



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)

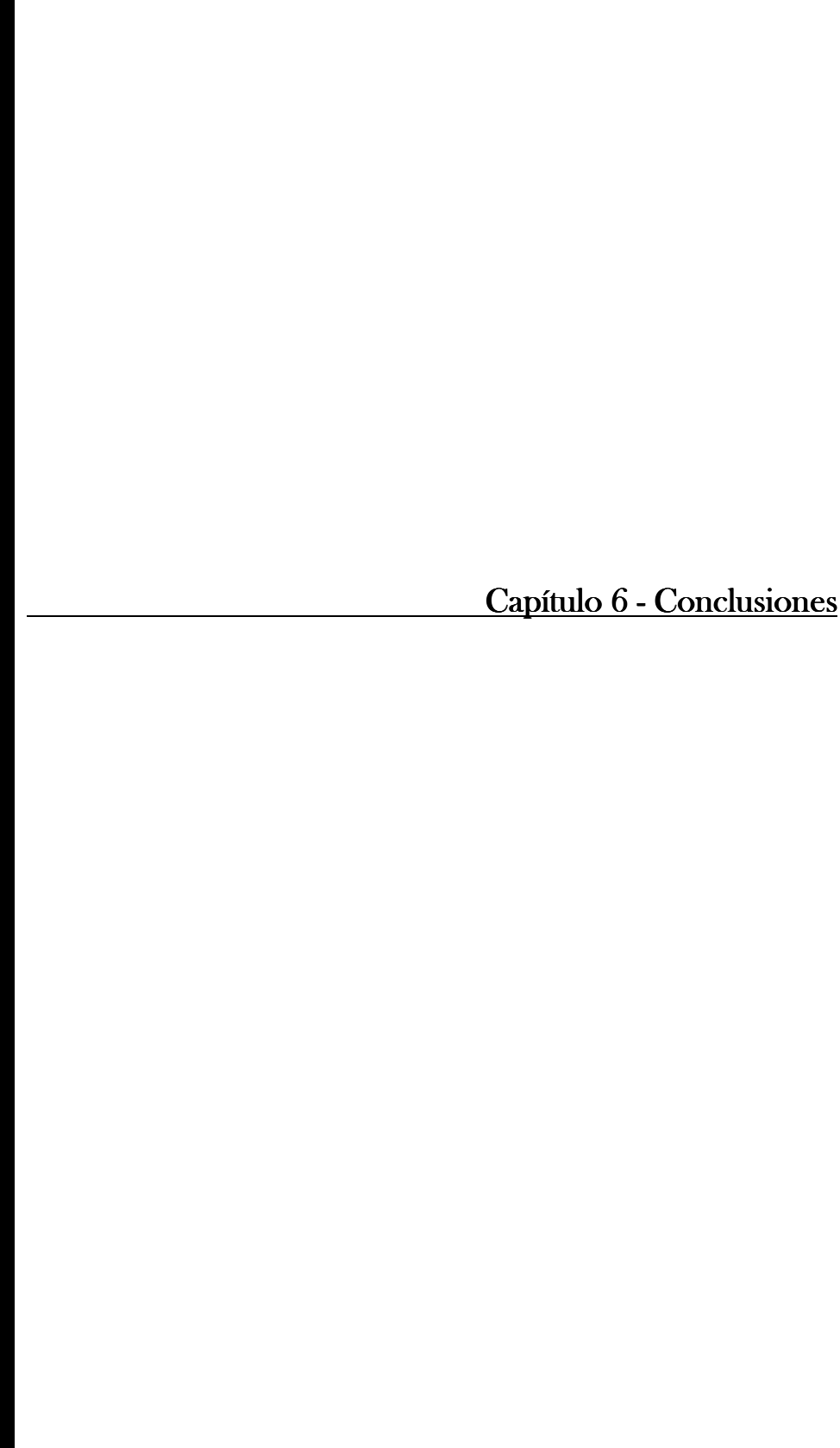
Febrero 2011

Capítulo VI:
CONCLUSIONES

ANEXOS



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



Capítulo 6 - Conclusiones

6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir que:

- ❖ Los insecticidas piretroides (tetrametrina, bifentrina, α -cipermetrina, permetrina, esbiotrina, praletrina, deltametrina, ciflutrina, y fenotrina), los nicotinoides (imidacloprid y tiacloprid), el carbamato bendiocarb y el sinergista Bp forman complejos de inclusión, utilizando CDs como encapsulantes.
- ❖ El método de disolución con disolventes orgánicos ha resultado ser el más adecuado para la formación de los complejos de inclusión biocida:CD con fines industriales, con un rendimiento del proceso de encapsulación superior al 99%.
- ❖ Los complejos de inclusión formados presentan distinta relación estequiométrica, como queda recogido en la Tabla 6.1.

Tabla. 6.1. Estequiometría de la reacción de formación de los complejos de inclusión biocida:CD.

Estequiometría de los Complejos de inclusión Biocida:CD	
Acetamiprid	1:1
Imidacloprid	1:2
Tiacloprid	1:2
Insecticidas piretroides	1:2
Bp	1:1
Bendiocarb	1:1

- ❖ Los complejos de inclusión biocida:CD de naturaleza cristalina, pueden clasificarse como **Microencapsulados**, ya que los agregados formados presentan un tamaño micrométrico.
- ❖ La falta de cristalinidad de los biocidas líquidos a temperatura ambiente, Bp, praletrina, esbiotrina, fenotrina, ciflutrina y permetrina, ha dificultado sus elucidaciones estructurales.
- ❖ El procedimiento de encapsulación optimizado es aplicable a la formación de complejos de inclusión de fungicidas como el tebuconazol.

❖ La microencapsulación de los compuestos objeto de estudio pueden dar respuesta a algunos de los problemas que se plantean en la industria de pesticidas:

➤ El perfil toxicológico inherente a los biocidas limita su utilización, lo que puede ser solventado al estar protegidos por medio de las CDs.

➤ La escasa solubilidad en agua obliga a la utilización de disolventes orgánicos para la fabricación de cebos. El aumento de hidrosolubilidad de los encapsulados formados permite la fabricación de productos más respetuosos con el medioambiente.

➤ La dificultad de manipulación de biocidas líquidos por el operario se soluciona por la formación de microencapsulados sólidos a temperatura ambiente, lo cual ofrece ventajas de gran importancia a nivel industrial, en cuanto a manejo, pesada o limpieza.

➤ La degradación de los biocidas en condiciones de almacenamiento, por agentes externos como temperatura, luz y humedad, disminuye al estar protegido el biocida por el agente encapsulante.

❖ Los productos obtenidos han mostrado su eficacia insecticida contra la mosca doméstica a nivel de laboratorio. Los estudios de campo requerirán la fabricación del producto comercial que contendrá el microencapsulado junto con otros componentes, como grasas, aceites, antioxidantes...por lo que será necesario comprobar el efecto de estos compuestos sobre el encapsulado.

En investigaciones posteriores, basadas en los resultados obtenidos en este trabajo, se pretende:

- ❑ Determinar las condiciones básicas que debe tener un producto biocida comercial, para mantener de forma estable y duradera los complejos de inclusión biocida:CD.
- ❑ Estudiar el efecto que algunos componentes como grasas, aceites, antioxidantes, conservantes o hidratantes, necesarios para la fabricación del producto comercial, sobre las propiedades del microencapsulado formado.
- ❑ Completar el estudio de la estructura de los complejos de inclusión con estudios moleculares, que nos ayuden a interpretar teóricamente los enlaces que están ocurriendo experimentalmente.
- ❑ Llevar a cabo estudios de Cryo-TEM para determinar de forma más fiable el tamaño de partícula de los microencapsulados.

Anexos

I. Reactivos y disoluciones.....	201
II. Instrumentación.....	203
III. Microscopía de barrido electrónico.....	206
IV. Dispersión láser.....	207
V. Difracción de RX.....	208
VI. Espectroscopía FT-IR.....	209

Anexo I. REACTIVOS Y DISOLUCIONES

Los principios activos de los biocidas han sido cedidos por la empresa DTS-OABE (Vizcaya, España) con una pureza del 98%.

Las disoluciones stock de cada biocida estudiado de concentración 100 mg/L, se prepararon por pesada en acetonitrilo.

Las ciclodextrinas han sido suministradas por Wacker Chemie AG, (Munich, Alemania) con una pureza mayor del 95%.

En las mezclas físicas, la concentración de CD y de biocida utilizada es la misma que la que se encuentra en los complejos de inclusión.

A lo largo de toda la experimentación se utilizó agua destilada de calidad MilliQ, obtenida del sistema Millipore Modelo 185 (Bedford, MA, EEUU).

Los disolventes orgánicos empleados: acetonitrilo, éter etílico, acetona, cloroformo y hexano eran de calidad HPLC de Scharlau (Barcelona, España).

Los productos utilizados en la determinación del contenido de CD en el complejo de inclusión fueron iodato potásico y periodato potásico suministrado por la casa comercial Probus (Barcelona, España).

El hidróxido sódico 10 M, utilizado en los análisis electroforéticos fue proporcionado por Hewlett Packard (Waldbronn, Alemania).

El modificador de flujo electroosmótico utilizado en ECZ fue el reactivo comercial Cia-Pack FFM anion BT de concentración 20µg/mL, suministrado por la casa comercial Waters (Barcelona, España).

Para corroborar la reacción de Malaprade se utilizó el reactivo 2,3-Butanodiol, pureza del 98%, de Aldrich (Wisconsin, USA).

Se utilizó agua deuterada, Euriso-Top (Gif sur Yvette Cedex, Francia), como disolvente en RMN-H¹.

Los estudios de la influencia del pH sobre la estabilidad de los biocidas y de los productos encapsulados se llevó a cabo utilizando disoluciones tampón de concentración 0,05M: HCOOH/NHCOOH, HAc/NaAc, ácido cítrico/Na₂HPO₄, hidrogenocarbonato/HCl, KH₂PO₄/K₂HPO₄, y NH₄Cl/NH₃. El tampón McIlvaine de NaH₂PO₄ (0,2 M)/Citrato (0,1 M) y ácido clorhídrico e hidróxido sódico 1M. Todos los reactivos utilizados fueron de calidad pro análisis, suministrados por la casa comercial Merck, Carlo Erba y Fluka (USA).

Anexo II. INSTRUMENTACIÓN

Las pesadas se realizaron en una balanza analítica Sartorius CP224S (Goettingen, Alemania) con una precisión de ± 0.0001 g

Se empleó un baño de ultrasonidos Selecta (Barcelona, España) para facilitar la disolución de algunas muestras.

Para llevar a cabo los estudios de verificación de la encapsulación, se procedió a secar el complejo de inclusión obtenido en disolución sometándolo a vacío, en un desecador termostático Vacuo-Vent J.P. Selecta (Barcelona, España) a 30°C.

Para el estudio del efecto de la temperatura y de la agitación sobre el encapsulado obtenido y para verificar el proceso de la encapsulación se recurrió al empleo de un calorímetro Mettler Toledo DSC 822^e (Barcelona, España)

La evaporación de las disoluciones de los complejos de inclusión en ACN, se efectuó en un Turbo Vap LV Evaporator Zymark (Hopkinton, MS, EEUU).

La agitación para los estudios de solubilidad de fase y para la etapa de optimización inicial del proceso de encapsulación se realizó con un agitador IKA RCT Basic safety control (Staufen, Alemania).

Se utilizó un espectrofotómetro uv-visible Cary 5000, Varian Inc (California, USA), para llevar a cabo el cálculo de la relación estequiométrica y para monitorizar la estabilidad de los biocidas.

El seguimiento de la degradación de los principios activos de los insecticidas piretroides se llevó a cabo utilizando un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Waters Alliance 2690 con detector ultravioleta Waters 484 (Massachusetts, USA)

En los estudios de solubilidad de fase las muestras fueron centrifugadas en una Centrífuga con control de temperatura 5804R Eppendorf (Hamburgo, Alemania).

El equipo de Termobalanza SHIMADZU DTG-60 (Columbia, USA) se utilizó para realizar las medidas de DTA/TGA.

El equipo utilizado para termostatar la reacción de Malaprade es un digestor termobloc, P Selecta (Barcelona, España)

Para la determinación electroforética se utilizó el equipo HP^{3D} Capillary Electrophoresis System de la casa comercial Agilent Technologies (Barcelona) con detección de fila de diodos y el software HP ChemStation A.06.03 para la adquisición y tratamiento de datos. Los capilares empleados fueron suministrados por Composite Metal Services Ltd (Worcester, Inglaterra).

Las medidas de difracción de RX en polvo, fueron realizadas con el difractor de la marca Bruker D8 Advance (Berlin, Alemania) equipado con monocromador primario de germanio, geometría Bragg-Brentano y con una longitud de onda CuK α 1 de 1.5406 (Å) correspondiente a un tubo de rayos X con anticátodo de cobre. Ha sido empleado un detector de energía dispersiva Sol-X con una ventana optimizada para CuK α 1 limitando la radiación de fluorescencia. La toma de datos ha sido realizada en modo continuo, el ángulo inicial y final de medida fue de 8 a 50 grados, el incremento de la posición de medida fue de un paso de 0.02° en 2 θ y tiempo de medida por paso de 15 segundos.

La toma de datos para elucidar la estructura del monocristal se ha realizado en un difractor Oxford Diffraction Xcalibur 2 equipado con tubo de molibdeno y detector de área CCD Sapphire 2, a una temperatura de 100K, usando un Cryostream 700 de Oxford Cryosystems alimentado con nitrógeno líquido.

Se utilizó un espectrofotómetro MATTSON FT-IR 1000, con una celda de líquidos de KBr sealed cell, de 0,5mm de camino óptico, suministrada por Pike Technologies (Madison, USA), con dos jeringas de 1mL de Popper and Son inc., (Nueva York, USA).

Se empleó un microscopio electrónico de barrido Philips 500 scanning. Las muestras fueron recubiertas de oro, usando una Sputter Coater E 5100, Bio-Rad (München, Germany).

Un equipo de dispersión por láser Masterize 2000 modelo Hydro 2000 μ P(A), Malvern Instrument Ltd., UK) se utilizó para la determinación del tamaño de partícula.

El Analizador elemental utilizado fue Eurovector EA 3000 (Milan, Italia).

Los espectros de RMN-H¹ se recogieron en MHz a 25°C en un espectrómetro Bruker AV500 (Bremen, Alemania), dotado de una sonda BBI de 5mm y equipado con gradientes en el eje Z, 25 °C.

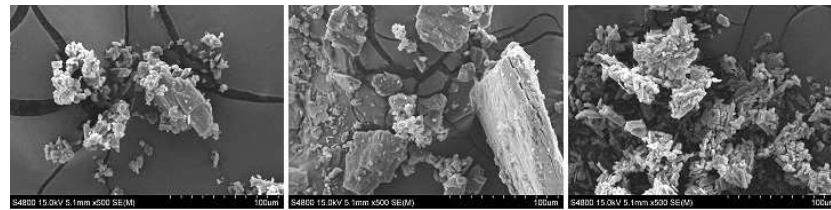
Los espectros de RMN-C¹³ CPMAS (Cross Polarization Magic Angle Spining) se realizaron durante 9 horas en un equipo Bruker Avance DSX 300 utilizando la secuencia de pulsos standard, un time domain 4 K, una anchura espectral de 50125 Hz, un tiempo de contacto de 2 ms y un tiempo entre pulsos de 6 s. Se utilizó una sonda de 7 mm y una velocidad de giro de 6000 Hz.

La influencia de la temperatura sobre la estabilidad de los biocidas y complejos de inclusión se realizó utilizando una Estufa J.P Selecta (Barcelona, España).

Los estudios de estabilidad en condiciones de stress se llevaron a cabo empleando la cámara de envejecimiento Solar box 1500, Neurtek (Eibar, España).

Para la caracterización de los metabolitos obtenidos de los procesos de degradación se empleó un cromatógrafo de gases Agilent 6890N acoplado a un detector de espectrometría de masas MS Agilent 5973 (California, USA).

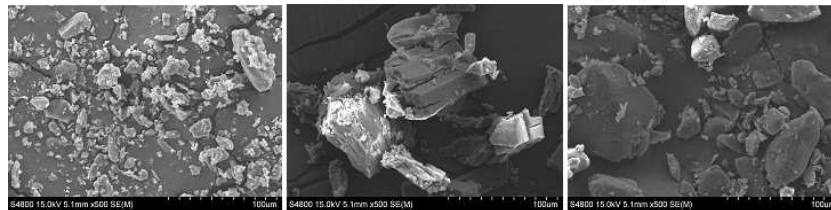
Anexo III. MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO



(a) Tiacloprid

(b) mezcla física

(c) complejo de inclusión



(a) Imidacloprid

(b) mezcla física

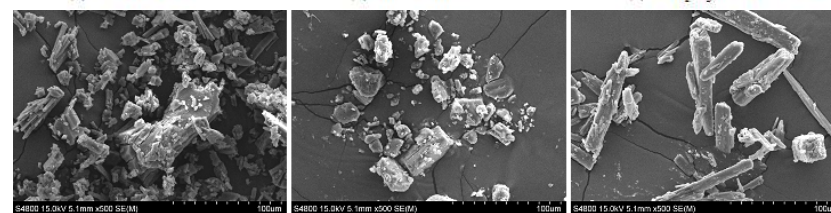
(c) complejo de inclusión



(a) Tetrametrina

(b) mezcla física

(c) complejo de inclusión



(a) Cipermetrina

(b) mezcla física

(c) complejo de inclusión



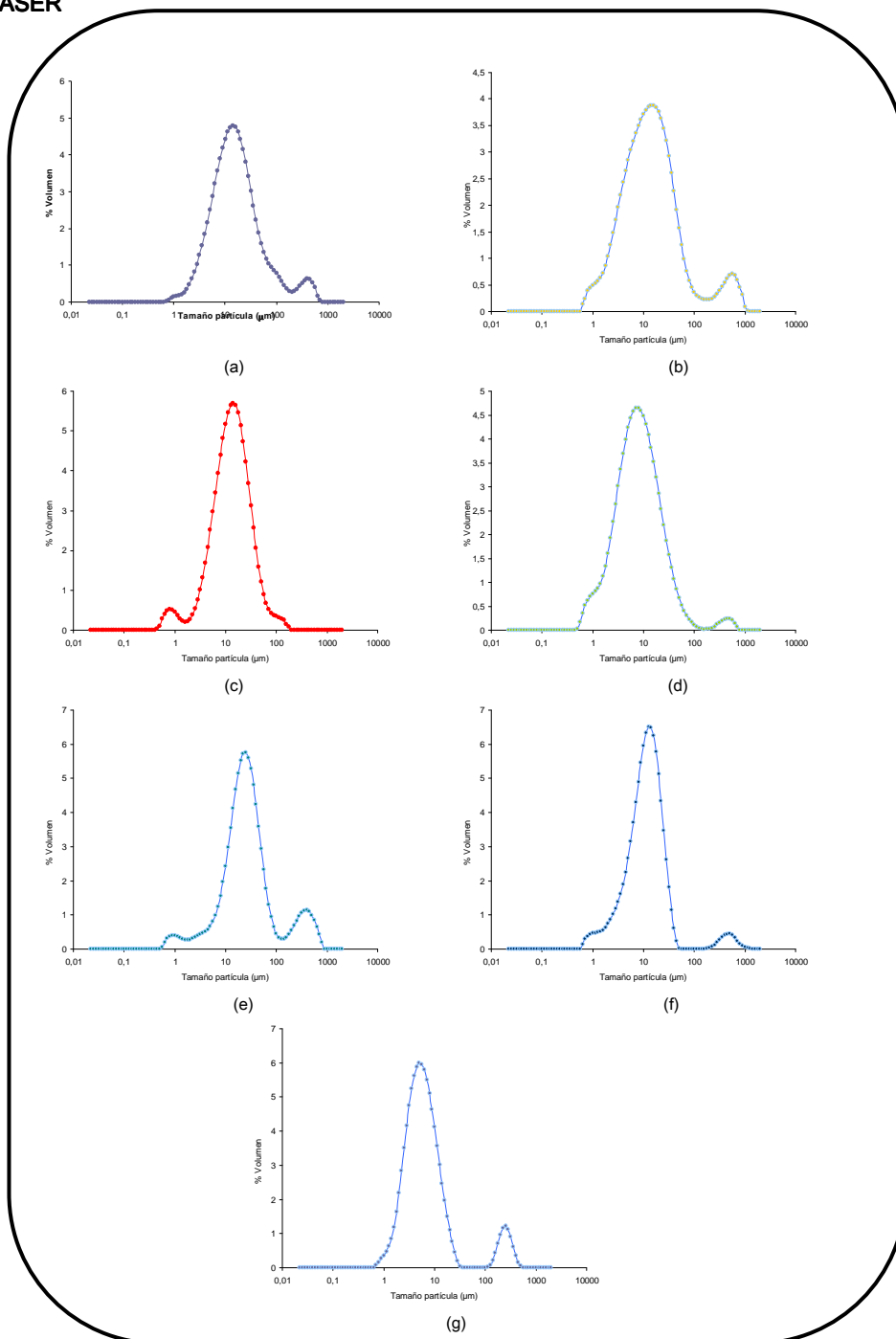
(a) deltametrina

(b) mezcla física

(c) complejo de inclusión

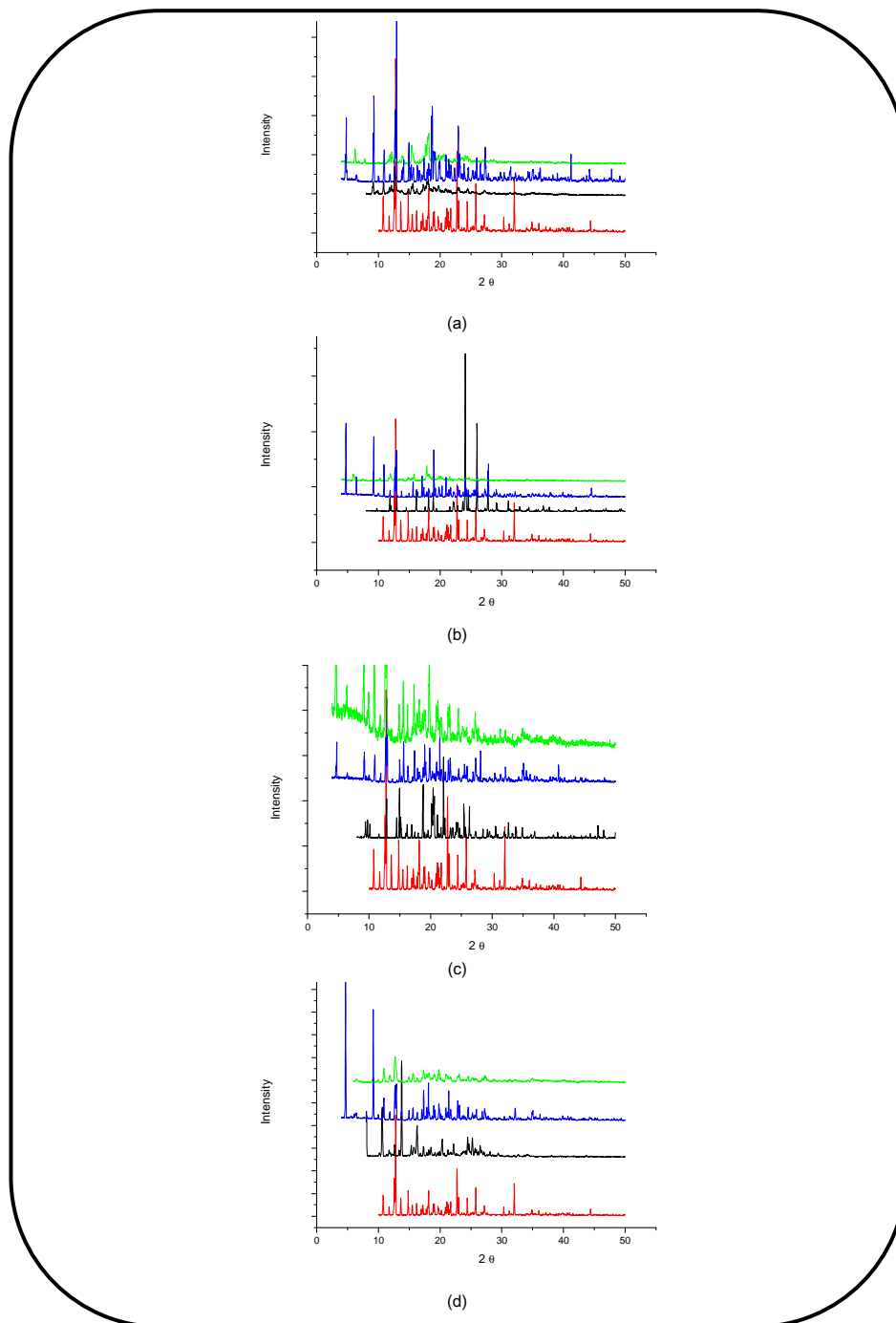
Imágenes obtenidas mediante SEM de los sistemas Tiacloprid, Imidacloprid, tetrametrina, α -cipermetrina y deltametrina: (a) principio puro, (b) mezclas físicas y (c) complejos de inclusión.

Anexo IV. DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA MEDIANTE DISPERSIÓN POR LÁSER



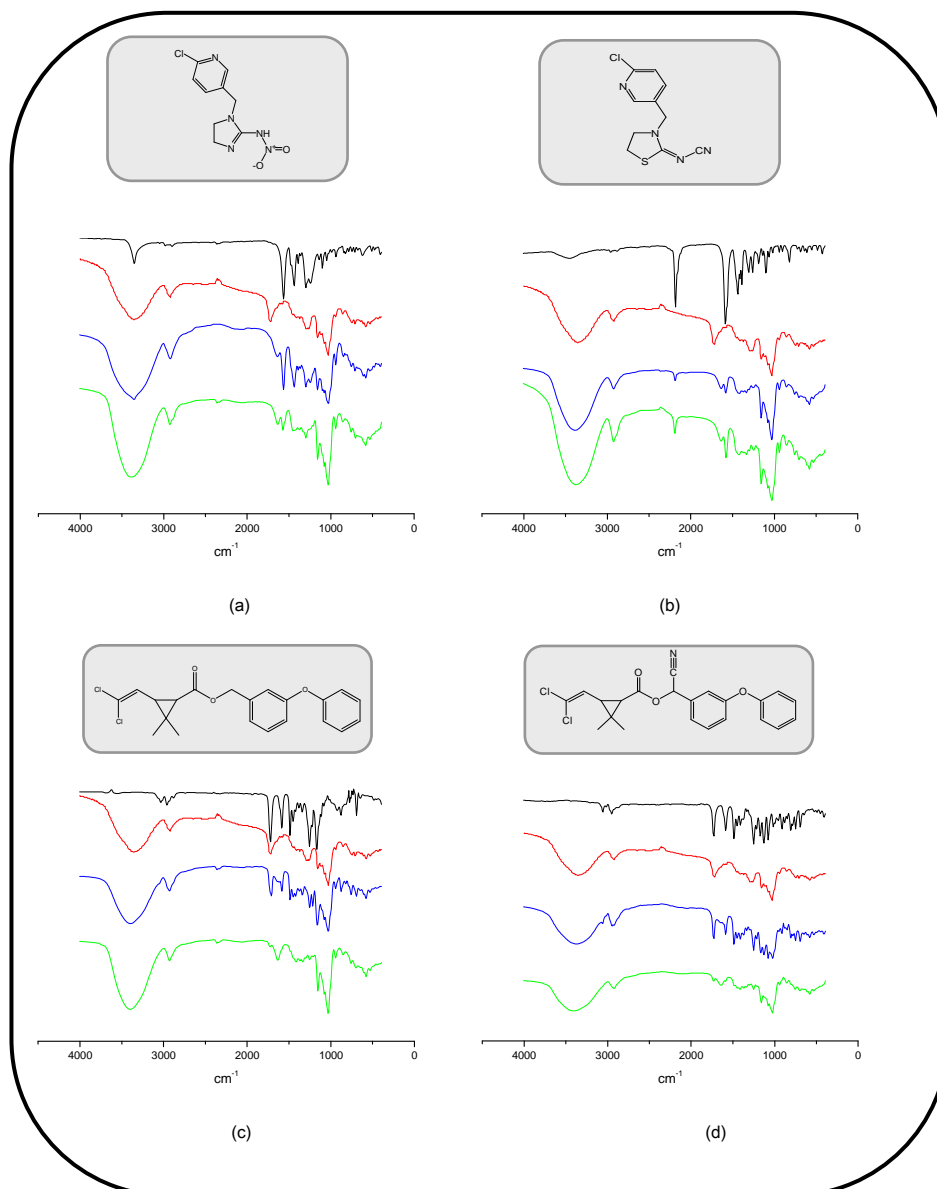
Distribución del tamaño de partícula de (a) Tiacloprid-CD, (b) Imidacloprid-CD, (c) Deltametrina-CD, (d) α -cipermetrina-CD, (e) Esbiotrina-CD, (f) Fenotrina-CD y (g) Permetrina-CD, analizados mediante dispersión por láser.

Anexo V. DIFRACCIÓN DE RX

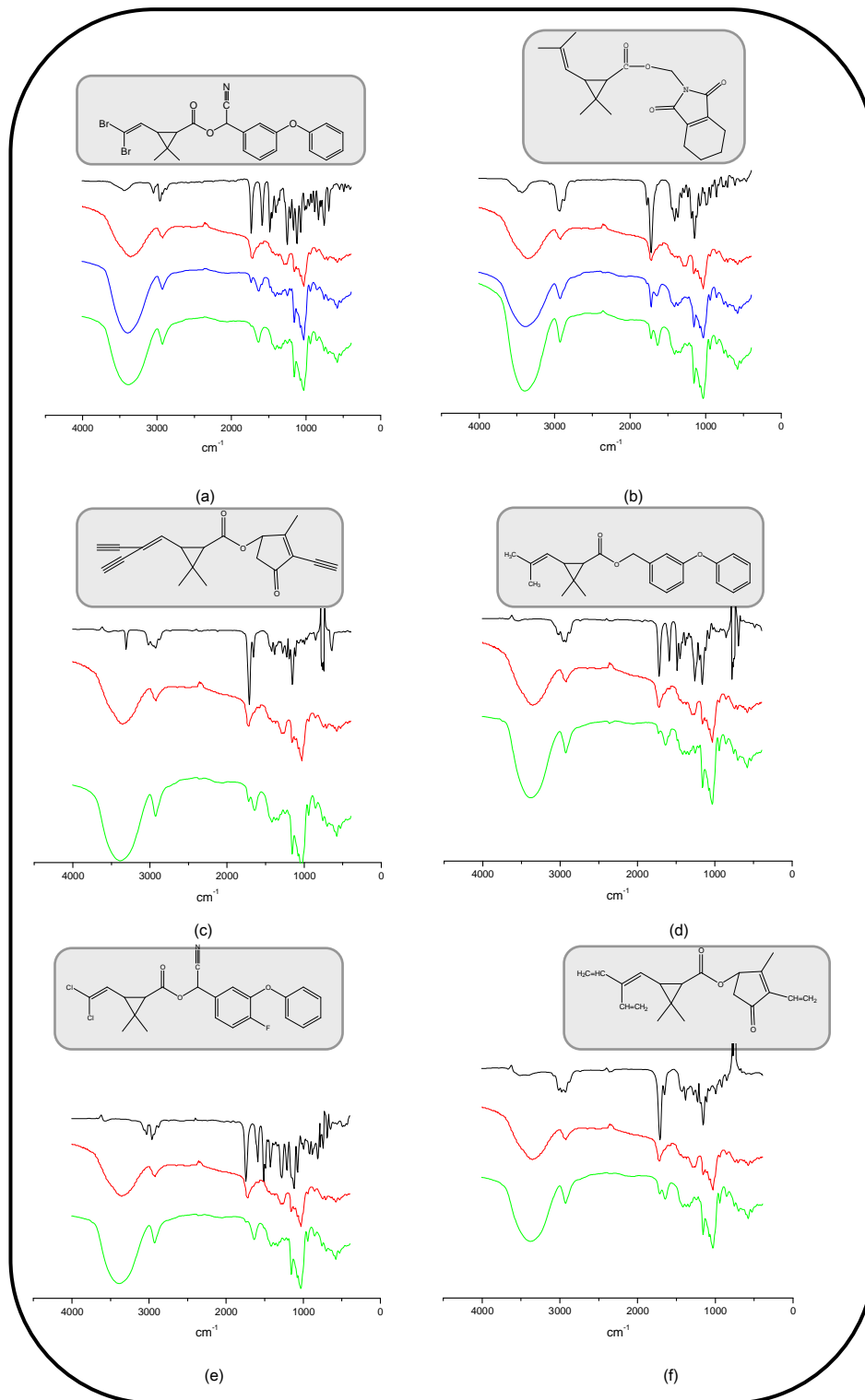


Perfiles de difracción de Rayos-X de: (a) Imidacloprid, (b) Tiacloprid, (c) α -Cipermetrina y (d) Tetrametrina (**negro**), β -ciclodextrina (**rojo**), mezcla física (**azul**), complejo de inclusión (**verde**)

Anexo VI. ESPECTROSCOPIA FT-IR



Espectros FT-IR de: (a), Imidacloprid, (b) Tiacloprid, (c) Permetrina y (d) α -Cipermetrina (**negro**), β -ciclodextrina (**rojo**), mezcla física (**azul**) y complejo de inclusión (**verde**)



Espectros FT-IR de: (a) Deltametrina, (b) Tetrametrina (c) Praletrina, (d) Fenotrina, (e) Ciflutrina y (f) Esbiotrina (**negro**), β -ciclodextrina (**rojo**), mezcla física (**azul**) y complejo de inclusión (**verde**)