



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

(QUÍMICA ANALÍTICA / KIMIKA ANALITIKOA)

MICROENCAPSULACIÓN DE BIOCIDAS

Memoria presentada para optar al grado
de Doctor en Ciencias Químicas

Mariluz Alonso Alonso

(Directoras: Rosa M^a Jiménez Sanz y Rosa M^a Alonso Rojas)

Febrero 2011

Capítulo I:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Capítulo 1 - Introducción y objetivos

1.Introducción.....	1
1.1.Biocidas en el Control de Plagas.....	1
Mosca domestica.....	2
Biocidas.....	3
Control de plagas.....	8
1.2.Clasificación de los insecticidas.....	12
1.3.Microencapsulación.....	25
1.3.1. Agentes encapsulantes.....	29
1.3.2. Ciclodextrinas.....	33
1.3.3. Aplicaciones de la microencapsulación con CDs.....	39
1.4. Objetivo.....	42

1.INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 BIOCIDAS EN EL CONTROL DE PLAGAS

El concepto de plaga ha sufrido una evolución importante a lo largo de la historia; desde una visión tradicional, donde cualquier animal que pudiera ocasionar alguna molestia era considerado como tal, a un concepto más respetuoso donde la plaga se centra en el efecto del animal y no en el animal per se¹.

La Organización de Administración de Alimentos (FAO)² define como *plaga* a todos aquellos animales que compiten con el hombre en la búsqueda de agua y alimentos, invadiendo los espacios en los que se desarrollan las actividades humanas. Las plagas con las que la humanidad ha convivido son de naturaleza muy variada. De los distintos tipos, dos son los que más preocupación despiertan en la población, las plagas médicas y las plagas en la agricultura y ganadería.

Según el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino de España, las plagas más comunes en agricultura y ganadería son: roedores e *insectos*.

Dentro de las especies animales cuyos efectos pueden considerarse como plaga, los insectos ocupan un lugar prioritario por su gran diversidad y por la proximidad de determinadas especies a los entornos domésticos (sinantropía). El número de especies de insectos voladores es elevado, entre estas especies se incluyen: libélulas, escarabajos, abejas, avispas, moscas, mosquitos, etc... Muchas de ellas son beneficiosas para nuestros intereses, como es el caso de las abejas que llevan a cabo la polinización de las flores y plantas, o de las libélulas que reducen la población de insectos molestos. Sin embargo, son numerosas las especies que generan graves problemas económicos y sanitarios como los mosquitos (Culicidae), y las moscas (Muscidae entre otras) que con su amplio espectro de

¹Huffaker CB. The future of integrated pest management. Journal of Environmental Agency, 1978; 4(3): 37-39.

²FAO. Código Internacional de Conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma 1986.

distribución y capacidad de adaptación, están presentes en todos los hábitat terrestres, tanto urbanos como naturales.

Las moscas son capaces de contaminar e inutilizar grandes cantidades de alimentos, implicando importantes pérdidas económicas y pueden ser las responsables de un gran número de afecciones, tanto en el hombre como en los animales, debidas a diferentes agentes tales como bacterias, virus y protozoos.

Esta memoria está preferentemente enfocada al control de la *Musca domestica* en zonas domésticas y del sector ganadero.

MOSCA DOMÉSTICA

Las moscas poseen un cuerpo con cabeza, tórax y abdomen, dos alas completamente formadas, ojos compuestos por cientos de facetas sensibles a la luz individualmente, y piezas bucales adaptadas para succionar, lamer o perforar³. Algunas moscas son capaces de morder y muchas especies pican y succionan sangre, causando graves molestias además de transmitir enfermedades graves. Su ciclo de vida es muy breve (de unos pocos días a uno o dos meses, según especies) y está compuesto de cuatro fases morfológicas: el huevo, la larva y la pupa, de la que emerge el adulto⁴, Figura 1.1.

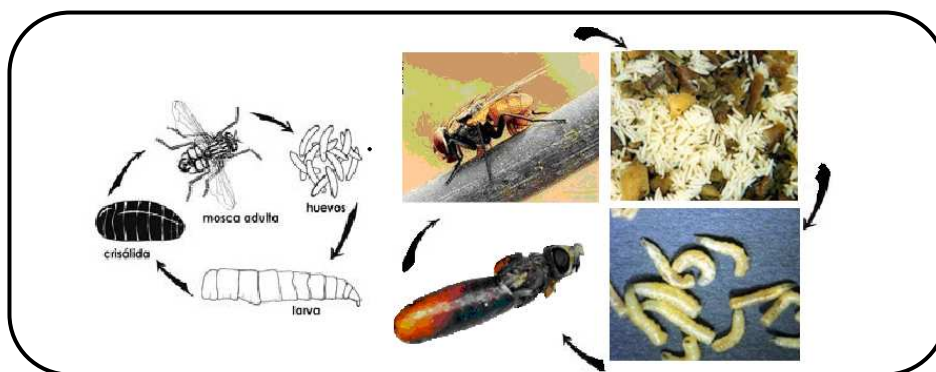


Fig. 1.1. Ciclo de vida de una mosca doméstica y fotografías reales de las cuatro fases morfológicas.

Las larvas se desarrollan en materia orgánica en descomposición, basura y estiércol, constituyendo este último un excelente medio natural de crianza. Los adultos se alimentan de líquidos azucarados como leche, fruta, gránulos de azúcar o sólidos previamente disueltos con su saliva. Las moscas no son hematófagas, pero sí se alimentan de pequeñas

³Moon RD. Muscid Flies (Muscidae). Medical and Veterinary Entomology, 2007; 14: 279-301.

⁴Aizawa M., Yoshino H. Studies on the circadian rhythm of eclosion in *Musca domestica*. Proceeding of the Japan Academy Series B-Physical and Biological Sciences, 2001; 77(10): 191-196.

heridas de hombres y animales y de secreciones naturales de ojos, nariz y boca. Para conseguir alimento someten a sus víctimas a un acoso continuo, obligándoles a gastar un gran tiempo y esfuerzo en evitar sus molestias. En el caso de los animales de granja, la acción de las moscas causa un gran estrés en los animales que se traduce en una disminución en el rendimiento ganadero, no sólo derivado de las enfermedades que pueden transmitir, sino también del esfuerzo continuo por librarse de ellas⁵.

Aunque las moscas poseen un importante papel porque participan en la eliminación de cadáveres de animales, en la producción de *compost*, en la polinización, o porque sirven como presa para otros animales, como arácnidos, reptiles, anfibios....., suponen un grave problema en la transmisión de enfermedades. A lo largo de su vida, pueden transmitir microorganismos patógenos (bacterias, virus, hongos...) procedentes de materiales fecales o tejido en descomposición, de los que se alimentan y donde hacen la puesta de huevos, provocando diferentes enfermedades como la diarrea infantil, salmonelosis, disentería, cólera, meningitis, hepatitis, poliomielitis, tuberculosis, entre otras, que pueden afectar a las personas y a los animales⁶. Esta es una de las razones principales por la que es necesario un estricto control de la higiene en explotaciones lecheras, porcinas o aviares.

BIOCIDAS

A lo largo de los tiempos, la tendencia seguida para el control de plagas ha sido la de utilizar cada vez más cantidad de sustancias activas o sustituirlas por otras con mayor actividad⁷.

El uso indiscriminado de estas sustancias activas a lo largo del siglo XX derivó en graves problemas de salud a nivel humano, animal y ambiental, lo que obligó a regular su empleo prevaleciendo la prevención frente a la erradicación⁸.

Según la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de febrero de 1998, se denominan *Biocidas* a aquellas sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas, presentados en la forma en que son suministrados al usuario, destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos.

⁵Aizawa M., Yoshino H. Studies on the circadian rhythm of eclosion in *Musca domestica*. Proceeding of the Japan Academy Series B-physical and Biological Sciences, 2001; 77 (10): 191-196.

⁶Fotedar R. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) in the transmission of *Vibrio cholerae* in India. Acta Tropica, 2001; 15: 31-34.

⁷Morell I., Candela L. (eds.) Plaguicidas: aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos, 1998, Universidad Jaume I, Castellón (España), pp. 9-25.

⁸Albert LA. Curso básico de toxicología ambiental, 2008, Limusa- Noriega (México), pp.143-206.

Dicha Directiva armoniza en el ámbito europeo la legislación sobre estos productos, estableciendo principios comunes de evaluación y autorización de biocidas evitando barreras económicas/administrativas. Esta Directiva, ha sido recientemente modificada por la Directiva 2009/107/CE y transpuesta al ordenamiento jurídico Español mediante el Real Decreto 1090/2010, del 15 de Septiembre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas.

Con este Real Decreto, se establecen 23 tipos de biocidas agrupados en 4 grupos principales:

Grupo principal 1: Desinfectantes y biocidas generales.

Estos tipos de productos excluyen los productos de limpieza que no persiguen un efecto biocida, incluidos los detergentes líquidos, en polvo y productos similares.

Tipo de producto 1.—Biocidas para la higiene humana.

Tipo de producto 2.—Desinfectantes utilizados en los ámbitos de la vida privada y de la salud pública y otros biocidas: productos empleados para la desinfección del aire, superficies, materiales, equipos y muebles que no se utilicen en contacto directo con alimentos o piensos en zonas de la esfera privada, pública e industrial, incluidos los hospitales, así como los productos empleados como alguicidas. Las zonas de utilización incluyen, entre otras, las piscinas, acuarios, aguas de baño y otras; sistemas de aire acondicionado; paredes y suelos de centros sanitarios y otras instituciones; aguas residuales, desechos de hospitales, tierra u otros sustratos (en las áreas de juegos).

Tipo de producto 3.—Biocidas para la higiene veterinaria, incluidos los productos empleados en las zonas en que se alojan, mantienen o transportan animales.

Tipo de producto 4.—Desinfectantes para las superficies que están en contacto con alimentos y piensos: productos empleados en la desinfección de equipos, recipientes, utensilios para consumo, superficies o tuberías relacionados con la producción, transporte, almacenamiento o consumo de alimentos, piensos o bebidas (incluida el agua potable) para seres humanos o animales.

Tipo de producto 5.—Desinfectantes para agua potable: productos empleados para la desinfección del agua potable (tanto para seres humanos como para animales).

Grupo principal 2: Conservantes.

Tipo de producto 6.—Conservantes para productos envasados: productos para la conservación de productos elaborados que no sean alimentos o piensos, dentro de recipientes, mediante el control del deterioro microbiano con el fin de prolongar su vida útil.

Tipo de producto 7.—Conservantes para películas o recubrimientos mediante el control del deterioro microbiano con el fin de proteger las propiedades iniciales de la superficie de los

materiales u objetos como pinturas, plásticos, selladores, adhesivos murales, cubiertas, papeles, obras de arte.

Tipo de producto 8.—Protectores para maderas: productos empleados, desde la fase del aserradero inclusive, o los productos derivados de la madera, mediante el control de los organismos que destruyen o alteran la misma. Se incluyen en este tipo de productos tanto los de carácter preventivo como curativo.

Tipo de producto 9.—Protectores de fibras, cuero, caucho y materiales polimerizados: productos empleados para la conservación de materiales fibrosos o polimerizados, como los productos de cuero, caucho, papel o textiles y la goma mediante el control del deterioro microbiano.

Tipo de producto 10.—Protectores de mampostería: productos empleados para la conservación y tratamiento reparador de los materiales de mampostería u otros materiales de construcción distintos de la madera mediante el control del deterioro microbiano y la afectación por algas.

Tipo de producto 11.—Protectores para líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y en procesos industriales: productos empleados para la conservación del agua u otros líquidos, mediante el control de los organismos nocivos, como microbios, algas y moluscos.

No se incluyen en este tipo de productos los empleados para la conservación del agua potable.

Tipo de producto 12.—Productos antimoho: productos empleados para la prevención o el control de la proliferación de mohos sobre los materiales, equipos y estructuras utilizados en procesos industriales, por ejemplo, sobre la madera y pulpa de papel, estratos de arena porosa en la extracción de petróleo.

Tipo de producto 13.—Protectores de líquidos de metalistería: productos empleados para la conservación de los líquidos de metalistería mediante el control del deterioro microbiano.

Grupo principal 3: Plaguicidas.

Tipo de producto 14.—Rodenticidas: productos empleados para el control de los ratones, ratas u otros roedores.

Tipo de producto 15.—Avicidas: productos empleados para el control de las aves.

Tipo de producto 16.—Molusquicidas: productos empleados para el control de los moluscos.

Tipo de producto 17.—Piscicidas: productos empleados para el control de los peces; se excluyen de estos productos los empleados para tratar las enfermedades de los peces.

Tipo de producto 18.—***Insecticidas, acaricidas y productos para controlar otros artrópodos: productos empleados para el control de los artrópodos (insectos, arácnidos, crustáceos, etc.).***

Tipo de producto 19.—Repelentes y atrayentes: productos empleados para el control de los organismos nocivos (invertebrados como las pulgas; vertebrados como las aves) mediante repulsión o atracción, incluidos los empleados, directa o indirectamente, para la higiene veterinaria o humana.

Grupo principal 4: Otros biocidas.

Tipo de producto 20.—Conservantes para alimentos o piensos: productos empleados para la conservación de alimentos o de piensos mediante el control de los organismos nocivos.

Tipo de producto 21.—Productos antiincrustantes: productos empleados para el control de la fijación y crecimiento de organismos incrustantes (microbios o formas superiores de especies animales o vegetales) en barcos, equipos de acuicultura u otras estructuras acuáticas.

Tipo de producto 22.—Líquidos para embalsamamiento y taxidermia: productos empleados para la desinfección y conservación de cadáveres animales o humanos o de parte de los mismos.

Tipo de producto 23.—Control de otros vertebrados: productos empleados para el control de los parásitos.

Además, se destaca la legislación ganadera y la fitosanitaria:

Legislación Ganadera:

Si el preparado biocida se aplicase sobre el animal le sería aplicable la legislación sobre medicamentos veterinarios: R.D. 1246/2008, por el que se regula el procedimiento de autorización, registro y farmacovigilancia de los medicamentos veterinarios fabricados industrialmente.

Legislación fitosanitaria:

La LEY 43/2002, de 20 de noviembre, de sanidad vegetal tiene por objeto establecer la normativa básica y las normas de coordinación en materia de sanidad vegetal y con los fines de:

- a) Proteger los vegetales y los productos vegetales de los daños ocasionados por las plagas.
- b) Proteger el territorio nacional y el de la Unión Europea, de acuerdo con la normativa fitosanitaria comunitaria, de la introducción de plagas de cuarentena para los vegetales y los productos vegetales u otros objetos, y evitar la propagación de las ya existentes.
- c) Proteger los animales, vegetales y microorganismos que anulen o limiten la actividad de los organismos nocivos para los vegetales y productos vegetales.

- d) Prevenir los riesgos que para la salud de las personas y animales y contra el medio ambiente puedan derivarse del uso de los productos fitosanitarios.
- e) Garantizar que los medios de defensa fitosanitaria reúnan las debidas condiciones de utilidad, eficacia y seguridad.

La escasa biodegradabilidad de los plaguicidas, su alto poder de bioacumulación en la cadena trófica, su toxicidad en aire, suelo y agua y la intoxicación humana por contacto epidérmico o por ingestión, han derivado en normativas estrictas de uso en muchos países. Aún así, la utilización de estos biocidas continúa siendo necesario, lo que implica la búsqueda de nuevas moléculas con propiedades más respetuosas con el medio ambiente o el desarrollo de procesos ó técnicas que permitan dirigir el impacto de estos biocidas sobre las plagas, minimizando los efectos secundarios en el medio ambiente.

Por todo ello, no es de extrañar que uno de los grandes retos del siglo XXI sea la búsqueda de métodos alternativos asociados al control biológico de determinadas poblaciones animales sin interferir en el equilibrio natural de las especies implicadas. Las nuevas técnicas de control de poblaciones buscan ante todo la especificidad del tratamiento por lo que es fundamental diferenciar correctamente la especie de insecto de otros.

CONTROL DE PLAGAS

El uso continuado de determinados biocidas favorece la aparición de resistencias. Un daño colateral de la utilización indiscriminada de biocidas afecta directamente a otros seres vivos, con riesgo de pérdida de biodiversidad pudiendo llegar a desaparecer depredadores naturales que controlen dichas plagas y favorecer así el desarrollo de plagas secundarias⁹. En los últimos años se ha descubierto el impacto medioambiental que muchos de estos biocidas han tenido debido a su uso intensivo y a las propiedades intrínsecas de este tipo de compuestos. La propia toxicidad de los biocidas conlleva repercusiones sanitarias y ambientales, pudiendo incorporarse a la cadena alimenticia, lo que puede plantear problemas más graves que los que se intentan controlar¹⁰.

Las moscas están entre los insectos más difíciles de combatir debido a:

- Su facilidad de adecuación al entorno. La mosca al encontrar una zona hábil y sin competencia de otros individuos de la misma especie, lo coloniza en plazos de tiempo muy pequeños.
- Su elevado potencial reproductor (de 75 a 150 huevos entre 5 o 6 veces a lo largo de su vida, aproximadamente 1 mes.)
- Su capacidad de volar, que les facilita una segura vía de escape de las zonas tratadas.
- Su rápido desarrollo de resistencia a los plaguicidas.
- La carencia de un formulado biocida adecuado para combatirla. Los productos para su control que hay disponibles en el mercado en este momento, no son útiles para su empleo en zonas destinadas al uso de personas y/o animales. Esto es debido a que la estrategia de combate disponible es la de hacer un tratamiento masivo del volumen completo del local, que hace inviable su utilización durante períodos muy prolongados, tanto para personas como para animales. Por ejemplo, para el control de la mosca doméstica en el ganado no es recomendable tratarlo directamente con mosquicidas, debido al escaso tiempo que el insecto pasa sobre el animal, ya que se nutre de la materia orgánica existente en cualquier explotación ganadera e incluso muchos de los mosquicidas no están autorizados para su uso sobre vacas lecheras o sobre aves, pues pueden dejar residuos elevados en la leche, huevos, etc....

⁹Kristensen M., Jespersen JB., Knorr M. Crossresistance potential of fipronil in *Musca domestica*. *Pesticide Management Science*, 2004; 60: 894-900.

¹⁰Frutos CR., Garcia AM., Delclós J., Benavides FG. *Salud laboral: conceptos y técnicas para la prevención de riesgos laborales*, 199, Ediciones Masson S.A., Madrid (España), p. 5.

Por ello se ha desarrollado una nueva técnica denominada manejo integral de plagas (MIP), que combina diversos métodos de control¹¹: Controles físicos, químicos y biológicos.

·**Controles físicos.** Barreras, trampas, etc., que frenan el avance de la plaga. Cabe destacar las trampas de captura. Son dispositivos que cuentan con atrayentes para los insectos, que una vez han entrado son atrapados mediante la acción de un pegamento o mecanismo que les impide la salida. Las estrategias alternativas de control de estos insectos, desarrolladas y presentes en el mercado, (fundamentalmente trampa o cebos), incluyen o bien sustancias desagradables y de fuerte olor o por el contrario artefactos como largas bandas impregnadas en diversos tipos de adhesivos. En todos los casos se trata de medios inviábiles para el uso en interior y con resultados de baja o nula eficacia en el exterior.

·**Controles biológicos.** Uso de patógenos, microorganismos, hongos, nematodos, e insectos parasitoides entre otros, que actúan a modo de depredadores del agente causal de la plaga.

·**Controles químicos.** Como última opción, cuando no se alcanza el resultado esperado con los métodos de control físicos y biológicos, se utilizan pesticidas sintéticos, que deben difundirse en cantidad y momento adecuados para lograr efectividad sobre la plaga, sin afectar al entorno ni a quienes lo habitan. Es habitual y adecuado el uso de hormonas que regulan el metabolismo de las especies que ocasionan la plaga. A continuación se recogen los principales métodos de control químico que se utilizan:

- I. Tratamiento de superficies
- II. Tratamiento de estiércol y otros substratos
- III. Nebulización
- IV. Cebos insecticidas

¹¹Romero F. Manejo integrado de plagas. Las bases, los conceptos y su mercantilización, 2004, Universidad Autónoma Chapingo, México, pp. 1-37.

I. **El tratamiento de las superficies sobre las que se posan las moscas** (paredes, muros, postes, columnas, montantes, vallas, etc.) da buenos resultados, siempre que las moscas sean susceptibles (es decir, no resistentes) a los productos empleados. La mayoría de estos productos contienen insecticidas convencionales (organofosforados, piretroides, etc.) que matan a las moscas adultas (también se les denomina adulticidas) por contacto o ingestión. Algunos productos contienen adulticidas de efecto por vía oral que se mezclan con azúcar y se aplican con brocha como una pintura. El azúcar estimula a las moscas a comer, lo que provoca la ingestión de una dosis letal del adulticida. Pero en este método, el pesticida está en contacto directo con el medio ambiente, humano y animal con el consiguiente peligro para los animales y el ser humano¹².

II. **El tratamiento del estiércol y otros substratos** para eliminar o reducir el desarrollo de las larvas, se combina a menudo con los métodos de control de moscas adultas. Para ello se emplean productos que se aplican directamente sobre el estiércol u otros substratos en forma de sprays, granulados, polvos, etc. Junto a larvicidas clásicos (sobre todo organofosforados), se emplean también con éxito varios inhibidores del desarrollo (p.ej. benzoilureas, ciromazina, etc.). En algunos países también hay disponibles larvicidas que se mezclan con el pienso de los pollos y que después hacen que todo el estiércol producido sea tóxico para las larvas de las moscas. Pero salvo pocas excepciones (p.ej. la *ciromazina*), casi todos los larvicidas aplicados sobre el estiércol son también letales para los enemigos naturales de las larvas de las moscas. Combinar el uso de adulticidas con el de larvicidas, tiene sentido a menudo porque supone atacar a las moscas con principios activos dotados de modos de acción totalmente diferentes, lo que disminuye el riesgo de que surjan poblaciones resistentes¹³.

III. **La nebulización ambiental** (o fumigación) se realiza mediante la aplicación localizada (pulverización) de activos disueltos en disolventes orgánicos, a paredes, zócalos y en general todas aquellas zonas en las que se posan las moscas. Con ellos se pretende que el insecto entre en contacto con el principio activo y muera. Este tipo de aplicación obliga a un tratamiento exhaustivo del local (establo, habitación....etc). Cuanto más pequeñas sean las gotas de producto insecticida que se generan, mayor será la difusión en el local. La termonebulización, es una variante más agresiva, que genera una "niebla" espesa de gotas de producto que vuelan ocupando todo el volumen. La pulverización puede ser de tres tipos:

¹²<http://parasitosdelganado.net>

¹³<http://www.flycontrol.novartis.com>

- Pulverización de activos insecticidas disueltos en disolventes orgánicos
- Pulverización de activos insecticidas emulsionados en agua
- Pulverización de activos insecticidas suspendidos en agua

La nebulización es adecuada para reducir inmediatamente altas poblaciones de moscas, pero mata solamente a las moscas expuestas en el momento de la aplicación, y no tiene ningún efecto residual. Para que la nebulización sea eficaz hay que evitar las corrientes de aire, que reducen su eficacia pero aumentan el impacto medioambiental¹⁴.

IV. Los cebos son productos que contienen atrayentes para que los insectos se acerquen y se infecten por contacto o ingestión. La mayoría emplean adulticidas (organofosforados, carbamatos, nicotinoides, etc.), combinados a menudo con sustancias atrayentes (p.ej. tricoseno, que es una feromona de mosca que actúa como un atrayente sexual). Son muy útiles para reducir las poblaciones de moscas, además de minimizar la contaminación medioambiental¹⁵.

¹⁴<http://www.controlambientalsa.com>

¹⁵Aktiengesellschaft H. Procedimiento para la preparación de cebos de insectos. P2828545.2 German Patent, 1979.

1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS

La clasificación de los insecticidas puede hacerse en base a tres criterios: toxicológico, funcional y químico¹⁶.

La clasificación toxicológica, se mide en función de la dosis letal 50 (DL₅₀), es decir, la cantidad de sustancia suficiente para producir la muerte de la mitad de los animales expuestos experimentalmente. Por ejemplo, DL₅₀= 200 mg/kg indica que se necesitan 200mg por cada kilo de ratón para matar a la mitad de la población estudiada. La clasificación según el Reglamento Técnico Sanitario Español, establecido mediante el Real Decreto Ley 4/99 de 13 de Enero, modificó la Reglamentación Técnico-Sanitaria para fabricación, comercialización y utilización¹⁷:

- De baja peligrosidad, DL₅₀ >15 g/kg: por inhalación, ingestión o penetración cutánea no entrañan riesgos apreciables.
- Nocivos, DL₅₀: 5-15 g/kg: por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden entrañar riesgos de gravedad limitada.
- Tóxicos, DL₅₀: 500-5000 mg/kg: por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden entrañar riesgos graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte.
- Muy tóxicos; DL₅₀ < 500 mg/kg: por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden entrañar riesgos extremadamente graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte.

La **clasificación funcional** divide a las sustancias en diferentes grupos según la plaga que combaten; resulta de gran utilidad en una primera aproximación y nos da una idea de la gran diversidad de productos existentes¹⁸:

- Insecticidas Inorgánicos
- Insecticidas Botánicos (extractos de plantas)
- Insecticidas Orgánicos
- Insecticidas Microbianos

¹⁶Lopez Crespi F., Obiols J., Subías PJ. Plaguicidas agrícolas y salud. Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos, 1998, I. Morell y L. Candela (eds.), Castellón (España), pp. 273-295.

¹⁷WHO, Classification of pesticides by hazard 1998-1999, International Programme on Chemical Safety, WHO/IPCS/98.21.

¹⁸Gunn DL., Stevensen JGR. Pesticides and human welfare, 1976, Oxford University Press. Oxford, pp. 123-182.

Otros agentes de lucha contra insectos, según la clasificación funcional, los encontramos en:

- Quimioesterilizantes
- Feromonas
- Repelentes
- Hormonas (reguladores del crecimiento del insecto)

La **clasificación química** es la de mayor interés sanitario, ya que los efectos sobre la salud son característicos y diferentes para cada uno de los grupos definidos.

Se describen a continuación los diferentes tipos, Tabla 1.1, por su volumen de utilización y por sus importantes efectos sobre la salud ¹⁹:

Tabla 1.1. Clasificación de los insecticidas químicos²⁰.

	Subgrupos	Insecticidas más comunes
Inorgánicos	Aceites minerales	Fosforo de aluminio, arseniato
	Polisulfuros	
Botánicos		Nicotina, piretrinas, rotenona, limoneno.
Orgánicos	Hidrocarburos	Petróleo, larvicidas
	Organoclorados (OC)	DDT, Lindano.
	Organosulfurados (OS)	Tetradifón
	Organofosforados (OF)	Diclorvós, Clorpirifos
	Carbamatos	Bendiocarb
	Piretroides de síntesis	Bifentrina, Deltametrina
	Nicotinoides	Acetamiprid
	Halófenoles	Pentaclorofenol (PCF)
	Dinitrofenoles	Dinitro-o-cresol (DNOC)
	Benzoilureas	Difluorobenzurón
	Formamidinas	Formetanato
	Fenilpirazoles	Fipronil
	Pirroles	Clorfenapir
	Ácido Fluoroacético y derivados	Acido trifluoroacético
	Derivado triazínico (T)	(TFA)1,3,5-Triazin-2-amina
	Quinazolinas	4-Cloroquinazolina
	Piridazinona	Piridaben
	Compuesto organoestánnico (OE)	Estannano, Cihexatin, TBTO
	Derivado del ácido fenoxiacético (FA)	2,4-D
	Espinosinas	Espinosad
Microbianos	Bacteriales	Bacillus thuringiensis
	Virales	Virus poliédricos

¹⁹Lopez Crespí F., Obiols J., Subías PJ. Plaguicidas agrícolas y salud. Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos, 1998, I. Morell y L. Candela (eds.), Castellón, España, pp. 273-295.

²⁰Ware GW., Whitacre DM. The Pesticide Book, 2004, Meister Publishing co, Ohio (U.S.A), pp. 10-35.

En la Tabla 1.2 se recogen otras familias de insecticidas de uso preferentemente agrícola, introducidas más recientemente en el mercado²¹.

Tabla 1.2. Nuevas clases de insecticidas químicos.

Tipo de insecticidas
Metoxiacrilatos (acaricida Fluacipirim)
Naftoquinonas (acaricida Acetoquinocilo)
Análogos de Nereistoxina (contra insectos coleópteros y lepidópteros: Tiociclam)
Piridina azometina (Pimetrozina: control de áfidos y moscas blancas)
Pirimidinaminas (insecticida y acaricida Pirimidifén)
Ácidos Tetrónicos (Spirodiclofén, acaricida/ovicida)
Tetrazinas (acaricida/ovicida: Clofentezina)

Para controlar las plagas de insectos, los sumerios, ya en el año 2500 a.C., usaban **compuestos inorgánicos** como azufre o arsénico, productos en general muy tóxicos, poco efectivos en la lucha contra la plaga y muy persistentes (hasta 50 años). Los romanos utilizaban sal o incluso sosa y aceite de oliva. Se describe el uso de diferentes productos para ahuyentar las moscas utilizando cenizas y los combinaban con grasa de cerdo para repeler a estos insectos e incluso se utilizaban diferentes esencias para proteger a las momias²².

Muchos insecticidas provienen de compuestos naturales. Numerosas plantas pueden fabricar ellas mismas moléculas para su propia protección, matando o disipando insectos (**insecticidas botánicos**). El desarrollo de la botánica y los descubrimientos de nuevas plantas para su utilización industrial y productiva en los siglos XVII y XVIII, revelan que por ejemplo las flores de la Lavanda (*Lavandula officinalis*) ahuyentan la polilla del armario, las hojas de la Falsa acacia (*Robinia pseudoacacia*) machacadas y mezcladas con azúcar atraen y matan a las moscas blancas, las propiedades insecticidas que presentan las esencias vegetales como la nicotina de la planta del tabaco y en el siglo XIX la rotenona y las flores del **Piretro** (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), un crisantemo que se cultiva en Kenya y Ecuador, contiene piretrinas, uno de los insecticidas más seguros que existen, ya que ataca al sistema nervioso de los insectos, pero no afecta a los demás animales y plantas²³.

²¹Crop Protection Handbook, 2004 Meister Media Worldwide, Ohio, pp. 90-900.

²²Panagiotakopulu E., Buckland PC., Day PM. Natural Insecticides and Insect Repellents in Antiquity: A Review of the Evidence. Journal of Archaeological Science, 1995; 22: 705-710.

²³Wandahwa P., Ranst EV., Damme PV. *Pyrethrum* (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.) cultivation in West Kenya: origin, ecological conditions and management. Industrial Crops and Products, 1996; 5: 307-322.

No fue hasta el siglo XX con el desarrollo exponencial de la industria química, cuando se comienzan a producir y diseñar productos insecticidas de síntesis o sintéticos. Entre las dos guerras mundiales el número de sustancias fue multiplicándose y en la segunda de estas guerras se descubrieron los **insecticidas clorados**, utilizados ampliamente en los años 1940-1960, debido a su amplio espectro de acción y bajo coste. Por ejemplo con el uso del DDT (1942) se buscaba un efecto de choque: una destrucción rápida y amplia de muchos tipos de insectos al mismo tiempo. El uso de este insecticida trajo aparejado una serie de inconvenientes, ya que no presenta selectividad, se acumula en tejidos grasos del hombre y animales y persiste en el medio ambiente. En estos momentos su uso está restringido y prohibido en algunos países (USA desde 1972).

Para superar estos efectos adversos, de 1945 a 1955 aparecen otros insecticidas como los organofosforados, los carbamatos y las ureas, los denominados insecticidas de segunda generación.

Los **insecticidas organofosforados** por su poder insecticida, su metabolismo en animales y su comportamiento bioquímico reemplazan rápidamente a los clorados. Los primeros insecticidas organofosforados fueron muy tóxicos, tal es el caso del Parathion. En la actualidad, los últimos insecticidas fosforados tienen una toxicidad más moderada, son ejemplo de ello el diazinon y el clorpirifos. Si bien no presentan los mismos problemas de persistencia, ni de acumulación en tejidos grasos que tienen los clorados, los insecticidas fosforados deben ser utilizados con cierta cautela.

Los **insecticidas carbamatos** presentan menor efecto de choque, son menos potentes y más selectivos a un individuo diana. Sin embargo, poseen la desventaja de que los insectos pueden llegar a hacerse resistentes tras aplicaciones prolongadas²⁴. Su carácter selectivo se puede lograr mediante modificaciones en la estructura del ácido carbámico, convirtiéndoles en más activos contra algunos insectos e inactivos contra otros. Los carbamatos se caracterizan también por presentar baja persistencia en el medioambiente y además, ser más biodegradables que los organofosforados, y menos tóxicos para el hombre. Poseen un amplio uso en agricultura. Aun así, se encuentran restos en frutos, vegetales y en aguas superficiales y subterráneas, provocando un riesgo potencial para los consumidores, por lo que se usan más como insecticidas caseros para espacios interiores o en champús²⁵.

²⁴Wilson C., Tisdell C. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological Economics*, 2001; 39: 449-462.

²⁵Cool M., Jankowski CK. En *Progress in pesticide biochemistry and toxicology*, 1985. Hutson, DH. and Roberts TR. Wiley, (eds.), Chichester (UK), pp. 87-142.

Dentro de este grupo, se encuentra el **Bendiocarb**²⁶, Figura 1.2, objeto de estudio de este trabajo.

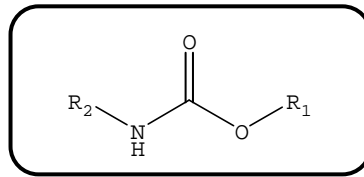


Fig 1.2. Estructura general de los insecticidas carbamatos.

En 1961 se estudiaron los efectos ecotoxicológicos de los insecticidas organoclorados y, en general, de aquellos insecticidas persistentes. Desde entonces la síntesis y utilización de nuevos compuestos ha sufrido una evolución exponencial. Hoy en día, se usan muy poco y algunos de ellos están incluso prohibidos por su excesiva toxicidad para organismos vivos²⁷. De esta forma, aparecen de 1970 a 1980 la denominada tercera generación de insecticidas: piretroides, nicotinoides y sulfonilureas.

Los insecticidas **piretroides** y **nicotinoides**^{28,29} (Figura 1.3) se basan en el conocimiento de la fisiología del insecto objetivo, por lo que la aparición de resistencia al producto es poco probable.

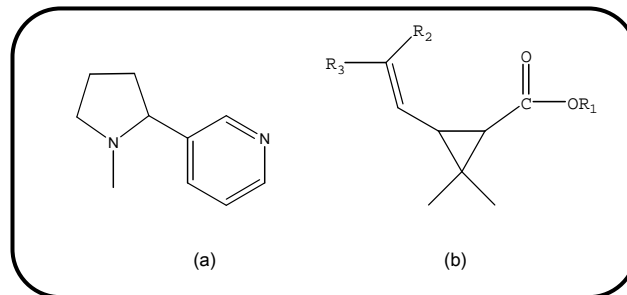


Fig 1.3. Estructura química de los insecticidas (a) nicotinoide (alcaloide) y (b) piretroide (terpeno derivado del ácido crisantémico)

²⁶Ecobichon DJ. Carbamate Insecticides. Handbook of Pesticide Toxicology, 2001, R. Krieger (ed), California (U.S.A), pp.1087-1106.

²⁷Hill IR., Leahey JP. The pyrethroid insecticides, 1985, Taylor & Francis, Londres (U.K), pp.151-247.

²⁸Anadón A., Martínez-Larrañaga MR., Martínez MA. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. The Veterinary Journal, 2009; 182: 7–20.

²⁹Stumpf CF., Comins DL., Sparks TC., Donohue KV., Roe RM. Insecticidal activity and mode of action of novel nicotinoids synthesized by new acylpyridinium salt chemistry and directed lithiation. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2007; 87: 211–219.

Los **Piretroides** son compuestos orgánicos sintéticos derivados de las piretrinas antes mencionadas. Debido a su baja toxicidad para mamíferos y humanos han tenido una gran aceptación y están teniendo gran aplicación mundial. Sin embargo, son tóxicos para algunos organismos como abejas, peces, y otros organismos acuáticos. En la actualidad, los insecticidas piretroides, que químicamente se clasifican como ésteres, son los más utilizados a nivel mundial, ya que presentan buenas propiedades insecticidas, con un amplio intervalo de aplicación.

En agricultura, se aplican tanto directamente en el suelo para matar los insectos que están en él, como sobre las plantas. También se emplean en el cuidado del ganado. En la industria destaca su utilización en productos protectores de la madera. Además son utilizados para propósitos domésticos como repelentes de insectos en restaurantes, hospitales, escuelas o animales domesticados, por su función antiparasitaria y, en algunos casos, directamente sobre seres humanos, como en tratamientos contra los piojos. Una vez aplicados los insecticidas, son absorbidos por los componentes del suelo y además al ser poco solubles en agua, no es probable que alcancen el agua del subsuelo mediante lixiviación. Otra ventaja con respecto a los demás insecticidas es que no persisten en el suelo y son rápidamente degradados a productos menos tóxicos. Son pesticidas más seguros para los mamíferos, teniendo un fuerte potencial insecticida, pero son bastante inestables al aire y a la luz, por lo cual son poco utilizables para la agricultura³⁰.

En esta investigación se describe el estudio de 8 insecticidas de la familia piretroide (*tetrametrina, bifentrina, alfa-cipermetrina, permetrina, esbiotrina, praletrina, deltametrina, ciflutrina y fenotrina*) junto con el sinergista *butóxido de piperonilo(Bp)*, cuyo estudio es de interés debido a que forma parte de los preparados comerciales, con el fin de inhibir la degradación oxidativa de estos preparados.

Los *nicotinoideas* sintetizados a partir de la nicotina^{31,32}, también pertenecen al grupo de insecticidas biológicos, poseen una alta capacidad insecticida, solventando el problema de la resistencia de los insectos. Son herramientas eficaces en el MIP y son usados particularmente en horticultura como moderno sistema de protección de cosechas debido, entre otras propiedades, a sus perfiles de seguridad para las abejas. Sin embargo, la

³⁰Hill IR., Leahey JP. The pyrethroid insecticides, 1985, Taylor & Francis, Londres (U.K), pp.151-247.

³¹Rancan R., Sabatini A.G., Acili G., Galleti G.C. Determination of imidacloprid and metabolites by liquid chromatography with an electrochemical detector and post column photochemical reactor. Analytical Chimica Acta, 2006; 1(5): 20-24.

³²Macdonald LM., Meyer TR. Determination of imidacloprid and triadimephos in white pine by GC/MS. Agriculture Food Chemistry, 1998; 46: 3133-3138.

dispersión de estos insecticidas en el aire mientras tiene lugar la cosecha, sí presenta efecto tóxico para estos insectos. Ejemplos de este grupo, estudiados en este trabajo, son **acetamiprid, tiacloprid e imidacloprid**.

Junto a determinados insecticidas se pueden utilizar sustancias para sinergizar o incrementar su actividad, como son los denominados **sinergistas**. Estos no se pueden considerarse en sí mismos como tóxicos o insecticidas. El primero fue introducido en 1940 para aumentar la efectividad de las piretrinas. Desde entonces han aparecido otros compuestos con esta característica, aunque actualmente son escasos los compuestos comercializados,³³ entre ellos cabe citar el **butóxido de piperonilo**. Este contiene la estructura metilendioxifenil, que se encuentra en el aceite de ajonjolí y que posteriormente ha sido denominada *sesamín*. Los sinergistas se encuentran en casi todos los aerosoles de uso doméstico, de animales y de mascotas para mejorar la acción de los insecticidas contra insectos voladores. La acción del Bp es inhibir las enzimas oxidasas haciendo que los insecticidas piretroides aumenten la eficacia insecticida de 10-150 veces.

En 1990 se desarrollaron otros agentes de lucha contra los insectos, como son insecticidas **microbianos, esterilizantes, feromonas, repelentes, hormonas...**

Los **insecticidas Microbianos** obtienen su nombre de los microorganismos que se usan para controlar ciertos insectos. Los microorganismos que causan enfermedades en los insectos no causan daño a otros animales o a las plantas. Hoy en día, hay relativamente pocos producidos comercialmente y aprobados por la EPA (más de 55 naturales, y 16 organismos producidos por bioingeniería) para uso en cultivos para alimento humano y animal. A mediados del 2002, la lista de la EPA de microbiales registrados incluía 35 bacterias, 1 levadura, 17 hongos, 1 protozooario, 6 virus, 8 organismos de bioingeniería y 8 genes de cultivo transgénico. Un nuevo horizonte se abre ante los insecticidas transgénicos, el concepto de que la ingeniería genética podría ser aplicada a organismos y cultivos para aumentar el control de plagas ya se conocía en la década de los 70. Los **organismos Transgénicos** son aquellos que han sido alterados genéticamente mediante la introducción artificial de DNA de otro organismo. La secuencia artificial de genes se denomina un transgén. Plantas con tales transgenes también son denominadas genéticamente

³³Alves AP., Allgeier WJ., Siegfried BD. Effects of the synergist S,S,S-tributyl phosphorotrithioate on indoxacarb toxicity and metabolism in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2008; 90: 26–30.

modificadas (GM). Las plantas que emulan insecticidas son aquellas alteradas para inducir resistencia a los insectos (también llamadas plantas pesticidas)³⁴.

-Quimioesterilizantes. Son compuestos químicos (ácido bórico o metionina entre otros) que dificultan o detienen los procesos reproductivos del insecto. El inconveniente de su uso es que no se limita al objeto diana, para ello se debe usar en cebos y/o mezclados con atrayentes específicos³⁵.

-Feromonas. La mayoría de los insectos parecen comunicarse mediante la liberación de cantidades moleculares de compuestos altamente específicos, que se evaporan rápidamente y son detectados por insectos de la misma especie. De las 1.314 especies de insectos con respuestas confirmadas de atracción a feromonas identificadas, 1.260 de estas feromonas son producidas por hembras. Solo 54 especies usan atrayentes sexuales producidos por los machos³⁶. A pesar de los elogios del potencial de las feromonas sexuales, su uso más práctico es en trampas para evaluación, que suministran información sobre los niveles de las poblaciones, para delimitar infecciones, o para monitorizar programas de control o de erradicación, y para tener evidencias sobre introducciones de nuevas plagas.

-Repelentes, como DEET (dietil toluamida), se usan de forma generalizada contra mosquitos y moscas picadoras. Históricamente, los repelentes han incluido humo, plantas que cuelgan dentro de las habitaciones o que son frotadas sobre la piel, como plantas frescas, aceites, breas, alquitranes, y varias tierras aplicadas al cuerpo. Antes de que se desarrollara un buen conocimiento sobre el sentido del olfato y el comportamiento de los insectos, se creía erróneamente que si una sustancia era repugnante para los humanos sería igualmente repelente para los insectos molestos. En 1999, la EPA registró un nuevo repelente de insectos, N-metilneodecanamida. En lugar de ser usado sobre los humanos para repeler a los insectos, se aplica a los pisos, paredes y otras superficies de las casas para repeler cucarachas y hormigas³⁷.

³⁴Charles D. Lords of the harvest: Biotech, big money, and the future of food, 2000, Perseus Publishing, Cambridge U.K), pp. 348.

³⁵Collins DA. A review of alternatives to organophosphorus compounds for the control of storage mites. *Journal of Stored Products Research*, 2006; 42: 395–426.

³⁶Mayer MS., McLaughlin JR. *Insect pheromones and sex attractants*. 1990. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA, pp. 235.

³⁷Schulz C., Angerer J., Ewers U., Kolossa-Gehring M. The German Human Biomonitoring Commission. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2007; 210: 373–382.

-Reguladores del crecimiento del insecto (IGR's o RCIs). Son compuestos químicos que alteran el crecimiento y desarrollo de los insectos de tres maneras: como hormonas juveniles, como inhibidores de la hormona de la muda (los precocenos interfieren con la función normal de las glándulas que producen las hormonas juveniles) y como inhibidores de la síntesis de la quitina, afectando la habilidad de los insectos para producir nuevos exoesqueletos. En lugar de matar a los insectos directamente, los RCIs interfieren con los mecanismos normales de desarrollo y hacen que los insectos mueran antes de llegar al estado adulto.

Los RCIs son efectivos cuando se aplican en cantidades muy pequeñas y, generalmente, tienen poco o ningún efecto sobre los humanos y la vida silvestre. Sin embargo, no son específicos, ya que afectan no solo a la especie objetivo, sino también a otras especies de artrópodos³⁸.

En la Tabla 1.3, se recogen los datos de las propiedades fisicoquímicas de los biocidas objeto de estudio^{39,40}, mostrando las estructuras químicas de los mismos, así como sus tamaños medidos mediante el programa Hyperchem. Asimismo, se recogen los datos sobre la toxicidad de los pesticidas en términos de DL₅₀.

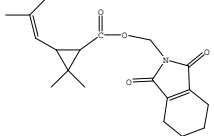
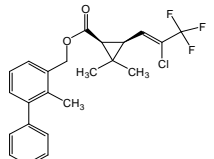
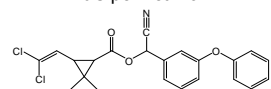
³⁸Viñuela E., Budía F., del Estal P. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 1990; 17: 391-400.

³⁹Laskowski D.A. Physical and chemical Properties of Pyrethroids. Environmental Contamination Toxicology, 2002; 174: 49-170.

⁴⁰CRC Handbook of pesticides. Milne GWA, 2005, CRC Press, Boca Ratón, Florida (U.S.A), pp.11-200.

1. Introducción y objetivos

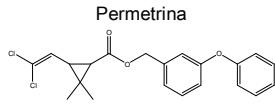
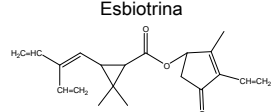
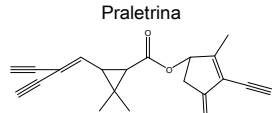
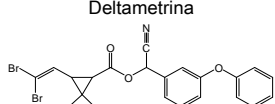
Tabla 1.3. Propiedades físico-químicas, tamaño y toxicidad de los biocidas objeto de estudio.

	Cas number	PM (g/mol)	Tamaño x, y, z (Å)	DL ₅₀ Oral (mg/Kg) Dermal (mg/Kg) Inhalación (mg/L)	S _{H2O} (g/L)	S _{acetona} (g/L)	P _{eb} (°C)	M.P (°C)
<p>Tetrametina</p> 	7696-12-0	331.4	5.63, 4.68, 15.00	>5000 >2000 2,73	1.83·10 ⁻³	>1000	300	69
<p>Bifentrina</p> 	82657-04-3	422.9	7.24, 5.43, 16.57	54,5 >2000 1,01	<10 ⁻⁶	735.7	300	69
<p>αCipermetrina</p> 	52315-07-8	416.3	7.73, 6.46, 15.11	2,87 >2000 3,28	<0.2·10 ⁻⁶	620	300	80

PM-Peso molecular/ S_{H2O} -Solubilidad en agua/ S_{acetona} -Solubilidad en acetona/ P_{eb}-Punto de ebullición/ M.P-Punto de fusión

1. Introducción y objetivos

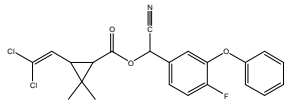
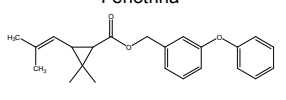
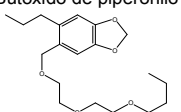
Tabla 1.3. (cont. 1). Propiedades físico-químicas, tamaño y toxicidad de los biocidas objeto de estudio.

	Cas number	PM (g/mol)	Tamaño x, y, z (Å)	DL ₅₀ Oral (mg/Kg) Dermal (mg/Kg) Inhalación (mg/L)	S _{H2O} (g/L)	S _{acetona} (g/L)	P _{eb} (°C)	M.P (°C)
 <p>Permetrina</p>	53645-53-1	391,3	6.20, 5.40, 16.13	430 >2000 0,685	0,2·10 ⁻³	>1000	200	39
 <p>Esbiothrina</p>	584-79-2	304,41	5.75, 5.54, 15.14	709 >3000 2,5	0, 2·10 ⁻⁵	>1000	165	-25
 <p>Praletrina</p>	23031-36-9	300,39	6.41, 5.74, 15.03	460 >5000 0,29	0, 2·10 ⁻⁵	>1000	200	-25
 <p>Deltametrina</p>	52918-63-5	505.2	7.82, 6.38, 15.14	87 >2000 0,6	<0.2·10 ⁻⁶	8.15	300	101

PM-Peso molecular/ S_{H2O} -Solubilidad en agua/ S_{acetona} -Solubilidad en acetona/ P_{eb}-Punto de ebullición/ M.P-Punto de fusión

1. Introducción y objetivos

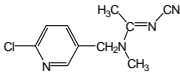
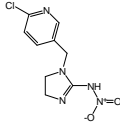
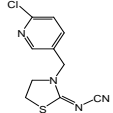
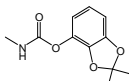
Tabla 1.3. (cont. 2) Propiedades físico-químicas, tamaño y toxicidad de los biocidas objeto de estudio.

	Cas number	PM (g/mol)	Tamaño x, y, z (Å)	DL ₅₀ Oral (mg/Kg) Dermal (mg/Kg) Inhalación (mg/L)	S _{H₂O} (g/L)	S _{acetona} (g/L)	P _{eb} (°C)	M.P (°C)
<p>Ciflutrina</p> 	6859-37-5	434,29	6.42, 4.17, 17.68	>16,2 >5000 4,05	0, 2·10 ⁻⁵	>1000	200	60
<p>Fenotrína</p> 	26002-80-2	350,45	7.17, 5.46, 16.81	>5000 >2000 2,1	2,0·10 ⁻³	>1000	200	-50
<p>Butóxido de piperonilo</p> 	51-03-6	338,4	9.14, 6.21, 11.13	7500 >1880 5,9	<0,2·10 ⁻⁶	>1000	180	-75

PM-Peso molecular/ S_{H₂O} -Solubilidad en agua/ S_{acetona} -Solubilidad en acetona/ P_{eb}-Punto de ebullición/ M.P-Punto de fusión

1. Introducción y objetivos

Tabla 1.3. (cont. 3) Propiedades físico-químicas, tamaño y toxicidad de los biocidas objeto de estudio.

	Cas number	PM (g/mol)	Tamaño x, y, z (Å)	DL ₅₀ Oral (mg/Kg) Dermal (mg/Kg) Inhalación (mg/L)	S _{H2O} (g/L)	S _{acetona} (g/L)	P _{eb} (°C)	M.P (°C)
<p>Acetamiprid</p> 	135410-20	222.7	5.31, 3.98, 9.93	213 >2000 1,15	4.25	200	352	98.9
<p>Imidacloprid</p> 	105827-78-9	255.7	5.70, 4.44, 10.20	131 >5000 >0,069	0,61	>1000	300	140
<p>Tiacloprid</p> 	111988-49-9	252.72	6.73, 3.95, 8.70	444 >2000 >0,481	0,18	641	325	136
<p>Bendiocarb</p> 	22781-23-3	223.2	6.19, 4.27, 10.01	34 566 0,55	0,28	175	260	125

PM-Peso molecular/ S_{H2O} -Solubilidad en agua/ S_{acetona} -Solubilidad en acetona/ P_{eb}-Punto de ebullición/ M.P-Punto de fusión

1.3 MICROENCAPSULACIÓN

Las periódicas aplicaciones de los biocidas en sus formas convencionales (polvo, emulsiones, cebos y pulverizables) se emplean directamente en el área requerida, contaminando ecosistemas acuosos, terrestres y aéreos y, en consecuencia, afectando a la población humana y animal, tanto por contacto directo como indirecto. Una de las preocupaciones de la industria de pesticidas es desarrollar productos más seguros para el trabajador y el medioambiente. En este sentido, la introducción de procesos de **microencapsulación** permite modificar algunas de las propiedades físico-químicas de los pesticidas mediante la formación de dos estructuras, los *sistemas reservorio o capsular* y los *sistemas matriciales*. En el primer caso, el principio activo se encuentra incluido en una especie de reservorio, que puede ser de naturaleza líquida a sólida, el cual se haya envuelto por una fina película del material de recubrimiento. En el segundo caso, el principio activo se encuentra disperso en la matriz polimérica⁴¹. En la Figura 1.4 se pueden apreciar las fotografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), de las estructuras de los dos tipos de sistemas explicados.

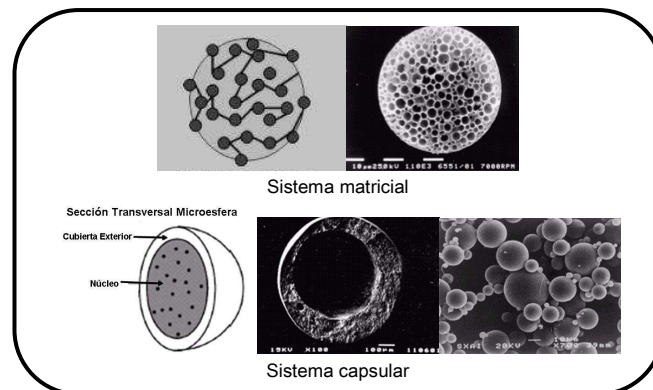


Fig 1.4. Fotografías de las estructuras posibles obtenidas mediante microencapsulación.

La encapsulación se lleva a cabo en forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. De este modo, el producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de “micropartículas” (sistema capsular), “microcápsulas” (sistema matricial) o “microesferas” (indistintamente, sólo se diferencian por su forma esférica), sistemas que se diferencian en su morfología y estructura interna, si bien todos ellos presentan como característica común su tamaño de partícula, el cual es siempre inferior a 1mm. Cuando las partículas poseen un tamaño

⁴¹Benita S. Microencapsulation: Methods and industrial applications, 1996, Marcel Dekker, New York, pp. 99-132.

inferior a 1 μm , el producto resultante del proceso de microencapsulación recibe la denominación de “nanoesferas”, “nanopartículas” o “nanocápsulas”.

Los primeros procesos de encapsulación fueron desarrollados entre los años 1930 y 1940 por la National Cash Register para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante mediante un proceso de coacervación⁴².

Las ventajas generales de la microencapsulación de biocidas son:

- *Reducción de la toxicidad en mamíferos.*
- *Reducción de la fitotoxicidad.*
- *Disminución de la contaminación medioambiental debido a la liberación controlada y específica del componente activo en el medio a tratar.*
- *Incremento de la seguridad en la manipulación, por ejemplo, en la reducción de la irritación de las mucosas. La microcápsula reduce al mínimo el contacto del operario con el biocida activo. Por lo tanto, también reduce la toxicidad para las personas en las zonas tratadas.*
- *Fijación de compuestos volátiles, ya que la presión de vapor del complejo obtenido disminuye, reduciendo la evaporación.*
- *Protección contra la degradación por microorganismos.*
- *Estabilización de sustancias sensibles a la luz y al oxígeno.*
- *Protección de compuestos higroscópicos.*
- *Solidificación de biocidas líquidos.*
- *Enmascaramiento del olor, por lo tanto, eliminación de la posible repelencia del biocida. Además enmascara colores.*
- *Modificación de las propiedades físico-químicas como: mejorar la hidrosolubilización de compuestos de baja solubilidad en agua, lo cual permite la fabricación del cebo en base agua, eliminando así la utilización de disolventes orgánicos, contribuyendo de esta forma a una mejora medioambiental.*
- *Ahorro de trabajo, ya que permite intervalos de aplicación más largos.*
- *Reducción de la dosis de aplicación.*
- *Modificación de la posible reactividad entre las moléculas huésped incluidas.*
- *Alta actividad independientemente de la superficie tratada.*

⁴²Loftsson T., Kristmundsdóttir T., El-Nokaly MA., Piatt DM. Charpentier BA .Microcapsules containing water soluble cyclodextrin inclusion complexes of water insoluble drugs. Polymeric Delivery Systems, 1944, Marcel Dekker, New York, pp. 73-190.

El proceso de microencapsulación se debe diseñar teniendo en cuenta un gran número de factores que involucran tanto al componente activo, como a la estructura microencapsulada formada y a su aplicación.

La variedad de materiales que pueden emplearse en microencapsulación se va ampliando gradualmente a medida que surgen nuevos biomateriales y se perfilan nuevas aplicaciones. Entre ellos se pueden citar⁴³:

1. **Encapsulantes:** Materiales inorgánicos, lípidos, proteínas, gomas, carbohidratos y polímeros.
2. **Disolventes:** Acetato de etilo, acetona, diclorometano, cloroformo, metanol, propilenglicol o acetonitrilo, que disuelven bien a las sustancias activas empleadas y son relativamente miscibles con agua.
3. **Emulsionantes:** Coloides poliméricos hidrofóbicos, surfactantes no iónicos, alcohol polivinílico o similares.
4. **Conservantes:** Los habituales son los benzoatos sódicos o nitritos sódicos, entre otros, preventol® y proxel®.
5. **Atrayentes:** dependiendo de la plaga a tratar.
6. Otros: **Sinergistas** para incrementar la función biocida, **antiespumantes** (derivados de silanos, tales como poli(dimetil-siloxano) y estearato de magnesio), **espesantes** (xantano o ácidos silícicos), **tampones** (todos los ácidos débiles y sus sales, pero preferentemente se utiliza tampón fosfato, tampón carbonato y tampón citrato), **estabilizadores frente al frío** (entre los que cabe citar urea, glicerol y propilenglicol), **agentes de neutralización, desodorizadores y polímeros de color.**

En cuanto a la liberación del principio activo, el insecticida puede ser liberado de la microcápsula por dos mecanismos:

-Difusión a través de la pared de la cápsula o de una membrana que cubre la pared. La permeabilidad a través de la matriz y la solubilidad del componente de la pared de la cápsula influyen en la velocidad de difusión. El compuesto que va a difundir debe ser soluble en la matriz, aunque la presión de vapor de sustancias volátiles en cada lado de la matriz puede ser la fuerza que determine la difusión.

-Destrucción de la pared de la microcápsula, bien por procesos físicos (por una disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla), o por reacciones químicas (cambios de pH, o de presión osmótica, hidrólisis, degradación térmica o enzimática).

⁴³Zerrer R., Morschhauser R. Sustancias biológicamente activas, microencapsuladas, que contienen un polímero en forma de peine, soluble en agua o dispersable en agua. 2 237 668 T3. Patente Europea, 2005.

La selección de una matriz o membrana es importante; la naturaleza química, morfología y temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de entrecruzamiento también influyen en la difusión de la membrana, lo que puede afectar a la velocidad de liberación⁴⁴. Todo ello contribuye a establecer la ruptura de los enlaces con la molécula huésped⁴⁵.

⁴⁴Ikeda Y., Kimura K., Hirayama F., Arima H., Uekama K. Controlled release of a water-soluble drug, captopril, by a combination of hydrophilic and hydrophobic cyclodextrin derivatives. *Journal of Controlled Release*, 2000; 66: 271–280.

⁴⁵Tsuji K. Application and particle design of insecticide microcapsules. *Microcapsules of pesticides for household uses*. SP World Spring, 1998; 10: 2-4.

1.3.1. AGENTES ENCAPSULANTES

El tipo de agente encapsulante empleado tendrá influencia sobre la estabilidad de la emulsión antes de secar, sobre el tamaño de partícula, las propiedades y sobre la vida útil del material encapsulado deshidratado⁴⁶. Los agentes encapsulantes más utilizados en microencapsulación son⁴⁷:

•**Materiales inorgánicos** como los silicatos. El silicato de sodio ha demostrado ser un poderoso encapsulante de materiales peligrosos, en procesos de biorremediación, convirtiendo productos solubles en insolubles, volátiles en no volátiles. Asimismo, los compuestos orgánicos quedarán recubiertos por el silicato, reduciendo su potencial riesgo de contaminación. Los componentes activos adecuadamente encapsulados cambian sus propiedades físico-químicas, haciéndoles resistentes a la acción del viento, lluvia y ataques ácidos⁴⁸.

•**Lípidos** como ceras⁴⁹, parafinas, aceites o grasas. Se utilizan sobre todo para la formación de liposomas⁵⁰. Algunos de los más efectivos son los aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soja, que son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme.

•**Proteínas** como gluten, caseína, albúmina, soja, caseinatos y la gelatina, siendo esta última una de las proteínas más utilizada⁵¹. Estos agentes encapsulantes poseen alta capacidad emulsionante, generando microcápsulas de tamaño inferior a 2 micrómetros⁵², pero su solubilidad en agua a baja temperatura, el potencial para reaccionar con grupos carbonilos y su alto coste limitan su utilización⁵³.

⁴⁶Pszczcola DE. Encapsulated ingredients: providing the right fit. *Food Technology*, 1998; 52(12): 70-77

⁴⁷Kondo A. *Microcapsule Processing and Technology*, 1979, Marcel Dekker. New York, pp. 3-5.

⁴⁸Bradl H., Xenidis A. Chapter 3 Remediation techniques. *Interface Science and Technology*, 2005; 6: 165-261.

⁴⁹Jenning V., Gohla S. Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN®). *International Journal of Pharmaceutics*, 2000;196: 219-222.

⁵⁰Leslie SB., Puvvada S., Ratna BR., Rudolph AS. Encapsulation of hemoglobin in a bicontinuous cubic phase lipid. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1996; 1285: 246-254.

⁵¹Arnedo A., Espuelas S., Irache JM. Albumin nanoparticles as carriers for a phosphodiester oligonucleotide. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002; 244: 59-72.

⁵²Shahidi F., Han X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1993; 33: 501-547.

⁵³Aia H., Jonesa SA., de Villiersb MM., Lvova YM. Nano-encapsulation of furosemide microcrystals for controlled drug release. *Journal of Controlled Release*, 2003; 86: 59-68.

• **Gomas** como **alginato de sodio**. Son hidrocoloides extraídos de algas. Debido a sus características de viscosidad, solubilidad y capacidad emulsionante, se utilizan preferentemente como componentes de la membrana que reaccionan con iones para inducir la formación de geles estables⁵⁴. No son adecuados para retener moléculas no lipídicas de bajo peso molecular.

La **goma arábica** se ha utilizado tradicionalmente como agente encapsulante pero su escasez ha motivado el desarrollo de gomas alternativas como el agar-agar⁵⁵.

• Los **polímeros** siguen utilizándose como agentes encapsulantes por su bajo coste, fácil adquisición, susceptibilidad a innumerables modificaciones químicas y potencialmente degradables. Dentro de este grupo se incluyen los **polímeros de origen natural** y los polímeros sintéticos. Entre los polímeros naturales cabe destacar las **Resinas** vinílicas o Acrílicas⁵⁶, por ejemplo, el PMMA (polimetilmetacrilato), que presentan distintos grados de permeabilidad y solubilidad en función del pH⁵⁷, lo que favorece el control de la liberación del material encapsulado. Estos poliésteres son de carácter biodegradable y se utilizan también en procesos de biorremediación. Otro de estos biopolímeros es la **colofonia**, una resina natural de color ámbar obtenida de las coníferas. La colofonia y sus derivados se han evaluado desde el punto de vista farmacológico como materiales microencapsulantes⁵⁸. Los **polímeros sintéticos** como la **polivinilpirrolidona**, **povidona** o **PVP** son solubles en agua, no tóxicos, capaces de formar complejos con cationes y otras especies químicas. El **Gantrez**, pertenece a la familia de los polímeros de anhídrido maleico/metil vinil éter o PVM/MA^{59,60} y la **poliurea**, formada por polimerización de diisocianato y una diamina⁶¹, se utiliza en los toners de impresora y en pesticidas, debido a sus propiedades de dureza y permeabilidad⁶².

⁵⁴Ramakrishnan A., Pandit N., Badgujar M., Bhaskar C., Rao M. Encapsulation of endoglucanase using a biopolymer Gum Arabic for its controlled release. *Bioresource Technology*, 2007; 9: 368–372.

⁵⁵Kaláb M., Larocque G. Suitability of Agar Gel Encapsulation of Milk and Cream for Electron Microscopy. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1996; 29: 368–371.

⁵⁶Formulado insecticida microencapsulado sobre una base de resina, para su aplicación en preparados y emulgentes, para el control y prevención de Artrópodos, dípteros, reptantes, acáridos, arácnidos y otras especies. 2 245 585 A1. Patente Europea, 2004.

⁵⁷Brazel CS. Microencapsulation: Offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World*, 1999; 44(6): 388-393.

⁵⁸Sheorey DS., Dorle AK. Preparation and study of release kinetics of rosin pentaerythritol ester microcapsules. *Journal of Microencapsulation*, 1994; 11(1): 11-17.

⁵⁹Salas S., Talero B., Rabasco A.M., González-Rodríguez M.L. Development and validation of a reverse-phase liquid chromatographic method for the assay of lidocaine hydrochloride in alginate-Gantrez® microspheres. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008; 47: 501–507.

⁶⁰Deasy P. *Microencapsulation and Related Drug Process*, 1983. Marcel Dekker, N. Y., pp. 21-59.

⁶¹Rivas I.P., Gil-Alegre M.E., Torres-Suarez A.I. Development and validation of a fast high-performance liquid chromatography method for the determination of microencapsulated pyrethroid pesticides. *Analytica Chimica Acta*, 2006; 557: 245–251.

•**Carbohidratos.** Son un grupo numeroso de compuestos, que debido a su alta solubilidad acuosa, carácter no higroscópico, una vida media alta a temperatura ambiente y bajo coste son muy utilizados como agentes encapsulantes⁶³.

Dentro de este grupo se pueden citar la **sacarosa**⁶⁴, el **almidón**^{65,66}, las **dextrinas**, la **celulosa** y el **quitosano**. Las dextrinas son polímeros con alto grado de ramificación, que se producen por el calentamiento del almidón en presencia de ácido o base, y mejoran la solubilidad y viscosidad del almidón modificado⁶⁷. Entre ellas se encuentran las **ciclodextrinas**, que son dextrinas cíclicas obtenidas a partir de una hidrólisis parcial del almidón de maíz por vía ácida o enzimática. La **celulosa**, es un polisacárido de glucosa, muy abundante y por ello muy utilizada para microencapsulación. Es rígida, insoluble en agua y biodegradable⁶⁸. El **quitosano (chitosan)** es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de β -(1,4) D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina. Se obtiene de la desacetilación de la quitina. Es soluble en disolventes polares apróticos, reacciona con agua, alcohol y aminas. El quitosano tiene una configuración relativamente rígida, propiedad que ha sido la base para preparar películas, geles, fibras y esferas. Se suele utilizar en el método de encapsulación de extracción/evaporación de disolvente⁶⁹.

⁶²Fernandez L., Arranz G., Palacio L., Soria C., Sanchez M., Pérez G., Lozano A. E., Hernandez A., Prádanos P. Functionalization of α -alumina cores by polyvinylpyrrolidone: properties of the resulting biocompatible nanoparticles in aqueous suspension. *Journal of Nanoparticle Research*, 2009; 11: 341–354.

⁶³Chen A. C., Veiga M., Rizzuto A. B. Cocrystallization: an encapsulation process. *Food Technology*, 1990; 44(11): 87–91.

⁶⁴Adhikari B., Howes T., Bhandari B.R., Langrish T.A.G. Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. *Journal of Food Engineering*, 2009; 94(2):144-153.

⁶⁵Tomka I. Encapsulado de principios activos en almidón. 2064078T3. European Patent, 1995.

⁶⁶Frederikseny H. K., Hansenz H. C. B., Pedersen M. Starch-encapsulated chlorpyrifos: release rate, insecticidal activity and degradation. *Soil Journal of Microencapsulation*, 2002; 19 (3): 319-331.

⁶⁷Nowakowska M., Sterzel M., Zapotoczny S., Kot E. Photosensitized degradation of ethyl parathion pesticide in aqueous solution of anthracene modified photoactive dextran. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2005; 57(1):1-8.

⁶⁸Barakat N., Ahmad A. Diclofenac sodium loaded-cellulose acetate butyrate: Effect of processing variables on microparticles properties, drug release kinetics and ulcerogenic activity. *J. of Microencapsulation*, 2008; 25(1): 31–45.

⁶⁹Higuera I., Felix L., Goycoolea M., Argüelles W., Method Of Preparing Chitosan Microcapsules Of Astaxanthin And Product Thus Obtained. 021798. USA Patent, 2004.

Los carbohidratos como las dextrinas se pueden utilizar mezclados con otros agentes encapsulantes como goma arábica, proteínas, gelatina o gantrez⁷⁰, aportando cada componente sus propiedades características al proceso^{71,72}. La combinación carbohidrato-proteína modifica las propiedades de la pared y el tamaño de las partículas, produciendo microcápsulas más esféricas y de superficie más tersa, que las obtenidas empleando únicamente polisacáridos^{73,74}.

⁷⁰Agüeros M., Campanero MA., Irache JM. Desarrollo y caracterización de nanopartículas de gantrez asociadas a ciclodextrinas. Estudios realizados por la Universidad de Navarra. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, 2005.

⁷¹McNamee BF., O'Riordan ED., O'Sullivan M. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1998; 46: 4551–4555.

⁷²El Bahri Z., Taverdet JL. Elaboration and characterisation of microparticles loaded by pesticide model. *Powder Technology*, 2007; 172: 30–40.

⁷³Hogana S.A. McNamee BF, O'Riordana ED., O'Sullivan M. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 2001; 11:37–144.

⁷⁴Kaushik V., Roos YH. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. *LWT-Food Science and Technology*, 2007; 40: 1381–1391.

1.3.2. CICLODEXTRINAS

Las **ciclodextrinas** (CDs) fueron aisladas por primera vez en 1891 por Villiers y Schardinger⁷⁵. Schardinger identificó las ciclodextrinas α y β en 1903. Durante décadas no tuvieron gran interés, aunque entre 1911 y 1935 el químico alemán Cramer y col., demostraron que podían formar microencapsulados, lo cual presentó un indudable atractivo, no sólo desde el punto de vista de la investigación pura, sino en numerosos aspectos de la investigación aplicada, así como en la industria farmacéutica, cosmética y agroalimentaria. Estos trabajos fueron retomados por Freudenberg en 1950, identificando la γ -CD⁷⁶, y sugiriendo la existencia de otras CDs, Figura 1.5. Las estructuras y las características físico-químicas básicas se determinaron entre 1942 y 1950 mediante difracción de Rayos X:

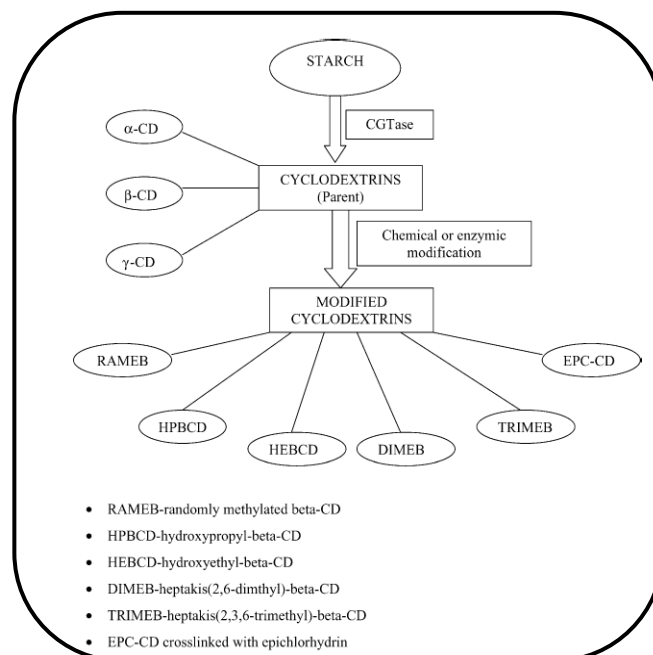


Fig 1.5. Esquema general de las ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas (CDs), carbohidratos que se obtienen de la degradación enzimática del almidón, son oligosacáridos cíclicos (moléculas de D-glucopiranososa unidos por enlaces glicosídicos 1-4). Las enzimas utilizadas para este proceso se llaman ciclodextrin-glicosil-

⁷⁵Villiers A. Sur la transformation de la fécule en dextrine par le ferment butyrique. Comptes Rendus French Academy Science, 1891: 435-438.

⁷⁶Cramer F. Saenger W. Spatz HC. Inclusion Compounds. XIX. The Formation of Inclusion Compounds of α -cyclodextrin in aqueous solutions. Thermodynamics and kinetics. Journal of American Chemistry Society, 1967; 89: 14.

transferasas (CGT-asas)⁷⁷. Hoy en día, las enzimas se obtienen por procesos de tecnología genética a partir de organismos genéticamente modificados, que rompen las cadenas de amilasa, y con los fragmentos se forman anillos, las CDs. Por esta razón también son denominadas cicloamilosas⁷⁸.

Según el número de unidades de glucosa que forma la ciclodextrina, ésta se nombra con una letra griega diferente. En la Figura 1.6 se muestran estas estructuras cíclicas, donde se aprecia claramente la forma del anillo y sus propiedades⁷⁹ se recogen en la Tabla 1.4.

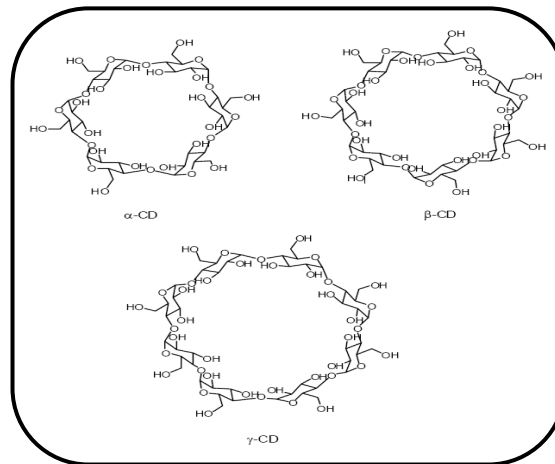


Fig 1.6. Estructura de las ciclodextrinas.

Tabla 1.4. Propiedades de las CDs.

	α	β	γ
Nº unidades de Glucosa	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidad H ₂ O(g/100mL)	14.5	1.85	23.2
pKa	12.33	12.2	12.8
Water molecules	6-7	11-12	7-13
Φ_{int} (nm)	0.45-0.57	0.62-0.78	0.79-0.95
Φ_{ext} (nm)	1.37	1.53	1.69
h(nm)	0.79	0.79	0.79
V(nm ³)	0.174	0.262	0.472

⁷⁷Abe S., Nagamine Y., Omichi K., Ikenaka T. Investigation of the active site of *Bacillus macerans* cyclodextrins glucanotransferas by use of modified maltooligosaccharides. *Journal of Biochemistry*, 1991; 110: 756-761.

⁷⁸Biwer A., Antranikian G. Enzymatic production of cyclodextrins apply. *Microbiology and Biotechnology*, 2002; 59: 609-617.

⁷⁹Martin Del Valle EM. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 2004; 39: 1033-1046.

De los estudios realizados con difracción de rayos X, se deduce que la cavidad del anillo de las CDs es ligeramente cónica, de manera que la molécula adquiere la forma de un cono truncado, toroide, representada en la Figura 1.7.

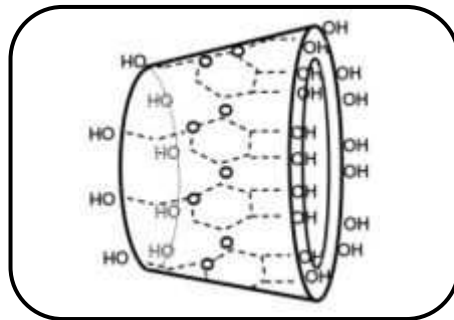


Fig 1.7. Estructura de toroide de la CD.

Sus lados los representan un lazo de seis o más hexágonos y, en consecuencia, la profundidad del cono es el ancho del anillo piranosico. Por fuera de él, en torno al borde mayor, se hallan los hidroxilos secundarios de C2 y C3 y, en torno al borde menor, se hallan los primarios de C6, esto es, los grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$, Figura 1.8.

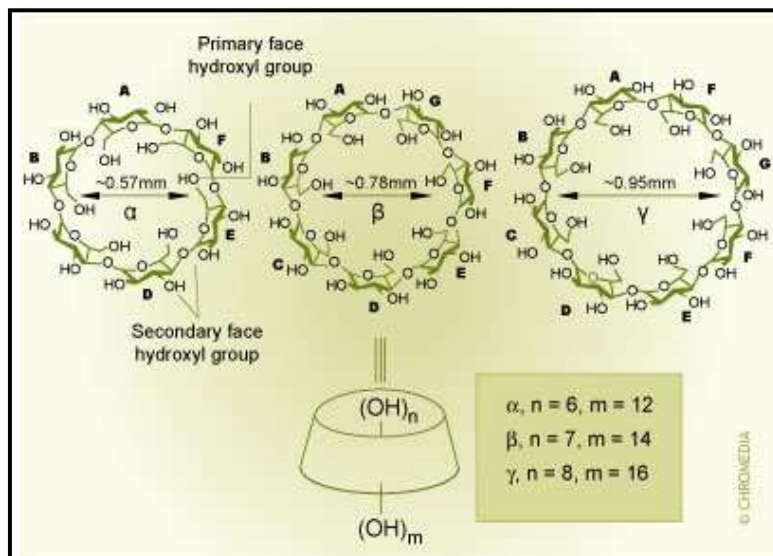


Fig 1.8. Disposición de los grupos hidroxilo en las CDs.

Debido a la presencia de estos grupos hidroxilo hidrófilos en los extremos de la cavidad, las CDs son solubles en agua. El interior del cono consiste en tres bandas superpuestas; dos de unidades C-H y, en medio, una de unidades de oxígeno glucosídico. Por lo tanto, los pares electrónicos no compartidos de los puentes de oxígeno hacen que la cavidad interior sea hidrofóbica.

La reacción más común de las ciclodextrinas es el ataque electrofílico de los grupos OH, la formación de éteres y ésteres por haluros de alquilo, epóxidos, isocianatos y ácidos inorgánicos. También se ha estudiado el ataque nucleofílico por parte de tiourea, iones haluro o aminas, requiriendo la activación del átomo de oxígeno por un grupo electronegativo⁸⁰.

La modificación química de las ciclodextrinas puede alterar sus propiedades químico-físicas, mejorando la solubilidad, estabilidad y controlando la actividad química de las moléculas con las que están unidas (moléculas huésped).⁸¹ Existen numerosos derivados de la ciclodextrina obtenidos por modificación de los grupos hidroxilos de las posiciones 2,3 y /o 6 de los restos de glucósido de la molécula, por grupos metilo o hidroxipropilo.

Las ciclodextrinas madre (sin derivatizar), en particular, la β -CD, tienen una solubilidad acuosa limitada comparada con los sacáridos acíclicos debido, en parte, a las fuertes uniones entre las moléculas de la ciclodextrina en estado cristalino. Además, la β -CD es capaz de formar enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo secundarios produciendo de este modo entalpías de disolución desfavorables, y, por tanto, una baja solubilidad acuosa. Para cambiar las propiedades físicas y químicas de las ciclodextrinas se han desarrollado diversos derivados. Unos de los más utilizados son los derivados parcialmente metilados que aumentan su solubilidad en agua. Por ejemplo, la solubilidad acuosa de la β -CD es del 1,85% (w/v) a temperatura ambiente, pero ésta puede aumentar hasta 150 veces al aumentar el grado de metilación (metil- β -CD). Igualmente, estos derivados pueden mejorar el perfil toxicológico, la capacidad de encapsular moléculas biológicamente activas y modular su perfil de liberación⁸².

Otro derivado de ciclodextrina, particularmente importante, es la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (OH- β -CD), obtenida tras el tratamiento de la β -CD con óxido de propileno y cuya solubilidad acuosa es del 60% (p/v).

La cavidad interior hidrofílica de las ciclodextrinas permite albergar moléculas hidrófobas, para formar complejos anfitrión-huésped⁸³, en los que la molécula huésped queda encapsulada por la ciclodextrina en lo que se denominan complejos de inclusión⁸⁴. Figura 1.9.

⁸⁰Szetjli J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev*, 1998; 98:1743-1753.

⁸¹Robyt JF. En *Essentials of carbohydrate chemistry*. CR. Cantor (ed.), Springer, 1998, U.S.A, pp. 254-261.

⁸²Bettinetti G., Sorrenti M., Catenacci L., Ferrari F., Rossi S. Polymorphism, pseudopolymorphism, and amorphism of peracetylated alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006; 41: 1205-1211.

⁸³Muñoz-Botella S., del Castillo B., Martyn MA. Cyclodextrin properties and applications of inclusion complex formation. *Ars Pharmaceutica* 1995; 36: 187-198.

⁸⁴Martínez G., Gómez MA. Ciclodextrinas: complejos de inclusión con polímeros. *Rev. Iberoam. Polim.*, 2007; 8(4): 300-312.

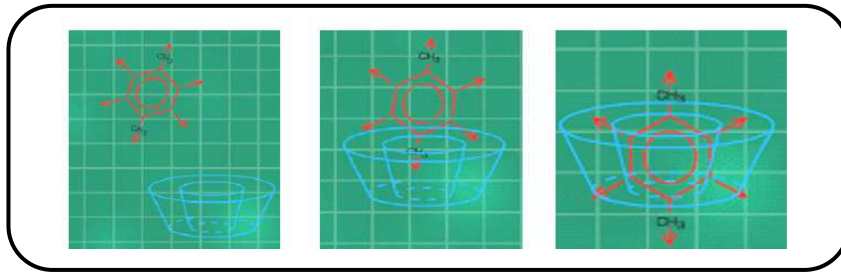


Fig 1.9. Formación de los complejos de inclusión con CDs.

Saenger y col.⁸⁵, proponen que en disoluciones acuosas la cavidad apolar de las CDs está ocupada por moléculas de agua, las cuales son inestables (polar-apolar) y pueden ser sustituidas por otras moléculas de la disolución que presenten menor polaridad que el agua. La esencia de la encapsulación es que las moléculas de CDs presentan mayor entalpía que las moléculas encapsuladas. Una vez dentro de la cavidad, la molécula huésped adopta la conformación que da lugar a un estado de menor energía y por lo tanto más estable⁸⁶.

Debido a la estructura de las CDs, Pszczola (1988), dedujo que estos oligosacáridos pueden formar complejos con compuestos sólidos, líquidos o gaseosos⁸⁷.

La habilidad de una CD para formar un complejo de inclusión con una molécula huésped es función principalmente de dos factores:

El factor estérico, que depende del tamaño relativo de la CD con respecto a la molécula encapsulada o de ciertos grupos funcionales clave de la molécula.

El factor termodinámico, que es debido a las interacciones entre los diferentes componentes del sistema CD-huésped-disolvente.

La estequiometría más frecuente de este tipo de complejos de inclusión es 1:1, sin embargo, se pueden incorporar dos moléculas huésped pequeñas, lo que da como resultado la formación de un complejo anfitrión:huésped 1:2. En ocasiones, cuando la molécula huésped es larga y voluminosa, se encapsula en dos moléculas de ciclodextrina, formando un complejo de inclusión 2:1. Además, puede ocurrir la autoasociación para formar un complejo 2:2, denominado dímero.⁸⁸

Se han estudiado los complejos del 12-corona-4 (12C4), ciclono (12N4) y 1,4,7,10-tetratiociclododecano (12S4) con CDs. Estos tres macrociclos forman sistemas de estabilidad moderada con la γ -CD, y han servido para llegar a conclusiones relevantes sobre el factor

⁸⁵Saenger W., Braesicke K., Steiner T., Knapp E.W. Diffusion of water molecules in crystalline β -cyclodextrin hydrates. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 2000; 18 (2):143-152.

⁸⁶Connors KA. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.*, 1997; 97: 1325.

⁸⁷Pszczola, DE. Production and potencial food applications of cyclodextrins. *Food Technology*, 1998; 42: 96-100.

⁸⁸Sanyo H. Inclusion complexes and the room-temperatura phosphorescence of 6-bromo-2-naphtol in aerated solutions of α -CD. *Journal of Physical Chemistry*, 1995; 99: 12109-12114.

predominante en la formación de los complejos de inclusión. En un principio se propuso que la fuerza intramolecular que desempeñaba el papel principal en la formación de estos complejos era la interacción hidrofóbica entre la molécula orgánica y la cavidad⁸⁹.

Si esto fuera cierto, no sería sorprendente que la adición de disolventes orgánicos, como el alcohol o éter, redujera considerablemente las constantes de adición (K_a) de los complejos, ya que disminuiría la polaridad del medio. No obstante, el valor de K_a para el complejo γ -CD:12C4 es casi el mismo en agua que en una disolución al 80% en MeOH, y solo ligeramente inferior que en DMSO. Por lo tanto, puede concluirse que las interacciones hidrofóbicas no son el factor predominante.

Sobre la base de este resultado se pensó que dicho factor estaría en los puentes de H y las fuerzas de van der Waals. Los primeros dependen en gran medida del pH y, sin embargo, al variar éste de 2 a 14, los cambios de las constantes de asociación son insignificantes, lo que sugiere que tampoco los puentes de H son un factor predominante. Otro hecho importante es que al aumentar la temperatura, disminuye la estabilidad de los puentes de H, pero la interacción hidrofóbica permanece esencialmente constante⁹⁰. Todo esto sugiere que todas las interacciones son igualmente importantes en la formación del complejo, por lo que no puede hablarse de una única fuerza conductora para este proceso.

Votgle y Muller⁹¹ en 1979 fueron los primeros en sintetizar complejos de CD con una clase de huéspedes que presentan la capacidad de encapsular a su vez otras moléculas dando lugar a estructuras de gran complejidad. Posteriormente, Kamitori y col.⁹² estudiaron, mediante difracción de rayos X, un gran número de estos compuestos. La información existente sobre estos compuestos en disolución es escasa debido a que su estabilidad es moderada y su formación es muy difícil de seguir mediante los métodos espectroscópicos convencionales como espectrofotometría uv y RMN.

⁸⁹Gafni A., Cohen Y. Complexes of macrocycles with γ -CD as deduced from NMR diffusion measurements. *Journal of Organic Chemistry*, 1997; 62: 120-125.

⁹⁰Ross P.D., Rekharsky M.V. Thermodynamics of hydrogen bond and hydrophobic interactions in CD complexes. *Biophysical Journal*, 1996; 71(4): 1607-1616.

⁹¹Vogtle F., Muller WM. Cyclodextrin. *Angew. Chem. Int. Engl.*, 1979, 18: 623.

⁹²Kamitori S. Hirotsu K. Higuchi T.J. Crystal and molecular structures of double macrocyclic inclusion complexes composed of cyclodextrins, crown ethers, and cations. *Chemical Society, Chemistry Community*, 1986; 109: 2409-2414.

1.3.3. APLICACIONES DE LA MICROENCAPSULACIÓN CON CICLODEXTRINAS

El origen de la microencapsulación data del año 1931, en el que se publicó un trabajo que describía la formación de microcápsulas de gelatina según un procedimiento que ya en aquel momento recibió la denominación de "coacervación". Esta técnica fue objeto de múltiples variaciones durante los años 40 y su aplicación más importante fue dirigida a la encapsulación de colorantes para la elaboración del papel de calco. Dicho papel consistía, en aquel entonces, en una fina película de microcápsulas adherida a una hoja de papel, de tal modo, que la presión ejercida por el bolígrafo sobre el papel provocaba la fractura de las microcápsulas y la consiguiente liberación del marcador, dejando patente la impresión en la hoja de copia⁹³.

La microencapsulación presenta aplicaciones interesantes en el campo farmacéutico, alimentario, en cosmética e higiene, en medioambiente y en la industria química⁹⁴ (Figura 1.10).

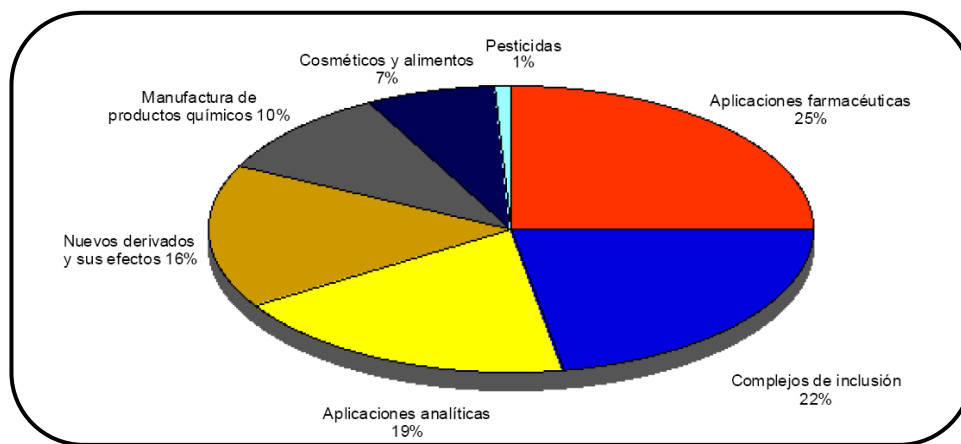


Fig 1.10. Campos de aplicación de las ciclodextrinas.

En la **industria farmacéutica**, el encapsulado de principios activos tiene como principal propósito la liberación controlada de fármacos, con el fin de dosificar la cantidad de fármaco necesaria en el lugar específico durante un periodo de tiempo controlado de forma precisa y efectiva. Las ciclodextrinas, debido a su capacidad de alterar las propiedades físicas, químicas y biológicas de la molécula huésped a través de la formación del complejo de inclusión, son candidatas potenciales para ser utilizadas como portadores compatibles con fármacos. Además se utilizan para aumentar la solubilidad de algunos fármacos en agua. Por otro lado, las ciclodextrinas se emplean en los procesos de separación enantiomérica

⁹³Yáñez J., Salazar JA., Chaires L., Jiménez J., Márquez M., Ramos EG. Aplicaciones Biotecnológicas de la Microencapsulación. Avance y Perspectiva, 2002; 21: 313.

⁹⁴Benita S. Microencapsulation: Methods and industrial applications, 1996. Marcel Dekker. New York.

de fármacos mediante cromatografía, debido a las diferencia de propiedades que presentan los enantiómeros. Otra ventaja que poseen, es la protección del huésped frente al oxígeno y a la irradiación UV.

Las CDs tienen especial interés en la industria farmacéutica por su biodisponibilidad, ya que son capaces de penetrar en tejidos biológicos. Las moléculas del principio activo se incluyen en la cavidad y pueden ser transportadas por la ciclodextrina hasta el lugar de su actuación^{95,96,97}.

En productos de uso diario: **cosmética, cuidado personal y doméstico**, existen numerosos ejemplos de utilización de ciclodextrinas: en cremas corporales, fragancias, productos "Odour control", ambientadores... con el fin de atrapar moléculas que provocan olores para eliminarlos o retenerlos y que sean capaces de liberarse en contacto con el calor del cuerpo humano o en el planchado de telas, en el caso de las fragancias^{98,99,100,101,102,103}.

En la **industria alimentaria** se utilizan en la preparación de productos libres de colesterol. La molécula hidrofóbica de colesterol es atrapada en el interior del anillo de CD y se elimina el colesterol de productos como el huevo, la leche o la mantequilla. Se utilizan también para estabilizar emulsiones como la mayonesa y compuestos volátiles constituyentes de malos olores y sabores^{104,105}.

La utilización de las CDs en el campo **medioambiental** se debe a su capacidad para formar complejos de inclusión con moléculas tóxicas, como metales pesados, sustancias estables como **pesticidas**, retardantes del crecimiento, repelentes o sinergistas^{106,107}.

⁹⁵Frömming KH., Szejtli J. Cyclodextrins in pharmacy (Topics in inclusion science), 1994, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (U.K.), pp. 127-148.

⁹⁶Rajewski RA., Stella VJ. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. In vivo drug delivery. Journal of Pharmaceutical Science, 1996; 85:1142-1168.

⁹⁷Del Castillo García B. Reconocimiento molecular por ciclodextrinas, de compuestos de interés farmacéutico. II Congreso de ciencias farmacéuticas de farmacia: ciencia y profesión en el siglo XXI, 2006. Monterrey (México).

⁹⁸Detergent composition with cyclodextrin perfume complexes to mask malodours. 123516. USA Patent, 2000.

⁹⁹Prasad N, Strauss D, Reichart G. Cyclodextrins inclusion for food, cosmetics and pharmaceuticals. 1,084,625. European Patent, 1999.

¹⁰⁰Woo R., Trinh T, Cobb DS, Schneiderman E, Wolff, AM, Rosenbalm EL, Ward TE, Chung AH, Reece S. Uncomplexed ciclodextrina compositions for odour control. 5,942,217. USA Patent, 1999.

¹⁰¹Tatsuya S. Stabilisation of fragrance in bathing preparations. 11, 209, 787. Japanese Patent, 1999.

¹⁰²Angell WF, France, PA. Detergent composition having granular cyclodextrin. 01 18,163. USA Patent, 2001.

¹⁰³Nelson G. Application of microencapsulation in textiles Original Research Article. International Journal of Pharmaceutics, 2002; 242 (1-2): 55-62.

¹⁰⁴Hedges RA. Industrial applications of cyclodextrins. Chemical Review, 1998; 98: 2035-44.

¹⁰⁵Rodal SK, Skretting G., Garred Ø., Vilhardt F., Deurs BV., Sandvig K. Extraction of cholesterol with methyl-cyclodextrin perturbs formation of clathrin-coated Endocytic Vesicles. Molecular Biology of the Cell, 1999; 10(4): 961-974.

¹⁰⁶Szejtli J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. Chemical Review, 1998; 98: 1743-53.

En el caso de los pesticidas, el encapsulado con las ciclodextrinas se realiza para la biorremediación de suelos, aire o agua¹⁰⁸ y para su utilización en formulaciones de insecticidas, cambiando las propiedades del biocida según el interés requerido^{109,110,111,112,113}.

En la **industria química** se utilizan derivados de ciclodextrina en reacciones catalíticas y para ayudar en los procesos de eliminación de tóxicos en la purificación de aguas residuales. La inclusión en las cavidades de las CDs incrementa la eficacia de extracción y mejora el rendimiento de determinadas reacciones en síntesis orgánica, gracias a que las ciclodextrinas actúan como catalizadores de determinadas reacciones. En este sentido, hemos de señalar que las ciclodextrinas se comportan como buenos modelos en diversas reacciones enzimáticas de gran aplicación en Bioquímica. Asimismo, el proceso de inclusión altera entre otras, las propiedades ácido-base y redox de los sustratos incluidos^{114,115}.

No se conocen efectos tóxicos de las ciclodextrinas¹¹⁶. En el caso de la β -ciclodextrina se ha podido demostrar su inocuidad. Sólo en caso de inyección intravenosa forma complejos con el colesterol que precipitan en la sangre y pueden colapsar el sistema cardiovascular. En algunos países las ciclodextrinas están admitidas como aditivo en la fabricación de los alimentos, aunque la Organización Mundial de la Salud recomienda no ingerir más de 6 mg/kg diario de estos compuestos¹¹⁷.

¹⁰⁷Szejtli J., Budai S., Radvány H.E., Papp L., Koermoezy G., Pap IG. Piperonyl butoxide-cyclodextrin inclusion complexes. 4524068. USA Patent, 1985.

¹⁰⁸Leitgib L., Gruiz K., Fenyvesi E., Balogh G., Murányi A. Development of an innovative soil remediation: Cyclodextrin-enhanced combined technology. *Science of the Total Environment*, 2008; 392 (1): 12-21.

¹⁰⁹Singh M., Sharma R., Banerjee UC. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnology Advanced*, 2002; 20: 341-359.

¹¹⁰Wollenweber HW., Rathjens A., Mainz HG. Agentes acuosos que contienen pesticidas. 2 225 613 T3. ES Patent, 2005.

¹¹¹Yang C-C., Hsinchu TW., Kao S-S., Taipei TW., Tzeng C-C., Taipei TW., Chen M-H., Hsinchu TW. Controlled-release pesticides and methods for preparation and use thereof. 08/253,592. USA patent, 1989.

¹¹²Southard MZ. Biologically active agent encapsulated in biodegradable starch/polymer matrices. 173097. USA Patent, 1994.

¹¹³Chadwick P.R., Jeries D.A. Formulaciones plaguicidas. 87301065.6. ES Patent, 1987.

¹¹⁴Baudin C., Pean C., Perly B., Goselin P. Inclusion of organic pollutants in cyclodextrin and derivatives. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2000; 77: 233-42.

¹¹⁵Allegre M., Deartani A. CD uses: from concept to industrial reality. *Agro Food Industry Hi Technology*, 1994; 5: 9-17.

¹¹⁶Martin del Valle EM. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 2004; 39: 1033-1046.

¹¹⁷Irie T., Uekama K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. Toxicological issues and safety evaluation. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1997; 86: 147-62.

1.4. OBJETIVO

Sobre la base de las ventajas de la microencapsulación y teniendo en cuenta los campos de aplicación de los productos encapsulados, el objetivo principal de este trabajo se centra en:

“Desarrollar las herramientas adecuadas que permitan obtener un producto medioambientalmente compatible, eficaz contra la mosca domestica, y aplicable tanto en interior como en el exterior de entornos urbanos y ganaderos”

Se pretende obtener microencapsulados que sirvan de base para la obtención de formulaciones aplicables al control de plagas.

Para la consecución del objetivo planteado se propone el siguiente plan de trabajo:

- Optimización del proceso de encapsulación.
- Caracterización del complejo de inclusión formado mediante diversas técnicas analíticas instrumentales.
- Estudio de la estabilidad de la molécula huésped y del complejo anfitrión:huésped formado. Identificación de los posibles productos de degradación formados.
- Estudio del efecto de la encapsulación sobre la solubilidad del biocida.
- Estudio de la eficacia del producto encapsulado contra los insectos objetivo.

Los compuestos objeto de estudio de este trabajo han sido:

-Insecticidas:

Piretroides (tetrametrina, bifentrina, α -cipermetrina, permetrina, esbiotrina, praletrina, deltametrina, ciflutrina y fenotrina)

Nicotinoides (acetamiprid, imidacloprid y tiacloprid)

Carbamatos (bendiocarb)

-Sinergistas: El estudio de Bútoxido de piperonilo (Bp), se debe a su acción sinergista en formulaciones que contienen insecticidas piretroides.

Como última parte del trabajo, se pretende demostrar la viabilidad del proceso de microencapsulación desarrollado, para la obtención de complejos de inclusión con el fungicida **tebuconazol**, utilizado de forma conjunta con algunos de los insecticidas estudiados.