} , que al igual que en el caso de las vibraciones de flexión del $-\text{CH}_2$, esta banda indica la disposición de empaquetamiento de las cadenas alquilo correspondiente a la molécula de HDTMA.

- Vibraciones estructurales de flexión de $-\text{OH}$ para cationes octaédricos en 878 cm^{-1} para $\text{AlFe}^{3+}\text{OH}$ (Bishop *et al.*, 2002), que se encuentra como una banda en las muestra BN OB, CATAE OB y BA OB (Fig. 24 y 25). El análisis de esta banda de absorción es consistente con los resultados obtenidos en la caracterización de los minerales utilizados (Fig. 15), donde se clasificó como montmorillonita férrica a BN.

- Complejo Al-O y Si-O fuera del plano, banda característica de las montmorillonitas la cual aparece como un hombro en los espectros IR de la arcilla natural (total) y como un pico bien definido en la arcilla modificada con HDTMA a 628cm^{-1} . En la bibliografía se ha

discutido y asignado la banda $\sim 630\text{ cm}^{-1}$ a la presencia de -OH para esmectitas ricas en Al con un desorden estructural debido a la sustitución tetraédrica y/o octaédrica (Bishop *et al.*, 2002). Las diferencias encontradas entre las organobentonitas y las muestras naturales estaría indicando que el HDTMA interaccionaría con estos grupos superficiales. Resultados similares fueron encontrados por Parolo *et al.* (2014) para CATAE.

La Fig. 24 muestra los espectros IR correspondientes a todas las organobentonitas sintetizadas. Con el fin de mostrar las comparaciones entre las bandas de los grupos estructurales del mineral para las distintas muestras, se muestra con mayor detalle la región entre 1200 y 500 cm^{-1} donde se observan claramente tres diferencias (Fig. 25):

1. En la muestra BN OB, a una longitud de onda de aproximadamente 622 cm^{-1} no se encuentra un pico bien definido, y en lugar de ello se puede observar un hombro lo cual indica la débil señal del Al-O y Si-O fuera del plano.
2. En la muestra BN OB se observa una disminución en la intensidad de la banda correspondiente a las oscilaciones del $-\text{CH}_2$ (717 cm^{-1}) con respecto al resto de las organobentonitas lo que indicaría un menor rendimiento en la modificación con HDTMA.
3. En la muestra BN OB se encuentra una disminución en las bandas correspondientes a la deformación AlAlOH y a la deformación AlMgOH, siendo muy marcada esta última banda en la muestra BC a 834 cm^{-1} . La intensidad de las bandas de deformación de estos grupos de borde se corresponden con el análisis químico de las muestras, específicamente el mayor contenido de Mg le corresponde a BC mientras que el menor contenido le corresponde a BN.

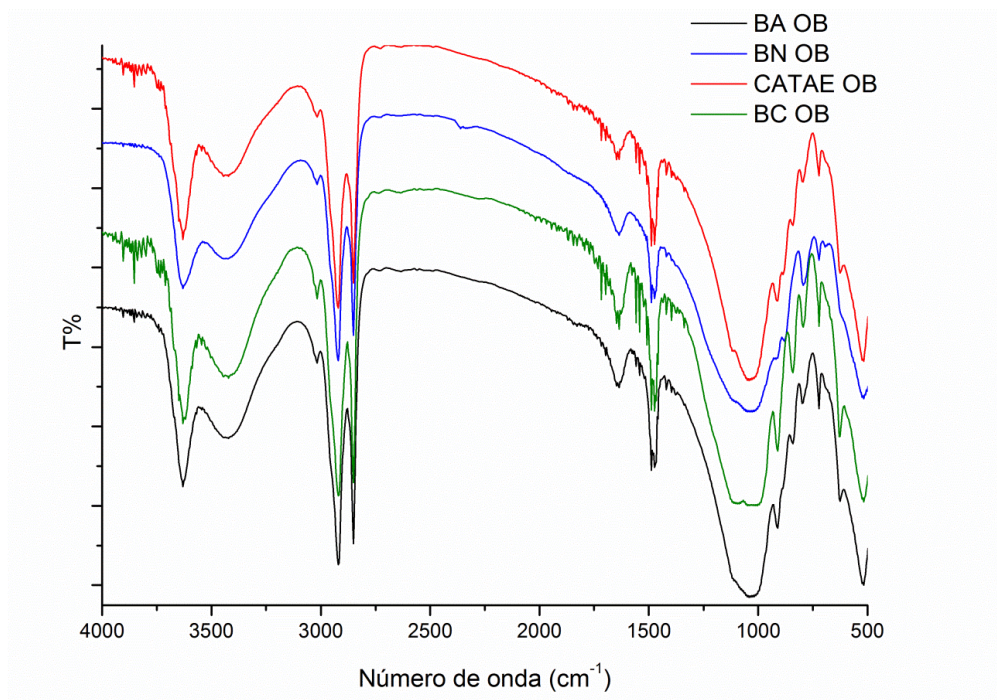


Figura 24: Comparación de los gráficos IR de las organobentonitas BA, BN, CATAE y BC.

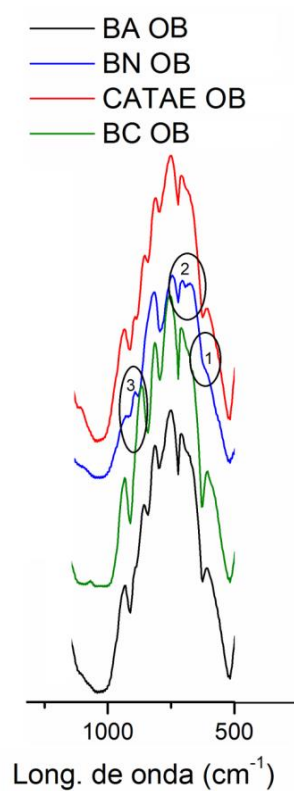


Figura 25: Espectro de absorción IR en la región 1200-500 cm^{-1} .

Los espectros IR nos permitieron determinar las bandas características de las distintas muestras naturales y de las organobentonitas observando de esta última la eficiencia en la intercalación con HDTMA.

4.8 Análisis Termogravimétricos

Se realizó el análisis termogravimétrico (TG y TGA), el análisis térmico diferencial (DTA) y el análisis termogravimétrico diferencial (DTG) para las organobentonitas cuyos datos se encuentran en la Tabla 14. Para comparar el comportamiento térmico de las organobentonitas con una bentonita natural, se incorporó en el análisis del datos termogravimétricos de CATAE según Parolo *et al.* (2014).

Tabla 14: Datos obtenidos del análisis Termogravimétrico (TG), del análisis térmico diferencial (DTA) y el análisis gravimétrico térmico derivativo (DTG). *Datos extraídos de Parolo *et al.* (2014).

MUESTRA	% masa perdida	T ₀ (°C)	T _f (°C)	Asignación	PICOS DE TEMP. (°C) DTA
*CATAE sin modificar	10,5	20	200	Deshidratación	158
	4,1	200	710	Deshidroxilación	688 534
	4	710	>1000	Deshidroxilación	884 933
CATAE OB	2,9	20	206	Deshidratación	-
	17,7	206	322	Perdida del surfactante	237
	14,9	322	713	Perdida del surfactante	337 672
	1,4	713	>1100	Deshidroxilación	923
BN OB	1,7	20	213	Deshidratación	-
	12,1	213	295	Perdida del surfactante	-
	12,8	295	652	Perdida del surfactante	298
	1,0	652	>1100	Deshidroxilación	-
BC OB	3,5	20	210	Deshidratación	-
	27,1	210	374	Perdida del surfactante	233 -367
	12,3	375	715	Perdida del surfactante	680
	1,4	715	>1100	Deshidroxilación	1006
BA OB	3,5	20	208	Deshidratación	-
	21,0	208	299	Perdida del	228

				surfactante	
	16,1	299	706	Perdida del surfactante	339 671
	1,2	706	>1100	Deshidroxilación	926

En las Fig. 26, 27, 28 y 29 se encuentran los termogramas que contienen las curvas de TG, DTA y DTG de las organobentonitas CATAE OB, BN OB, BC OB y BA OB respectivamente.

Las curvas DTA muestran el intercambio de calor (reacciones endotérmicas o exotérmicas) en las muestra. Para las arcillas, las reacciones endotérmicas implican la desorción de H₂O superficial y deshidratación a bajas temperaturas, y deshidroxilación a temperaturas más elevadas y pérdida de materia orgánica o impurezas. Las curvas TG muestran solo cambios de masa a medida que aumenta la temperatura bajo ambiente oxidante. La derivada de la curva TG, la curva DTG, muestra cambios en la pendiente TG que pueden no ser evidentes a partir de la curva TG. Por lo tanto, la curva de DTG y la curva de DTA pueden mostrar fuertes similitudes para aquellas reacciones que implican cambios de masa y entalpía, tales como reacciones de desorción, deshidratación y deshidroxilación.

En los diagramas del análisis térmico diferencial (DTA) se observó que a baja temperatura se produce la pérdida de agua de hidratación de la bentonita, en tanto que a temperaturas más elevadas, las curvas reflejan el proceso endotérmico irreversible en el que se pierden los grupos -OH de la estructura cristalina (deshidroxilación).

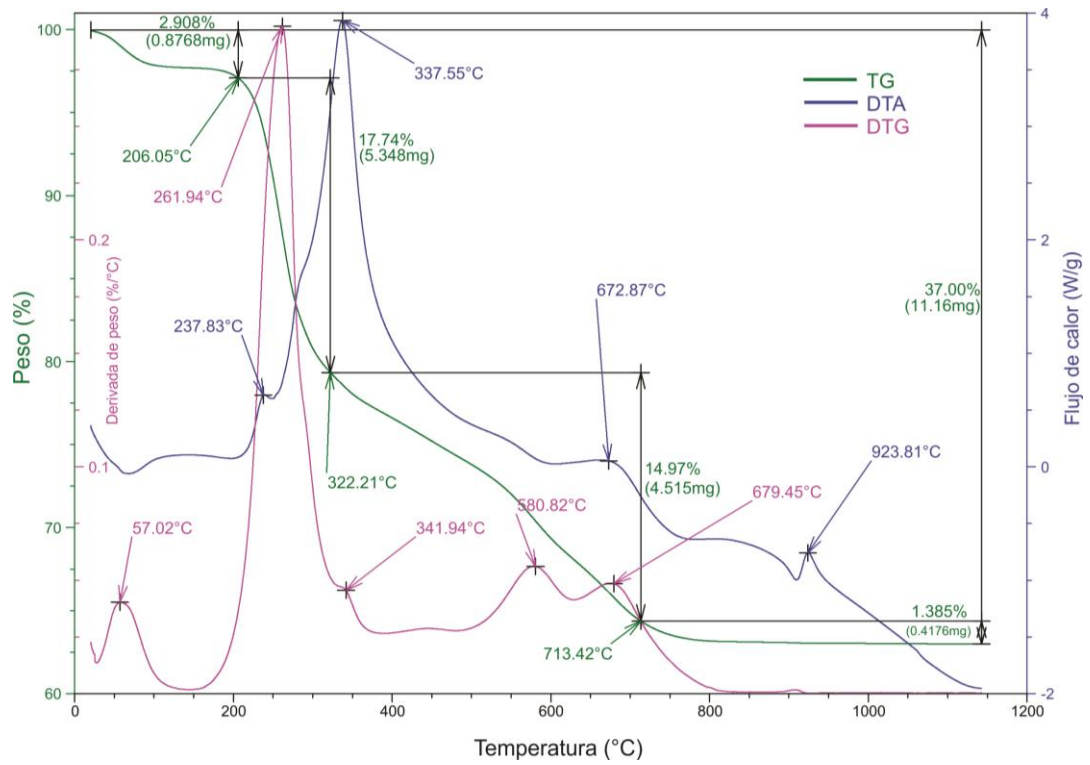


Figura 26: Análisis TG, DTA y DTG de la muestra CATAE modificada con HDTMA.

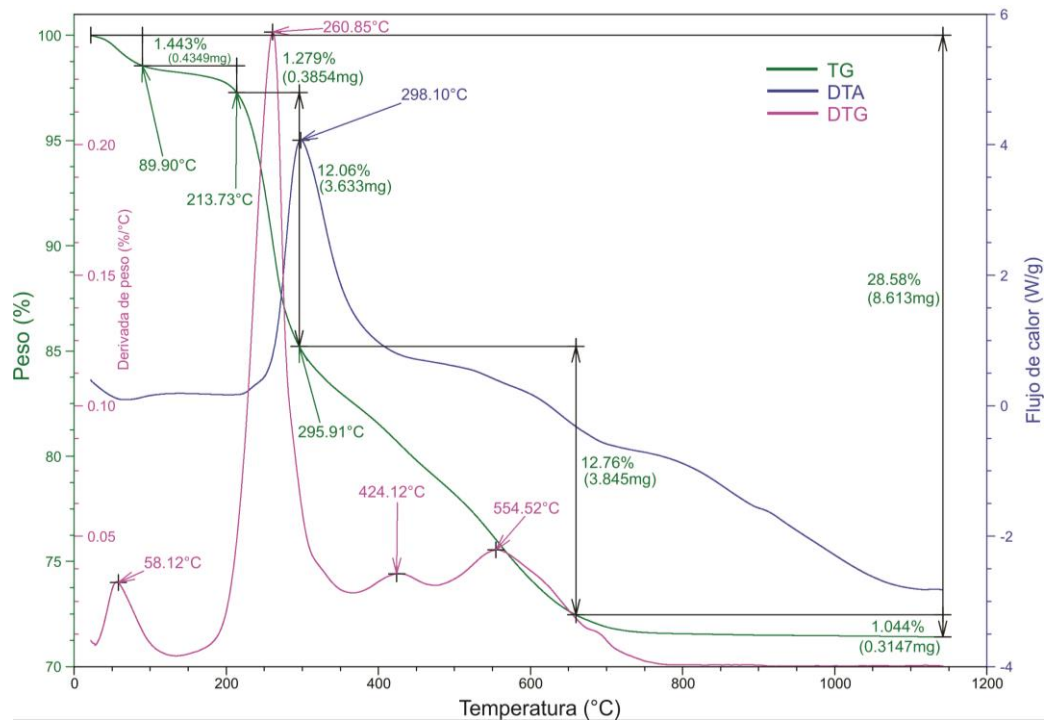


Figura 27: Análisis TG, DTA y DTG de la muestra BN modificada con HDTMA.

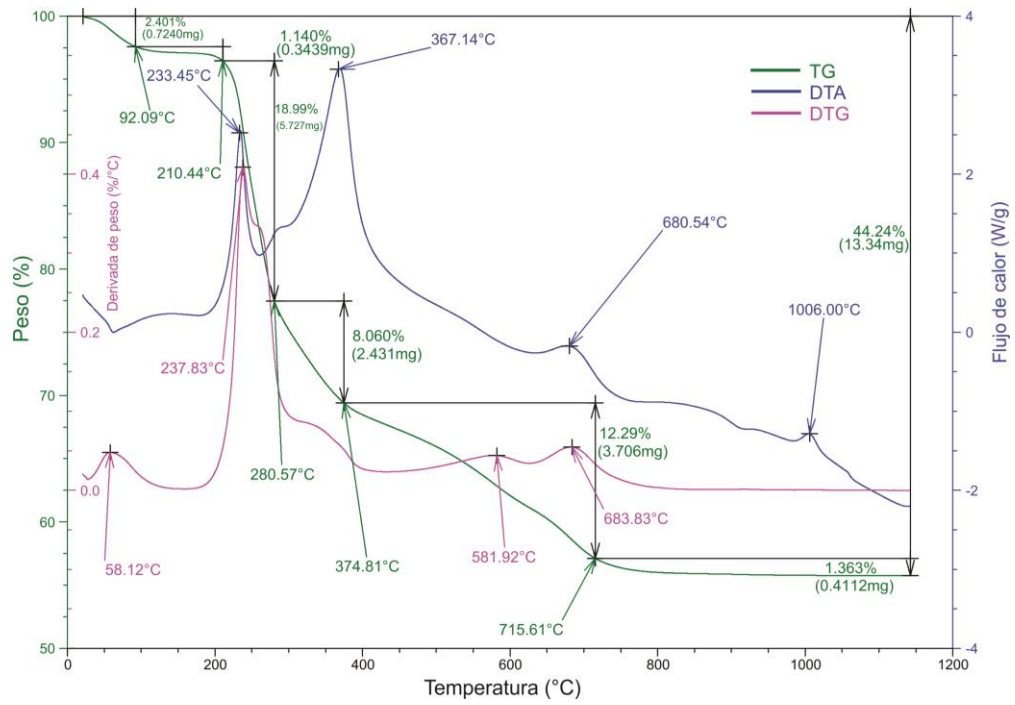


Figura 28: Gráfica de TG, DTA y DTG de la muestra BC modificada con HDTMA.

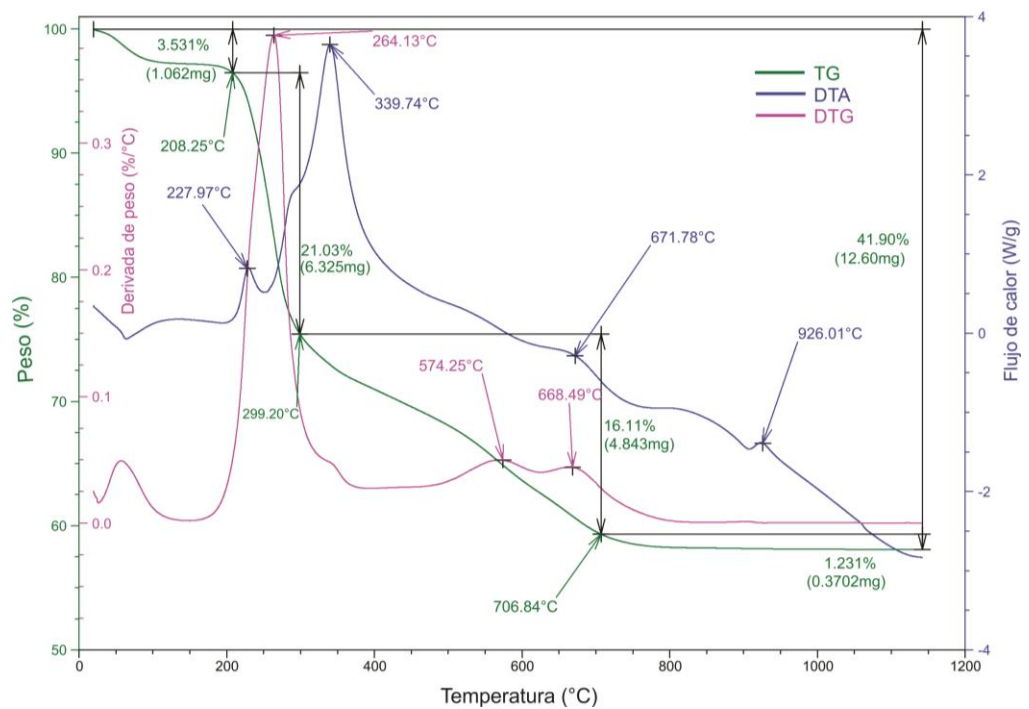


Figura 29: Gráfica de TG, DTA y DTG de la muestra BA modificada con HDTMA.

Se demostró en la bibliografía que el método de preparación tiene una fuerte influencia en el ambiente molecular del surfactante dentro de las arcillas y afecta la estructura de las organobentonitas resultantes. En estudios previos se ha encontrado que a altas concentraciones de surfactante tiene una mala estabilidad térmica. Se propuso que la baja estabilidad térmica resulta de la descomposición del surfactante adsorbido físicamente (primer pérdida de masa a partir de 200 °C) en la superficie externa de la montmorillonita. Sin embargo, estos surfactantes adsorbidos físicamente en la superficie externa mejorarán la propiedad hidrofóbica de las arcillas orgánicas, dando como resultado una buena afinidad con los compuestos orgánicos (Xi *et al.*, 2005).

Para la bentonita CATAE sin modificar, la pérdida de masa es asociada a la pérdida de agua, producto de la desorción de agua, pérdida de agua de la intercapa, o reacciones de deshidroxilación, descomposición y recristalización (Grim y Kulbicki, 1961). En el diagrama TG la pérdida de peso (10,5%) representa la deshidratación. Esto puede ser atribuido a la pérdida de agua principalmente de tipo interlaminar, asociada con iones de intercambio, y en menor medida a la pérdida de agua adsorbida en los poros interparticulares. Este valor es mayor que para la organobentonita de CATAE modificada en este trabajo ya que se produjo la sustitución parcial de los cationes hidratados. La segunda endoterma es menor que la primera y se encuentra en el rango de 550-690° C. La pérdida de peso ocurrida en esta reacción es de 4,1% y se atribuye a la pérdida del -OH de la estructura cristalina (deshidroxilación). Las reacciones de descomposición (endotérmica) y recristalización (exotérmica) tienen lugar entre 865 y 940° C. Estas reacciones fueron acompañadas por una pérdida de peso del 4% en la bentonita CATAE natural (Parolo *et al.*, 2014). Estos valores fueron mayores que para CATAE OB.

Los análisis de TG / DTG de organobentonitas muestran un pico a una temperatura de entre 57,02°C y 61,10°C que corresponde a la deshidratación de la arcilla. Entre las temperaturas 237,83°C y 683,83°C se encontraron entre dos y cuatro picos que corresponden a la pérdida del surfactante, alguno de los cuales corresponden a los tensioactivos adsorbidos físicamente y otros a la evaporación y descomposición de las moléculas orgánicas intercaladas (Parolo *et al.*, 2014). En este rango de temperatura es donde hay mayor porcentaje de pérdida de masa de las muestras debido a la pérdida del surfactante, alcanzando los siguientes valores: 32,7% para CATAE, 24,8% para BN, 39,4% para BC y 37,1% para BA. Los resultados obtenidos ponen en evidencia la modificación de las bentonitas y el rendimiento del proceso de intercambio de los cationes naturales por el

surfactante. En este caso, la muestra BC es la que presentó los mayores rendimientos de modificación.

4.9 Adsorción de aflatoxina

4.9.1 Adsorción sobre bentonitas naturales

Numerosos estudios han demostrado que las bentonitas naturales mostraron una buena capacidad de adsorción para las aflatoxinas. La Tabla 15 muestra los resultados de los ensayos de adsorción reportados por otros autores y se comparan con los obtenidos en el presente trabajo. Para complementar esta tabla se encuentra la Fig. 30 en la cual se indican los porcentajes adsorbidos por las distintas muestras de bentonitas naturales a distintas concentraciones de AFB1 para un único dosaje del adsorbente (10mg/mL). En ella se observa que las bentonitas BC, BN y BA adsorben más del 98 % de la toxina, mientras que CATAE lo hace entre el 93-97%. Los valores de los coeficientes de variación (cv) expresados en porcentaje se indican en la parte superior de las barras, en todos los casos se obtuvieron cv inferiores al 5%. (Fig. 30).

Tabla 15: Datos referenciales de experiencias anteriores de adsorción de AFB1 mediante bentonita natural.

Muestra	Dosaje de montmorillonita (mg/mL)	Concentración de AFB1 (µg/mL)	Eficiencia de adsorción (%)	Referencia
Sigma Chemical Co. Mt	2	20	100	Abbes <i>et al.</i> (2008)
Bosnia Mt	0,5	4	100	Daković <i>et al.</i> (2008)
-	10	4	100	Vekiru <i>et al.</i> (2007)
Sipovo deposit (Bosnia)	10	4	98	Daković <i>et al.</i> (2008)
-	5	2	90	Desheng <i>et al.</i> (2005)
Netherlands Mt	2,5	0,2	100	Chansiripornchal and Fink-Gremmels (2004)
Pacitan district (East Java) Mt	5	0,2	99	Nuryono <i>et al.</i> (2012)
Sanding Mt	4	4	3	Zeng <i>et al.</i>

				(2013)
-	5	0,1	100	Desheng <i>et al.</i> (2005)
Greece mine Mt	25	-	100	Pappas <i>et al.</i> (2014)
BC	10	0,001	98,91	-
BN	10	0,001	98,86	
BA	10	0,001	98,80	
CATAE	10	0,001	97,43	

Las concentraciones de AFB1 utilizadas para este trabajo fueron menores que las ensayadas por otros autores y el dosaje de montmorillonita fue equivalente al utilizado por Vekiru *et al.* (2007) y Daković *et al.* (2008) cuyos porcentajes de adsorción obtuvieron entre un 98 y 100% de adsorción.

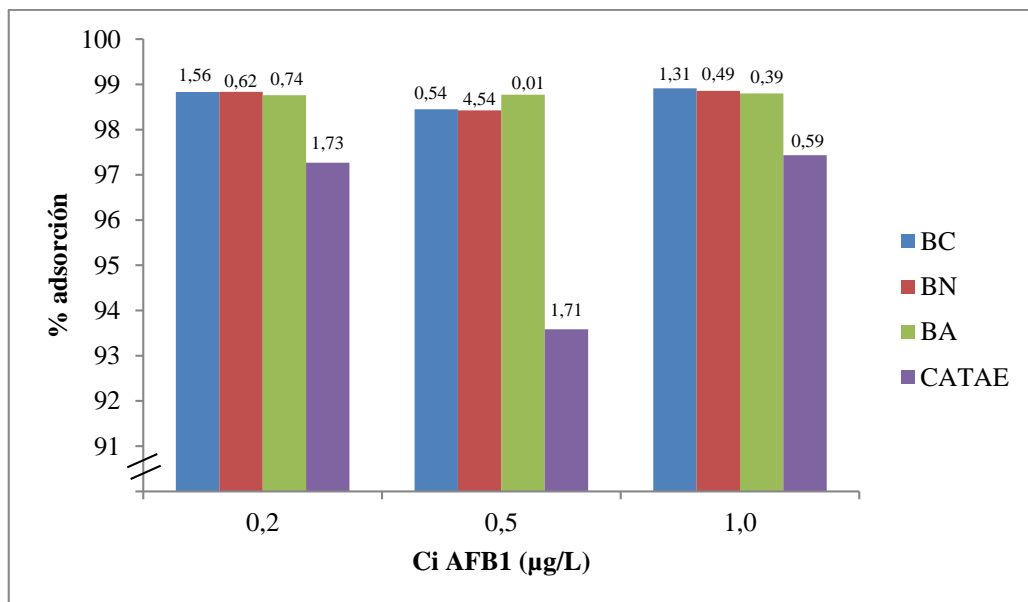


Figura 30: Comparación de las muestras CATAE, BN, BC y BA naturales. En el extremo superior de cada barra se expresa el coeficiente de variación (CV) expresado en porcentaje.

Se puede observar que CATAE obtuvo el menor porcentaje de adsorción en relación al resto de las muestras, y particularmente la menor adsorción se produjo a una concentración de 0,5 µg/L. En las muestras BC, BN y BA no es significativa la diferencia que hay entre ellas con respecto al porcentaje de adsorción.

Los complejos de adsorción AFB1-Bentonita no pudieron ser caracterizados por cuestiones operativas (ver sección 3.4), es por ello que la explicación de los posibles mecanismos de adsorción está basada en la bibliografía.

Respecto de los mecanismos y posibles sitios de interacción en el mineral, que fueron desarrollados en el capítulo 2.4, existen diferentes propuestas, entre las cuales se encuentran: quimisorción selectiva en bordes e intercapa (Phillips *et al.*, 1995), adsorción en las superficies externas o en los bordes (Desheng *et al.*, 2005), mientras que otros autores sugirieron solo el espacio de intercapa como superficie reactiva (Kannevischer *et al.*, 2006, Phillips *et al.*, 2002).

En este sentido, Deng *et al.* (2010), analizaron el mecanismo de interacción entre una esmectita y la AFB1, y proponen que en ausencia de humedad y previa homoionización con Ca^{2+} de la esmectita, la interacción se produce por interacciones directas ión-dipolo o una coordinación catión - oxígeno carbonilo (Fig. 31 a). Mientras que cuando hay humedad, condición similar a la aplicada en este ensayo, las moléculas de aflatoxina se unen al mineral arcilloso mediante un enlace hidrógeno entre los carbonil-oxígenos y el agua de hidratación (Fig. 31 b). En nuestro caso, los DRX de todas las bentonitas naturales mostraron un grado de hidratación del argilomineral característico de la presencia Na^+ en la intercapa ($d_{001}=12,4 \text{ \AA}$), que para una humedad relativa entre 37-52% correspondería a dos capas de agua (Brindley y Brown, 1980), que podría corresponderse con el caso b de la Fig. 31. Siguiendo a estos autores, se ilustra en la Fig. 31c el modelo propuesto de intercalación de AFB1, en la figura no se muestra las moléculas de agua de la intercapa. En el presente trabajo, la intercalación de AFB1 no pudo evidenciarse experimentalmente.

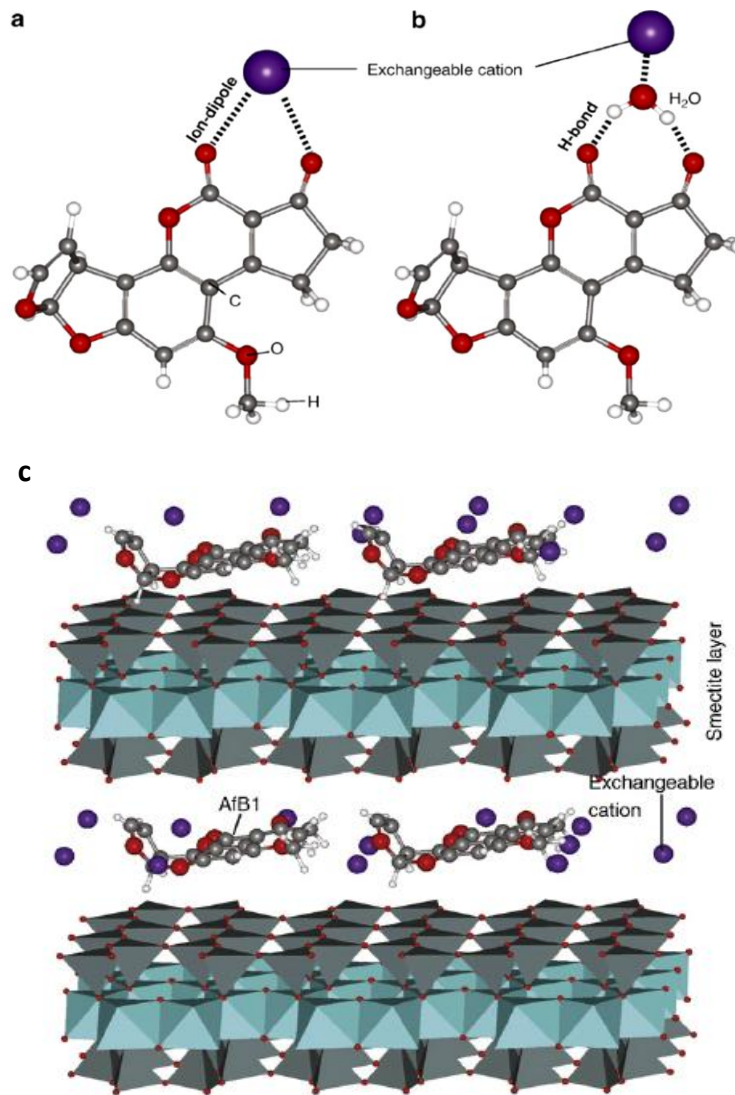


Figura 31: Mecanismos de enlace: (a) interacción / coordinación iónico-dipolo entre los dos carbonil-oxígenos con catión de intercambio; (b) enlace H⁺ entre grupos funcionales carbonilo y agua de hidratación de catión de intercambio; (c) modelo de intercalación de AFB₁. (Deng *et al.*, 2010).

Los elevados porcentajes de adsorción de aflatoxinas (AFB₁) obtenidos nos indican una relación directa con la CIC para BC y BA, no siendo así para BN y CATAE. Mientras que para las otras propiedades fisicoquímicas analizadas, SE e Índice de hinchamiento no fue posible encontrar correlación alguna. Los resultados obtenidos indicarían la contribución de más de un modo de interacción entre AFB₁ y las bentonitas naturales analizadas.

4.9.2 Adsorción en organobentonitas (OB)

La modificación orgánica es un método eficaz para mejorar la capacidad de adsorción de bentonitas para las micotoxinas débilmente polares, como lo es la AFB1 (ver Tabla 2, sección 2.6). A continuación se indican los valores alcanzados para las OB en la Tabla 16:

Tabla 16: Porcentaje de AFB1 adsorbido por organobentonitas a distintas concentraciones de AFB1.

Muestra (1g/100mL)	C _i AFB1 (µg/L)	Cantidad adsorbida (%)	CV
BC OB	0,2	98,04	3,88
	0,5	99,17	1,43
	1	98,80	1,45
BN OB	0,2	99,16	0,97
	0,5	96,87	0,43
	1	99,10	1,58
BA OB	0,2	99,11	0,18
	0,5	97,58	5,17
	1	98,48	0,99
CATAE OB	0,2	99,11	0,26
	0,5	84,47	0,64
	1	97,69	0,40

El mayor porcentaje de adsorción se obtuvo para la muestra BC OB con un valor de 99% a una concentración de AFB1 de 0,5µg/L. Esto podría relacionarse a que BC tiene el mayor rendimiento de modificación con HDTMA. Este comportamiento no fue el mismo para las otras concentraciones de AFB1. No se evidenció por lo tanto una relación directa entre el contenido de HDTMA de las organobentonitas con su capacidad de retención de AFB1, lo que indicaría que el dosaje aplicado a estos ensayos fue suficiente para remover más del 85% de la toxina en todos los casos. En la Fig. 32 se hayan graficados los valores de los porcentajes de adsorción y junto a ellos los valores de coeficientes de variación para cada muestra.

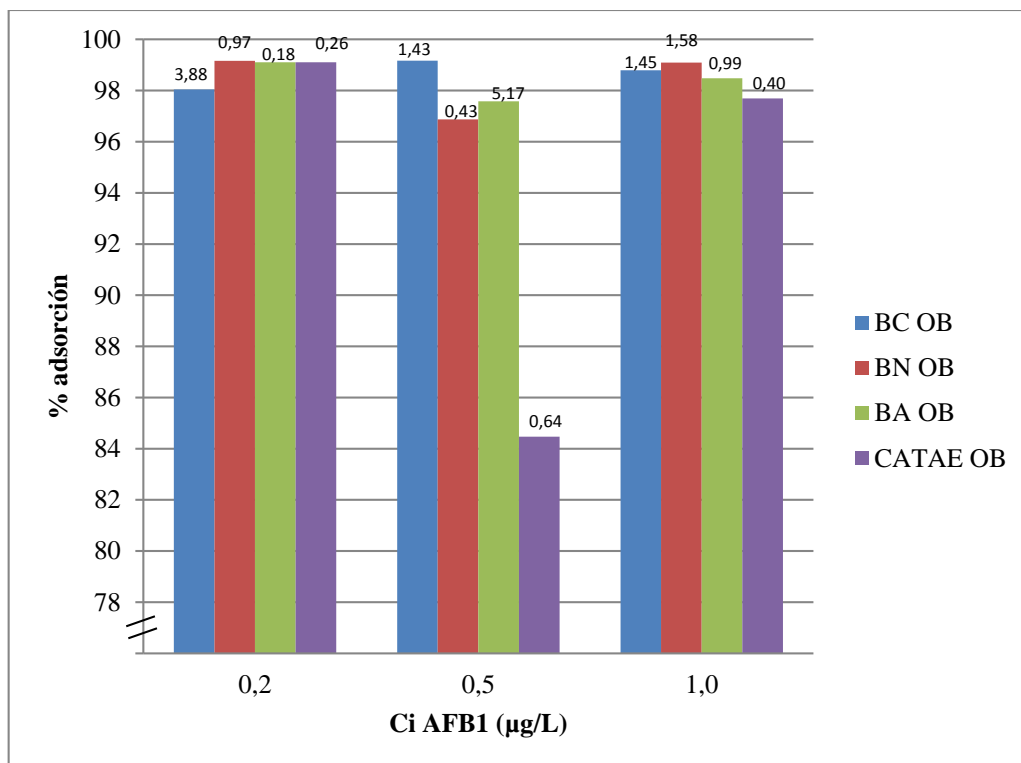


Figura 32: Comparación de los porcentajes de adsorción y de los cv de las muestras CATAE, BN, BC y BA modificadas. En el extremo superior de cada barra se expresa el coeficiente de variación (CV) expresado en porcentaje.

Se compara en la Fig. 33 los valores de adsorción de las muestras naturales con las organobentonitas sintetizadas. Los resultados alcanzados evidenciaron un aumento de la capacidad de adsorción de las organobentonitas respecto de las bentonitas naturales.

A una concentración de 0,2 µg/L de AFB1, se observó una mayor adsorción en las muestras CATAE, BN y BA modificadas mientras que para BC la mayor adsorción se produjo para la muestra al natural sin modificar. Por el contrario, a una concentración de 0,5 µg/L de AFB1, las muestras CATAE, BN y BA sin modificar fueron las que obtuvieron un mayor porcentaje de adsorción y para la muestra BC fue la modificada. A mayores concentraciones, 1 µg/L, el porcentaje de adsorción fue alto y muy similar tanto para la muestra natural como para la modificada, siendo que para BC y BA fue mayor en la muestra natural.

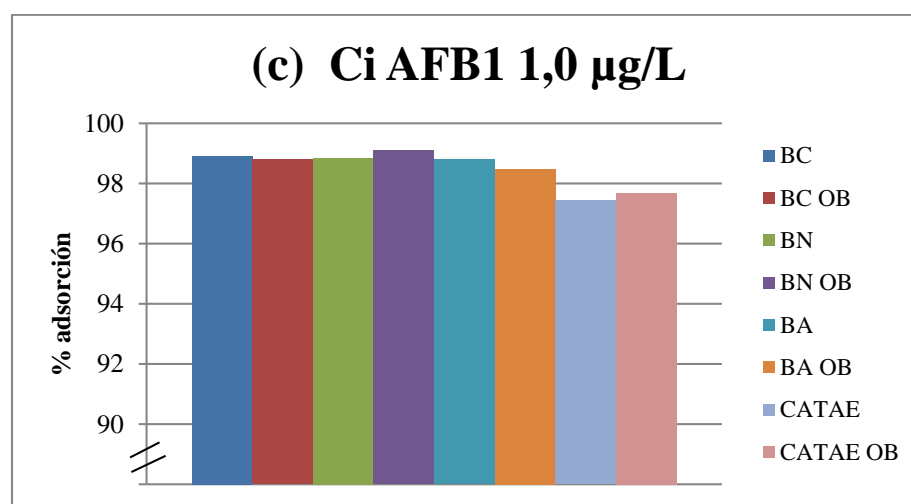
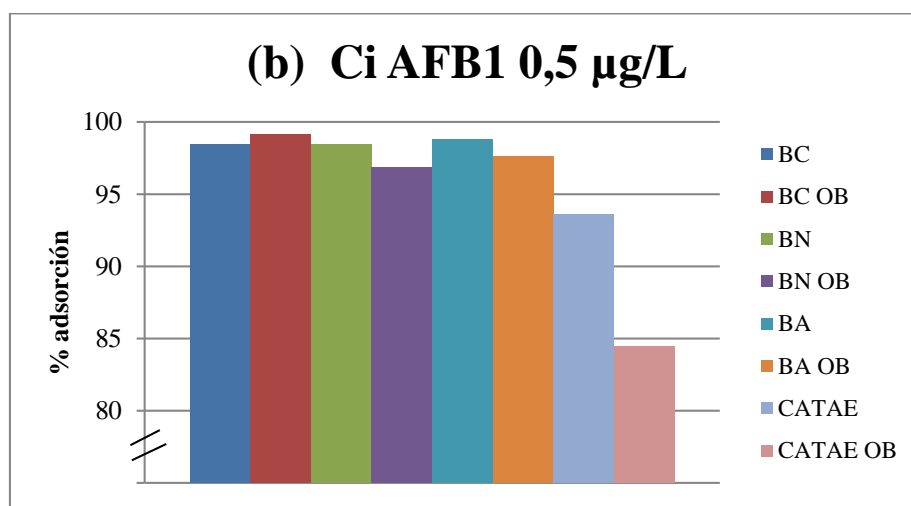
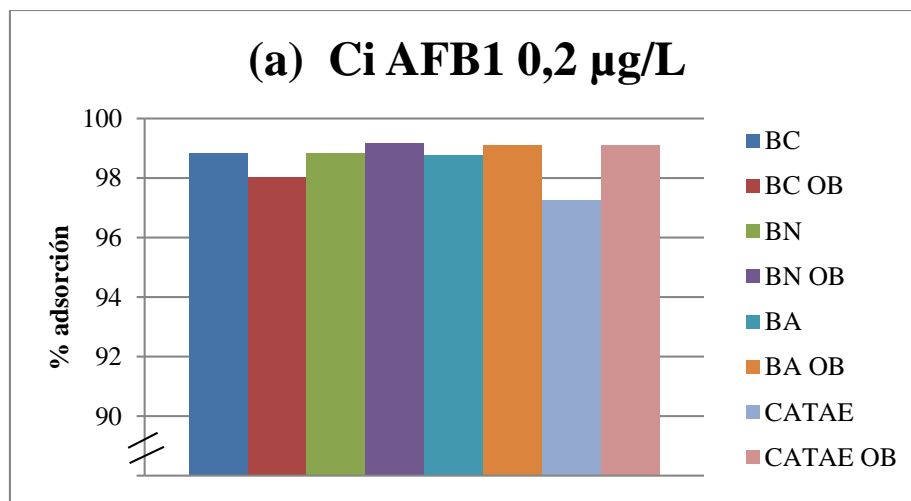


Figura 33: Comparación de los valores de adsorción de las muestras naturales con las organobentonitas para las concentraciones de AFB1 de (a) 0,2µg/L, (b) 0,5 µg/L y (c) 1,0 µg/L.

Según Nones *et al.* (2016), la alta capacidad de adsorción para AFB1 fue causada por el aumento del espacio intercapa por intercalación de surfactantes catiónicos. En el presente trabajo, el aumento fue para CATAE de 12,48 Å (natural) a 20,72 Å (OB) , en BN de 15,33 Å (natural) a 37,4 Å(OB), en BC de 12,5 Å(natural) a 21,03 Å(OB) y en BA de 12,5 Å(natural) a 35,87Å(OB) (Sección 4.6).

Para la concentración de HDTMA utilizada en este trabajo, la orientación de la molécula del surfactante para cada bentonita favorece el contacto de la molécula de AFB1 con la superficie del silicato modificada debido al acomodamiento de las moléculas de HDTMA que incrementan el espacio basal (Sección 4.6.3). Por lo que se esperaría que el espacio intercapa hidrofóbico sea óptimo para retener la molécula de AFB1 que es poco polar.

El mecanismo de adsorción que podría aplicarse a nuestros resultados se fundamenta en el reemplazo de cationes inorgánicos por la molécula del surfactante catiónico, parcialmente al principio, y luego completamente (es decir, para satisfacer la CIC) (Boyd *et al.*, 1988; Zhu y Su, 2002).

Nuestros resultados podrían ser consistentes con el mecanismo de partición, que junto con la unión ion-dipolo son los principales mecanismos de adsorción de AFB1 que se produce en la intercapa de la organobentonita (Fig.10 sección 2.6).

Teniendo en cuenta los resultados alcanzados en este trabajo, tanto las bentonitas naturales como las organobentonitas exhibieron una alta capacidad de adsorción de micotoxinas para una cantidad de adsorbente de 1g/100mL.

4.9.3 Aplicaciones de la bentonita en la elaboración de alimentos balanceados

Existen en el mercado nacional al menos una decena de productos importados que se comercializan para la alimentación de animales (pollos, cerdos, vacunos), el adsorbente que forma parte del mismo debe cumplir con los siguientes requisitos: alta capacidad de adsorción; irreversibilidad y especificidad del proceso de retención, la sustancia adsorbente debe ser no tóxica y sus efectos no pueden ser transferidos a la carne y otros productos animales; estudios de biomarcadores in vivo. Entre los adsorbentes más utilizados en alimentos se encuentran las ceolitas y bentonitas naturales o modificadas.

Refiriéndonos a la bentonita, una de sus aplicaciones en la industria es su utilización como ligante en la fabricación de alimentos pelletizados para animales, es decir, se fabrican pellets o

gránulos que actúan como lubricantes y aumentan la dureza del alimento. Se emplea en la alimentación de pollos, cerdos, pavos, cabras, corderos, y ganado vacuno, fundamentalmente. Sirve de soporte de vitaminas, sales minerales, antibióticos y de otros aditivos sin transmitir sabor ni olor a los alimentos.

La bentonita tiene una doble misión: actúa como promotor del crecimiento y como atrapador de toxinas. Esto se debe a que el alimento mezclado con bentonita, debido a su gran capacidad de adsorción, permanece más tiempo en la zona intestinal, la arcilla adsorbe el exceso de agua, y hace que los nutrientes permanezcan más tiempo en el estómago, siendo mayor su rendimiento (mayor producción). Por otro lado adsorben toxinas, no pudiendo éstas, por tanto, atravesar las paredes intestinales. La mayor adsorción de agua de los nutrientes, además, hace que los excrementos sean menos húmedos, así los lechos permanecen más tiempo limpios y se reduce la probabilidad de epidemias y la proliferación de moscas y parásitos. Las aves que comen este tipo de alimentos excretan un 26 % más de toxinas y adsorben un 42 % más de proteínas. Se ha incorporado también a la alimentación de aves de corral reportándose importantes beneficios como el incremento de la producción de huevos, su tamaño y el endurecimiento de su cáscara.

En nuestro país existen diferentes grupos de investigación que cuentan con importantes antecedentes en adsorción de aflatoxinas utilizando adsorbentes naturales (Magnoli *et al.*, 2008, 2011a, b, 2013). Actualmente, a partir de los resultados obtenidos en este trabajo se planteó la posibilidad de desarrollar un ensayo junto al Laboratorio de Microbiología (UNRC) para determinar la efectividad como adsorbentes de micotoxinas de aditivos biológicos en cerdos y pollos.

5. CONCLUSIONES

- Mediante métodos espectroscópicos, difracción de rayos X, fluorescencia de rayos X y microscopía electrónica se caracterizaron química y mineralógicamente cuatro bentonitas comerciales regionales, por lo que el presente estudio contribuye en la posible selección de estos materiales para aplicaciones industriales. Las bentonitas naturales estudiadas están constituidas por 82-94% de montmorillonita y como minerales acompañantes cuarzo, feldspatos, cristobalita, calcita y ceolita. El argilomineral se clasificó por su composición química como montmorillonita sódica para: CATAE, BC y BA, mientras que BN se clasificó como férrica.
- Los minerales arcillosos de las muestras de bentonitas fueron modificados aplicando un método de síntesis sencillo y económico. Se obtuvieron evidencias experimentales sobre la modificación orgánica mediante espectroscopía IR, difracción de rayos X y análisis termogravimétrico. Se observaron las bandas de absorción IR del grupo C-H (entre 2911 cm^{-1} y 2926 cm^{-1} para a los estiramientos asimétricos, entre 2842 cm^{-1} y 2854 cm^{-1} para los simétricos y entre 1466 cm^{-1} y 1480 cm^{-1} para las vibraciones de flexión) correspondiente a la cadena carbonada del surfactante catiónico utilizado en la modificación. Se observó un aumento del espaciado basal que sugieren diferentes acomodamientos de la molécula de surfactante: pseudo-tricapa, parafina monocapa y bicapa, de acuerdo a la muestra y a las condiciones de modificación; mientras que el porcentaje de pérdida de masa atribuido a la presencia de una sustancia orgánica se encontró entre 24,8 y 39,4%.
- Se analizó la capacidad de adsorción de una aflatoxina (AFB1) mediante ensayos en batch que permitieron cuantificar su afinidad por las bentonitas naturales y modificadas. El mayor porcentaje de adsorción para una concentración de AFB1 de $0,5\mu\text{g/L}$, se obtuvo para la muestra modificada BC (99,17%) y el menor para CATAE (84,47%), sin embargo no se encontró una relación directa entre el contenido de HDTMA de las organobentonitas con su capacidad de retención de AFB1. El contenido de carbono orgánico de las bentonitas modificadas podría representar un medio de partición para contaminantes no polares e

hidrófobos. A fin de interpretar estos resultados experimentales se podría proponer el mecanismo de partición junto con la interacción ion-dipolo para la adsorción de AFB1.

- Las bentonitas naturales y modificadas del presente trabajo se utilizaran en ensayos *in vivo* (pollos y cerdos) como adsorbentes de micotoxinas AFB1.

- Proyecciones:
 - Realizar ensayos con diferentes concentraciones de AFB1 y de dosajes de bentonitas naturales y modificadas a fin de encontrar las condiciones óptimas para la formulación de alimentos.
 - Realizar ensayos de desorción de AFB1 bajo diferentes condiciones experimentales: fuerza iónica, temperatura, valores de pH.
 - Ensayos *in vivo* con las bentonitas naturales y modificadas del presente trabajo a cargo Dra. Lilia Cavaglieri, Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad Nacional de Río Cuarto.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abbes, S., Salah-Abbes, J.B., Hetta, M.M., Ibrahim, M., Abdel-Wahhab, M.A., Bacha, H., Oueslati, R., 2008. Efficacy of Tunisian montmorillonite for in vitro aflatoxin binding and in vivo amelioration of physiological alterations. *Appl. Clay Sci.* 42, 151–157.
- Altin, O., Ozberge, O., Dogu, T., 1999. Effect of pH in an aqueous medium, on the surface area, pore size distribution, density and porosity of montmorillonite. *J. Colloid Interface Sci.* 217, 19–27.
- Anderson, S.J., Sposito, G., 1991. Cesium adsorption method for measuring accessible structural surface charge. *Soil Science Society of America Journal*, 55, 1569-1576.
- Anirudhan T.S., Ramachandran M., 2015. Adsorptive removal of basic dyes from aqueous solutions by surfactant modified bentonite clay (organoclay): Kinetic and competitive adsorption isotherm, *Process Safety and Environmental Protection*, Volume 95, Pages 215-225, ISSN 0957-5820.
- Arvide, M.G.T., Mulder, I., Velanquez, A.L.B., Dixon, J.B., 2008. Smectite clay adsorption of aflatoxin vs. octahedral composition as indicated by ftir. *Clay Clay Miner.* 56, 571–578.
- Asao, T., Buechi, G., Abdel-Kader, M.M., Chang, S.B., Wick, E.L., Wogan, G.N., 1965. The structures of aflatoxin B1 and G1. *J. Am. Chem. Soc.* 87, 882–886.
- ASTM Standard D5890-11, 2011. Standard Test Method for Swell Index of Clay Mineral Component of Geosynthetic Clay Liners.
- Aylmore, L. A. G., Quirk, J. P., & Sills, I. D., 1969. Effects of heating on the swelling of clay minerals. *Highway Res. Board Special Rep*, 103, 31-38.
- Baglieri, A., Reyneri, A., Gennari, M., & Nègre, M., 2013. Organically modified clays as binders of fumonisins in feedstocks. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(9), 776-783.
- Bailey, R. H., Kubena, L. F., Harvey, R. B., Buckley, S. A., & Rottinghaus, G. E., 1998. Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. *Poultry Science*, 77(11), 1623-1630.
- Bergaya, F., Theng, B. K. G., Lagaly, G., 2006. Handbook of clay science. Editor(s): Faïza Bergaya, Benny K.G. Theng, Gerhard Lagaly. In *Developments in Clay Science*, Elsevier, Volume 1, Pages 1-18, ISSN 1572-4352, ISBN 9780080441832.

- Berthiller, F., Schuhmacher, R., Adam, G., Krska, R., 2009. Formation, determination and significance of masked and other conjugated mycotoxins. Volume 395, Issue 5, pp 1243–1252.
- Bishop, J., Madejova, J., Komadel, P. and Froschl, H., 2002. The influence of structural Fe, Al and Mg on the infrared OH bands in spectra of dioctahedral smectites. *Clay Minerals*, 37, 607-616.
- Boyd, S.A., Mortland, M.M., Chiou, C.T., 1988. Sorption characteristics of organic compounds on hexadecyltrimethylammonium-smectite. *Soil Science Society of America Journal* 52, 652–657.
- Brigatti, M. F. y Poppi, L., 1981. A mathematical model to distinguish the members of the dioctahedral smectite series. *Clay Minerals*, 16(1), 81.
- Brigatti, M.F., Galan, E., Theng, B., 2006. Structures and mineralogy of clay minerals. En: Bergaya, F., Theng, B.K. Lagaly, G. (eds). *Handbook of Clay Science*. 1° ed, Elsevier, Oxford, 19-86.
- Brindley, G. W., Brown, G (Eds.), 1980. Crystal structures of clay minerals and their X-ray identification (Vol. 5, pp. 305-360). London: Mineralogical Society.
- Buchi, G., Foulkes, D.M., Kurono, M., Mitchell, G.F., Schneider, R.S., 1967. The total synthesis of racemic aflatoxin B1. *J. Am. Chem. Soc.* 89, 6745–6753.
- Carter, D. L., Mortland, M. M., Kemper, W. D., 1986. Specific surface. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 413-423.
- Carver, J., 1971. *Procedures in sedimentary petrology*. Ed. Wiley & Sons. 645pp.
- Carrillo, L., Audisio, M. C., & Bejarano, N., 2007. *Manual de Microbiología de los Alimentos*. Jujuy, 10, 102-116.
- Changchaivong S., Khaodhiar S., 2009. Adsorption of naphthalene and phenanthrene on dodecylpyridinium-modified bentonite, *Appl. Clay Sci.* 43, 317–321.
- Chansiripornchal, P., Fink-Gremmels, J., 2004. Evaluation of the Aflatoxin B1 adsorption capacity of Bentonite using an in vitro method mimicking monogastric gastro-intestinal tract conditions. *Thai J. Vet. Med.* 23, 357–360.
- Chorover J., Sposito G., 1995. Surface charge characteristics of kaolinite tropical soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59, 875-884.
- CMS Nomenclature 2017/2018. Committee: Stephen Guggenheim (Chair), Y. Deng, J. Greathouse, J. Stucki (ex officio member), L. Williams, G. Zhang.

- Coates, J., 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. Pp. 10815_10837 in: Encyclopedia of Analytical Chemistry (R.A. Meyers, editor). John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.
- Daković, A., Matijasevic, S., Rottinghaus, G.E., Ledoux, D.R., Butkeraitis, P., Sekulic, Z., 2008. Aflatoxin B(1) adsorption by natural and copper modified montmorillonite. *Colloids Surf. B* 66, 20–25.
- Dalcero, A. M., Magnoli, C., Chiacchiera, S., Palacios, G., Reynoso, M., 1997. Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*; 137: 179–184.
- De Paiva, L. B., Morales, A. R., & Díaz, F. R. V., 2008. Organoclays: properties, preparation and applications. *Applied clay science*, 42(1-2), 8-24.
- Deng Y., Velázquez A.L.B., Billes F., Dixon J.B., 2010. Bonding mechanisms between aflatoxin B1 and smectite, *Appl. Clay Sci.* 50, 92–98.
- Desheng, Q., Fan, L., Yanhu, Y., & Niya, Z., 2005. Adsorption of aflatoxin B1 on montmorillonite. *Poultry Science*, 84(6), 959-961.
- Diaz, D.E., Hagler, W. M., Blackwelder, J. T., Eve, J. A., Hopkins, B. A., Anderson, K. L., Jones, F. T., Whitlow, L. W., 2004. Aflatoxin binders II: reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia* 157, 233–241.
- Ding, W., Gu, G., Zhong, W., Zang, W.-C., Du, Y., 1996. Enhanced photoluminescence of C60 incorporated into interlayers of hydrotalcite. *Chemical Physics Letters* 262, 259–262.
- Dixon, J. B., Kannewischer, I., Tenorio Arvide, M. G., Berrientos Velazquez, A. L., 2008. Aflatoxin sequestration in animal feeds by quality-labeled smectite clays: an introductory plan. *Appl. Clay Sci.* 40, 201–208.
- Eckhardt, J. C., Santurio, J. M., Zanette, R. A., Rosa, A. P., Scher, A., Pozzo, M. D., Alves, S. H., Ferreira, L., 2014. Efficacy of a Brazilian calcium montmorillonite against toxic effects of dietary aflatoxins on broilers reared to market weight. *Br. Poult. Sci.* 55, 215–220.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), 2011. Scientific Opinion on the safety and efficacy of bentonite (dioctahedral montmorillonite) as feed additive for all species. *EFSA Journal* 9(2):2007. 24 pp.
- Elemen, S., Kumbasar, E. P. A., & Yapar, S., 2012. Modeling the adsorption of textile dye on organoclay using an artificial neural network. *Dyes and Pigments*, 95(1), 102-111.

- Farmer, V.C., 1979. Infrared spectroscopy. En: Van Olphen, H. y Fripiat, J.J.(eds). Data handbook for clay materials and other non-metallic Minerals. Pergamon Press, Oxford, UK, 285-337.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004.
- Girona, A., Giménez, E., 1997. Adsorción in vitro de aflatoxinas mediante la utilización de compuestos adsorbentes: Montmorillonita. *Rev. Iberoam. Micolo*, 14, 72-77.
- Grim, R.E., Kulbicki, G., 1961. Montmorillonite: high temperature reactions and classification. *American Mineralogist* 46, 1329–1369.
- Grim, R.E., 1962. *Applied Clay Mineralogy*. McGraw-Hill, New York.
- Grim, R.E., 1968. *Clay Mineralogy*, 2nd edition. McGraw-Hill, New York.
- Grim, R. E. y Guven, N., 1978. Bentonites. *Geology, Mineralogy, Properties and uses. Developments in sedimentology*, 24. Oxford, New York. 249 - 596pp.
- Guggenheim, S., y Martin, R.T., 1995. Definition of clay and clay mineral: joint report of the AIPEA nomenclature and CMS nomenclature committees. *Clays and Clay Minerals* 43 (2): 255–56.
- Guggenheim, S., & Van Groos, A. K., 2001. Baseline studies of the clay minerals society source clays: thermal analysis. *Clays and Clay Minerals*, 49(5), 433-443.
- Güven, N., 1988. Smectites. In S.W. Bailey, Ed., *Hydrous Phyllosilicates (exclusive of micas)*, *Reviews in Mineralogy*, 19, p. 497–559. Mineralogical Society of America, Washington, D.C.
- He, H., Galy, J., & Gerard, J. F., 2005. Molecular simulation of the interlayer structure and the mobility of alkyl chains in HDTMA+/montmorillonite hybrids. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(27), 13301-13306.
- Heathcote, J. G., Hibbert, J. R., 1978. *Aflatoxins: Chemical and Biological Aspect*. Elsevier, New York, pp. 173–186.
- Ikhtiyarova G. A., Ozcan A. S., Gok O., Ozcan A., 2012. Characterization of natural and organo-bentonite by XRD, SEM, FT-IR and thermal analysis techniques and its adsorption behaviour in aqueous solutions, *Clay Miner.* 47, 31–44.
- Instituto Nacional de Tecnología Industrial(INTI)

- Jasmund, K., y Lagaly, G., 1993. Clay minerals and clays. Structure, properties, application and use in industry and the environment. Steinkopff, Darmstadt, 2, 1.
- Jaynes, W. F.; Boyd, S. A., 1990. Trimethylphenylammonium-smectite as an effective adsorbent of water soluble aromatic hydrocarbons. *J. Air Waste Manag. Assoc.*, 40, 1649–1653.
- Jaynes, W. F., Zartman, R. E., & Hudnall, W. H., 2007. Aflatoxin B1 adsorption by clays from water and corn meal. *Applied Clay Science*, 36(1-3), 197-205.
- Jaynes, W. F. y Zartman, R. E., 2011. Aflatoxin toxicity reduction in feed by enhanced binding to surface-modified clay additives. *Toxins*, 3(6), 551-565.
- Jones, T.R., 1983. The properties and uses of clays which swell in organic solvents. *Clay Minerals* 18, 399–410.
- Jordan, J.W., 1950. Organophilic bentonites 1. Swelling in organic liquids. *The Journal of Physical and Colloid Chemistry* 54, 294–306.
- Kannewischer, I., Tenorio, A.M.G., White, G.N., Dixon, J.B., 2006. Smectite clays as adsorbents of aflatoxin B1: initial steps. *Clay Sci.* 12 (Supplement 2), 199–204.
- Kang, F., Ge, Y., Hu, X., Goikavi, C., Waigi, M. G., Gao, Y., & Ling, W., 2016. Understanding the sorption mechanisms of aflatoxin B1 to kaolinite, illite, and smectite clays via a comparative computational study. *Journal of hazardous materials*, 320, 80-87.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Bailey, R. H., Buckley, S. A., & Rottinghaus, G. E., 1998. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens. *Poultry Science*, 77(10), 1502-1509.
- Lacy A., O’Kennedy R., 2004. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer, *Curr. Pharm. Design.* 10, 3797–3811.
- Lagaly, G., Witter, R., Sander, H., 1983. Water on hydrophobic surfaces. In: Ottewill, R.H., Rochester, C.H., Smith, A.L. (Eds.), *Adsorption from Solution*. Academic Press, London, pp. 65–77.
- Lagaly, G., 1984. Clay–organic interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 311, 315–332.
- Lagaly, G., 1987. Water and solvents on surfaces bristling with alkyl chains. In: Kleeberg, H. (Ed.), *Interactions of Water in Ionic and Nonionic Hydrates*. Springer, Berlin, pp. 229–240.

- Lagaly, G., 1993. From clay mineral crystals to colloidal clay mineral dispersions. In: Dobias', B. (Ed.), *Coagulation and Flocculation. Theory and Applications*. Marcel Dekker, New York, pp. 427–494.
- Lagaly, G., Schulz, O., Zimehl, R., 1997. *Dispersionen und Emulsionen. Eine Einführung in die Kolloidik feinverteilter Stoffe einschließlich der Tonminerale. Mit einem historischen Beitrag über Kolloidwissenschaftler von Klaus Beneke*. Steinkopff Verlag, Darmstadt.
- Li, Y., Tian, G., Dong, G., Bai, S., Han, X., Liang, J., Zhang, H., 2018. Research progress on the raw and modified montmorillonites as adsorbents for mycotoxins: A review. *Applied Clay Science*.
- MacEwan, D.M.C., Wilson, M.J., 1980. Interlayer and intercalation complexes of clay minerals. In: Brindley, G.W., Brown, G. (eds.), *Crystal Structures of Clay Minerals and Their X-ray Identification*. Mineralogical Society, London, 197–248.
- Maes, A., Stuhl, M.S., and Cremers, A., 1979. Layer charge cation exchange capacity relationships in montmorillonite. *Clay and Clay Minerals*, 27, 387-392.
- Magnoli, C., Dalcerro, A.M., Chiacchiera, S.M., Miazzo, R., Saenz, M.A., 1998. Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. *Mycopathologia* 142, 27–32.
- Magnoli, A. P., Tallone, L., Rosa, C. A. R., Dalcerro, A. M., Chiacchiera, S. M., Sanchez, R. M. T., 2008. Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. *Appl. Clay Sci.* 40, 63–71.
- Magnoli AP, Monge MP, Miazzo RD, Cavaglieri LR, Magnoli CE, Merkis CI, Cristofolini AL, Dalcerro AM, Chiacchiera SM. 2011a. Effect of low levels of aflatoxin B1 on performance, biochemical parameters, and aflatoxin B1 in broiler liver tissues in the presence of monensin and sodium bentonite. *Poultry Sci.* 90:48–58.
- Magnoli AP, Texeira M, Rosa CAR, Miazzo RD, Cavaglieri LR, Magnoli CE, Dalcerro AM, Chiacchiera SM. 2011b. Sodium bentonite and monensin under chronic aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Sci.* 90:352–357.
- Magnoli AP, Alonso VA, Cavaglieri LR, Dalcerro AM, Chiacchiera SM., 2013. Effect of monogastric and ruminant gastrointestinal conditions on in vitro aflatoxin B1 adsorption ability by a montmorillonite. *Food Addit Contam: Part A.* 30:743–749.

- McLean M., Dutton M. F., 1995. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: An update, In *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 65, Issue 2, Pages 163-192, ISSN 0163-7258.
- Meier, L. y Kahr, G., 1999. Determination of the cation exchange capacity (CEC) of clay minerals using the complexes of copper(II) ion with triethylenetetramine and tetraethylenepentamine. *Clays and Clay Minerals*, 47(3): 386-388.
- Moore, D. M., Reynolds, R. C., 1997. *X-Ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*. 2 Ed. Oxford Univ. Press. NY, 378 pp.
- Moreira Toja, R. J., 2016. Propiedades de una bentonita industrial nacional y su caracterización estructural basada en absorción y difracción de rayos X (XANES Y DRX). Trabajo final de grado. Universidad Nacional de La Plata. 79pp.
- Musso, T. B., Silva, G., Vallés, J., Pettinari, G., Di Nardo, L., Roehl, K., 2009. "Bentonites from Northpatagonia to be used in compacted clayliners". XIV International Clay Conference. 14 al 20 de Junio de 2009. Castellaneta Marina, Italia. ISBN: 978-88-7522-027-3.
- Musso T. B., Roehl, K., Pettinari, G., Vallés, J., 2010. Assesment of smectite-rich claystones from Northpatagonia for their use as liner materials in landfills. *Applied Clay Science*. Volumen 48, Número 3, Abril de 2010. ISSN: 0169-1317.
- Musso T. B, Francisca., F. M., Parolo M. E., Roehl K. E., 2013. Potential Use of calcareusmudstones from North Patagonia Argentina in low hydraulic conductivityearthen barriers, *Environ. Technol.* 34 (17), 2465–2476.
- Newman, A.C., 1987, (Ed.). *Chemistry of Clays and Clay Minerals*. Mineralogical Society Monograph N° 6. Longman Scient. & Technical, 480 pp.
- Nakamoto K., 1963: "Infrared Spectra of Inorganic and Coordinated Compounds." New York: John Wiley & Sons.
- Nones, J., Nones, J., Riella, H. G., Poli, A., Trentin, A. G., & Kuhnen, N. C., 2015. Thermal treatment of bentonite reduces aflatoxin b1 adsorption and affects stem cell death. *Materials Science and Engineering: C*, 55, 530-537.
- Nones, J., Nones, J., Poli, A., Trentin, A. G., Riella, H. G., & Kuhnen, N. C., 2016. Organophilic treatments of bentonite increase the adsorption of aflatoxin B1 and protect stem cells against cellular damage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145, 555-561.

- Nuryono, N., Agus, A., Wedhastri, S., Maryudhani, Y.M.S., Pranowo, D., Yuniato, Razzazi-Fazeli, 2012. Adsorption of Aflatoxin B1 in corn on natural zeolite and bentonite. *Indo. J. Chem.* 12, 279–286.
- Odom I. E. 1984. Smectite Clay Minerals: Properties and Uses. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*.
- Palin, E. J., Dove, M. T., Sainz-Díaz, C. I., Hernández-Laguna, A., 2014. A computational investigation of the Al/Fe/Mg order-disorder behaviour in the dioctahedral sheet of phyllosilicates. *American Mineralogist* 89, 165-176.
- Park Y., Ayoko G., Frost R., 2011. Application of organoclays for the adsorption of recalcitrant organic molecules from aqueous media, *J. Colloid Interface Sci.* 354, 292–305.
- Parolo, M. E., Pettinari, G., Musso, T. B., Sanchez-Izquierdo, M.P., Fernandez, L., 2014. Characterization of Organo-Modified Bentonite Sorbents: The Effect of Modification Conditions on Adsorption Performance. *Applied Surface Science.* 320: 356-363. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.09.105.
- Pavao, A.C., Neto, L.A.S., Neto, J.F., and Leao, M.B.C., 1995. Structure and activity of aflatoxins B and G. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 337, 57_60.
- Pappas, A.C., Tsiplakou, E., Georgiadou, M., Anagnostopoulos, C., Markoglou, A.N., Liapis, K., Zervas, G., 2014. Bentonite binders in the presence of mycotoxins: results of in vitro preliminary tests and an in vivo broiler trial. *Appl. Clay Sci.* 99, 48–53.
- Phillips, T. D., Sarr, A. B., Grant, P. G., 1995. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. *Nat. Toxins* 3 (4), 204–213.
- Phillips, T. D., Lemke, S. L., Grant, P. G., 2002. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. *Mycotoxins and Food Safety*. Vol. 504 of *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Kluwer Academic/Plenum Publ, pp. 157–171.
- Phillips, T.D., Afriyie-Gyawu, E., Wang, J.S., Williams, J., Huebner, H., 2006. *The Potential of Aflatoxin Sequestering Clay*.
- Pignatelli, F., 2018. Geología, estimación de reservas y caracterización de arcillas expansivas de la Fm. Cerro Bandera (Oligoceno superior-Mioceno inferior), asociadas a depósitos de bentonitas comerciales de la meseta de la Barda Negra.
- Pimpukdee, K. L. F. K., Kubena, L. F., Bailey, C. A., Huebner, H. J., Afriyie-Gyawu, E., & Phillips, T. D., 2004. Aflatoxin-induced toxicity and depletion of hepatic vitamin A in young broiler

- chicks: Protection of chicks in the presence of low levels of NovaSil PLUS in the diet. *Poultry science*, 83(5), 737-744.
- Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003 (© FAO 2004).
- Ramos, A. J., Fink-Gremmels, J., Hernández, E., 1996a. Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *Journal of Food Protection* 59, 631–641.
- Ramos, A. J., Hernandez, E., Pla-Delfina, J. M., Merino, M., 1996b. Intestinal absorption of zearalenone and in vitro study of nonnutritive sorbent materials. *International Journal of Pharmacology* 128, 129–137.
- Rosa, C. A. R., Miazzi, R., Magnoli, C., Salvano, M., Chiacchiera, S. M., Ferrero, S., Saenz, M., Carvalho, E. C. Q., Dalcerro, A., 2001. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poultry Sci.* 80, 139–144.
- Sarkar, B., Megharaj, M., Shanmuganathan, D., Naidu, R., 2013. Toxicity of organoclays to microbial processes and earthworm survival in soils. *Journal of hazardous materials*, 261, 793-800.
- Schampera, B., Šolc, R., Tunega, D., & Dultz, S., 2016. Experimental and molecular dynamics study on anion diffusion in organically modified bentonite. *Applied Clay Science*, 120, 91-100.
- Schroth B. K., Sposito G., 1997. Surface charge properties of kaolinite. *Clays and Clay Minerals*, 45, 85-91.
- Schultz, L.G., 1964. Quantitative interpretation of mineralogical composition from X-ray and chemical data for the Pierre Shale. *US Geological Survey Professional Paper*, 391: 1-31.
- Schultz, L.G., 1969. Lithium and potassium absorption, dehydroxylation temperature and structural water content of aluminous smectites. *Clays and Clay Minerals* 17, 115–149.
- Stumm W y Morgan J., 1981. *Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*. New York: Wiley-Interscience. 780p.
- Suquet, H., Pezerat, H., 1987. Parameters influencing layer stacking types in saponite and vermiculite: a review. *Clays and Clay Minerals* 35,353–362.
- Theng, B.K.G., 1974. *The Chemistry of Clay–Organic Reactions*. Adam Hilger, London.
- Trucksess M. W., Stack M. E., Nesheim S., Albert R., Romer T., 1994. Multifunctional column coupled with liquid chromatography for determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in

- corn, almonds. Brazil nuts, peanuts, and pistachio nuts: collaborative study. *J AOAC Int* 77:1512 – 1521.
- Urbanek, R., 1997. Syntheses and mechanistic studies of the potent mycotoxin aflatoxin B1. Student seminar program for organic and biological specialty areas. Department of Chemistry, University of Minnesota, USA.
- Vaia R., Teukolsky R., Giannelis E., 1994. Interlayer structure and molecular environment of alkylammonium layered silicates, *Chem. Mater.* 6, 1017–1022.
- Van Rensburg C. Jansen, Van Rensburg C. E. J., Van Ryssen J. B. J, Casey N. H., Rottinghaus G. E., 2006. In Vitro and In Vivo Assessment of Humic Acid as an Aflatoxin Binder in Broiler Chickens, *Poultry Science*, Volume 85, Issue 9, Pages 1576–1583.
- Vekiru, E., Fruhauf, S., Sahin, M., Ottner, F., Schatzmayr, G., Krska, R., 2007. Investigation of various adsorbents for their ability to bind aflatoxin B1. *Mycotoxin Res.* 23, 27–33.
- Wang K. H., Choi M. H., Koo C. M., Choi C. M., Chung I. J., 2001. Synthesis and characterization of maleated polyethylene/clay nano-composites, *Polymer* 42, 9819–9826.
- Wang, G., Miao, Y., Sun, Z., & Zheng, S., 2018. Simultaneous adsorption of aflatoxin B1 and zearalenone by mono- and di-alkyl cationic surfactants modified montmorillonites. *Journal of colloid and interface science*, 511, 67-76.
- Weiss, A., 1958. Ueber das Kationenaustauschvermögen der Tonminerale. II. Kationenaustausch bei den Mineralen der Glimmer-, Vermiculit- und Montmorillonitgruppe. *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie* 297, 257–286.
- Weiss, A., 1966. Modellversuche zur Hydrophobierung hydrophiler Grenzflächen von Schichtsilicaten. *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere* 211, 94–97.
- Wong J. J., Hsieh D., 1976. Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 73, 2241–2244.
- Xi, Y., Frost, R. L., He, H., Klopogge, T., & Bostrom, T., 2005. Modification of Wyoming montmorillonite surfaces using a cationic surfactant. *Langmuir*, 21(19), 8675-8680.
- Yu, W. H., Ren, Q. Q., Tong, D. S., Zhou, C. H., & Wang, H., 2014. Clean production of CTAB-montmorillonite: formation mechanism and swelling behavior in xylene. *Applied Clay Science*, 97, 222-234.
- Zeng, L., Wang, S., 2013. Adsorption of zearalenone by montmorillonite. *Adv. Mater. Res.* 683, 343–347.

- Zhu L., Ren X., Ku S., 1998. Use of cetyltrimethylammonium bromide-bentonite to remove organic contaminants of varying polar character from water, *Environ.Sci. Technol.* 23, 3374–3378.
- Zhu J., Wang T., Zhu R., Ge F., Yuan P., He H., 2001. Expansion characteristics of organomontmorillonites during the intercalation, aging, drying and rehydration processes: effect of surfactant/CEC ratio, *Colloid Surf. A* 384, 401–407.
- Zhu, L. Z., Su, Y. H., 2002. Benzene vapor sorption by organobentonites from ambient air. *Clays and Clay Minerals* 50, 421–427.
- Zhu, J., He, H., Guo, J., Yang, D., & Xie, X., 2003. Arrangement models of alkylammonium cations in the interlayer of HDTMA⁺ pillared montmorillonites. *Chinese Science Bulletin*, 48(4), 368-372.
- Zhu J., He H., Zhu L., Wen X., Deng F., 2005. Characterization of organic phases in the interlayer of montmorillonite using FTIR and C NMR, *J. Colloid Interface Sci.* 286, 239–244.
- Zhu L., Ruan X., Chen B., Zhu R., 2008. Efficient removal and mechanisms of water soluble aromatic contaminants by a reduced-charge bentonite modified with benzyltrimethylammonium cation, *Chemosphere* 70, 1987–1994.

7. ANEXO

Tabla 17: Resultados obtenidos de la espectroscopia infrarroja para las muestras naturales, mineral de arcilla y modificadas.

Muestra	Especificación	Bandas (cm ⁻¹)	Asignación
CATAE	Total	3632	Tensión –OH estructural
		3445	Tensión –OH de agua
		1636	Deformación –OH de agua
		1035	Tensión Si-O
		908	Deformación AlAlOH
		833	Deformación AlMgOH
		527	Deformación Al-O-Si
	ORGANO	3632	Tensión –OH estructural
		3445	Tensión –OH de agua
		2925	Estiramiento asimétrico de $\nu_{as}(CH_2)$
		2842	Estiramiento simétrico $\nu_s(CH_2)$
		1636	Deformación –OH de agua
		1480	Vibraciones de flexión –CH ₂
		1035	Tensión Si-O
		908	Deformación AlAlOH
		878	Vibraciones estructurales de flexión de OH para AlFe ³⁺ OH
		833	Deformación AlMgOH
		791	Tensión Si-O de cuarzo
		716	Oscilaciones –CH ₂
		628	complejos Al-O y Si-O fuera del plano
527	Deformación Al-O-Si		
BN	Total y <2 μ m	3624	Tensión –OH estructural
		3429	Tensión –OH de agua
		1642	Deformación –OH de agua
		1048	Tensión Si-O
		878	Vibraciones estructurales de flexión de OH para AlFe ³⁺ OH
		781	Tensión SI-O de cuarzo
		531	Deformación Al-O-Si
	ORGANO	3624	Tensión –OH estructural
		3429	Tensión –OH de agua
		2911	Estiramiento asimétrico de $\nu_{as}(CH_2)$
		2854	Estiramiento simétrico $\nu_s(CH_2)$
		1642	Deformación –OH de agua
		1477	Vibraciones de flexión CH ₂
		1048	Tensión Si-O
		878	Vibraciones estructurales de flexión de OH para AlFe ³⁺ OH
		781	Tensión Si-O de cuarzo
		717	Oscilaciones –CH ₂
		531	Deformación Al-O-Si
		BC	Total

	y <2µm	3428	Tensión –OH de agua
		1640	Deformación –OH de agua
		1049	Tensión Si-O
		915	Deformación AlAlOH
		834	Deformación AlMgOH
		796	Tensión Si-O de cuarzo
		514	Deformación Al-O-Si
	ORGANO	3621	Tensión –OH estructural
		3428	Tensión –OH de agua
		3020	
		2919	Estiramiento asimétrico de $\nu_{as}(CH_2)$
		2845	Estiramiento simétrico $\nu_s(CH_2)$
		1640	Deformación –OH de agua
		1466	Vibraciones de flexión –CH2
		1049	Tensión Si-O
		915	Deformación AlAlOH
		834	Deformación AlMgOH
		796	Tensión Si-O de cuarzo
		718	Oscilaciones –CH2
618	complejos Al-O y Si-O fuera del plano		
514	Deformación Al-O-Si		
BA	Total y <2µm	3626	Tensión –OH estructural
		3429	Tensión –OH de agua
		1640	Deformación –OH de agua
		1035	Tensión Si-O
		906	Deformación AlAlOH
		784	Tensión Si-O de cuarzo
		523	Deformación Al-O-Si
	ORGANO	3626	Tensión –OH estructural
		3429	Tensión –OH de agua
		2926	Estiramiento asimétrico de $\nu_{as}(CH_2)$
		2852	Estiramiento simétrico $\nu_s(CH_2)$
		1640	Deformación –OH de agua
		1472	Vibraciones de flexión –CH2
		1035	Tensión Si-O
		906	Deformación AlAlOH
		845	Deformación AlMgOH
		789	Tensión Si-O de cuarzo
		725	Oscilaciones –CH2
		620	complejos Al-O y Si-O fuera del plano
523	Deformación Al-O-Si		