



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Campus Omar Dengo”
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE QUIMICA

**APLICACION DE LOS HIDROGELES DEL ACIDO
ITACONICO EN LA LIBERACION CONTROLADA
DE UN PLAGUICIDA**

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Química, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química Industrial

OSCAR MARIO ROJAS CARRILLO

Heredia, Costa Rica

Octubre

2002

"Esta tesis fue aprobada por el Tribunal Examinador de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Química Industrial".

Director del trabajo de final de graduación Dr Manuel Moya P

Asesor M.Sc Rosario Sibaja B

Asesor M.Sc Clemens Ruepert

Decana de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales M.Sc. Juana Ma. Coto C

Director de la Escuela Dr. Juan Valdés G

Candidato Oscar Mario Rojas Carrillo

RESUMEN

Los hidrogeles poliméricos presentan características estructurales de enorme interés por su aplicación en el campo de la biomedicina y la agricultura. Los objetivos del presente estudio fueron preparar hidrogeles por copolimerización del ácido itacónico y la acrilamida con diferentes porcentajes de N,N-metilenbisacrilamida (1%, 2,5%, 5%, 10%) usado como agente entrecruzante para observar su efecto en la velocidad de liberación del plaguicida bromacil, introducido previamente en la red polimérica.

La estabilidad térmica de los de hidrogeles con 5% de agente entrecruzante con y sin plaguicida se determinó por medio del análisis termogravimétrico. En ambos casos se observan dos proceso de descomposición, el primero cercano a los 250°C y el segundo a los 400°C. La presencia del plaguicida causa una disminución de la estabilidad térmica del hidrogel reduciendo la temperatura de inicio de la descomposición de 217 °C a 167 °C.

Se estudió el hinchamiento de los hidrogeles sin plaguicida. Se demostró que al aumentar la concentración de agente entrecruzante el porcentaje de hinchamiento disminuye entre 4 687 % y 343 % para los hidrogeles con 1% y 10%.

La liberación de bromacil introducido en los hidrogeles se realizó en medio acuoso, a pH neutro y 23 °C. Se determinó que el bromacil se liberó en cuatro días. Las curvas de liberación de bromacil no muestran grandes diferencias en cuanto a la velocidad de liberación con respecto al contenido de agente entrecruzante. Sin embargo la formulación con 10% de agente entrecruzante libera el bromacil a una velocidad mayor que las demás.

Los datos de liberación se ajustaron al modelo cinético descrito por Stastna $M_t/M_z = k t^n$ (Stastna, 1995), encontrándose que los materiales presentan ordenes de liberación “n” de 0,70, 0,70, 0,55 y 0,41 para los hidrogeles con 1%, 2,5 %, 5%, 10% de agente entrecruzante respectivamente. Esto indica que el mecanismo de liberación del bromacil para las tres primeras formulaciones está gobernado por difusión e interacción del polímero con el agente activo bromacil mientras que el hidrogel con 10% de entrecruzante presenta otros fenómenos de liberación.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

A esa energía infinita y poderosa llamada Dios,
mi amigo incondicional.

A mi familia

María de los Angeles y Fabia , por su humildad, sencillez, honradez y amor. Las quiero muchísimo.

A mis hermanos, Adriana y Deylin, Jorge. A mi papá Eladio. Al Dr Danilo Flores. Dios los bendiga y los tenga siempre con salud.

A la Familia Rojas Cortés:

En especial a mi padre, su familia, a mis tíos, tías y primos por su gran apoyo, su comprensión y cariño que me han dado siempre.

AI POLIUNA:

En especial a mi tutor el Dr. Manuel Moya por creer siempre en mi y en mi trabajo y por hacer que este fuera el mejor y a la M.Sc. Rosario Sibaja por su gran dedicación, infinitas gracias y espero algún día retribuirles todo lo que han hecho por mí.

Gracias José, Marlen, Rocío, Guillermo, Patricia, Svetlana por su apoyo, confianza y consejos. A mis compañeros del POLIUNA Karol, Karina y Sergio y demás asistentes por brindarme su amistad y confianza.

Al Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (IRET)

Un agradecimiento muy especial al M.Sc. Ruedert Clemens por acceder a ser mi asesor, por su valiosa ayuda y confianza. A Diego, Juan, Karla, Margaret, Federico, Andrea y Rocío por ser mis amigos y compañeros.

A mis amigos:

José, Richard, Roy, David, Lucrecia y Alejandro por haber compartido conmigo durante cinco años viviendo experiencias buenas y difíciles... Pura vida y gracias por ser mis amigos. Dios les bendiga y les de sabiduría para seguir adelante.

Al personal de los Laboratorios:

A los compañeros, asistentes y profesores de los distintos laboratorios de la Escuela de Química de la Universidad Nacional: LAQAT, LASEQ, Laboratorio de Química Marina, Laboratorio de Biodiversidad, LAGEDE, gracias por su ayuda y apoyo.

Gracias Dr. Juan Valdés por su amistad, por su confianza y apoyo. Infinitas gracias...

Gracias a mis profesores, por enseñarme lo que se ahora y por su dedicación durante sus valiosas clases. Al personal de la Dirección, de la biblioteca (QUIMIDOC), a los conserjes, Agustín, y a los asistentes de laboratorio Miguel, Hugo y César. Infinitas gracias a todo el personal de la Escuela de Química.

RECONOCIMIENTOS

Al Laboratorio de Polímeros de la Escuela de Química de la Universidad Nacional (POLIUNA). Especialmente al Dr. Manuel Moya P. como tutor de mi tesis y coordinador del laboratorio y a la M.Sc. María del Rosario Sibaja B. como asesora.

Al Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (IRET) y el Laboratorio de Análisis de Residuos Peligrosos (LAREP) por su confianza y por permitirme utilizar sus equipos. Especialmente al M.Sc. Ruerpert Clemens como asesor de este trabajo y coordinador del laboratorio.

Al Dr. Juan Valdés G., Director de la Escuela de Química de la Universidad Nacional de, por el apoyo brindado.

INDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	IV
AGRADECIMIENTOS	V
RECONOCIMIENTOS	VII
INDICE DE CUADROS	XI
INDICE DE FIGURAS	XII
INDICE DE ANEXOS	XIV
CAPITULO I	
1. INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
2. FUNDAMENTO TEORICO	4
2.1 Sistemas de liberación controlada de principios activos en el campo agrícola	5
2.2 Hidrogeles	6
2.2.1 Usos de los hidrogeles	6
2.2.2 Síntesis de hidrogeles	6
2.2.3 Caracterización de los hidrogeles	10
2.2.4 Incorporación de sustancias al hidrogel	10
2.3 Mecanismo de liberación por difusión	12
2.4 Utilización del ácido itacónico en la liberación controlada de principios activos.....	13
2.5 Toxicidad.....	13
CAPITULO III	
3. PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 Purificación y caracterización de reactivos.....	15
3.1.1 Reactivos	15
3.1.2 Purificación del agente activo.....	15
3.1.2.1 Materiales y equipos.....	15
3.1.2.2 Procedimiento.....	15

3.1.3	Control de pureza del agente activo.....	16
3.1.3.1	Análisis diferencial de barrido (DSC).....	16
3.1.3.1.1	Condiciones de análisis	16
3.1.3.2	Análisis Ultravioleta (UV).....	16
3.1.3.3	Análisis Infrarrojo (FTIR).....	16
3.2	Síntesis de hidrogeles.....	16
3.2.1	Síntesis de hidrogeles sin agente activo.....	16
3.2.1.1	Materiales y equipos	16
3.2.1.2	Procedimiento	17
3.2.2	Síntesis de hidrogeles con bromacil.....	18
3.2.2.1	Procedimiento.....	18
3.2.3	Análisis termogravimétrico (TGA).....	18
3.2.3.1	Condiciones de análisis	18
3.2.4	Estudio de absorción de agua de los hidrogeles.....	18
3.2.4.1	Materiales y equipos.....	18
3.2.4.2	Procedimiento.....	19
3.3	Evaluación de la cinética de liberación.....	19
3.3.1	Materiales, equipos y reactivos.....	19
3.3.2	Procedimiento.....	20
3.3.3	Condiciones de análisis	20

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSION	21
4.1 Control de pureza	21
4.2 Síntesis de hidrogeles	22
4.2.1 Caracterización de los hidrogeles	23
4.2.1.1 Análisis termogravimétrico (TGA).....	23
4.2.1.2 Estudio de absorción de agua de los hidrogeles	24
4.3 Liberación de bromacil desde los hidrogeles	26

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	30
--	-----------

	Página
CAPITULO VI	
6. BIBLIOGRAFIA	32
CAPITULO VII	
ANEXOS	37

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Sustancias liberadas desde matrices poliméricas	11
Cuadro 2. Cantidades de N,N-metilenbisacrilamida (MBA) utilizadas para la síntesis de hidrogeles del ácido itacónico.....	18
Cuadro 3. Análisis termogravimétrico del hidrogel con 5% de entrecruzante.....	23
Cuadro 4. Análisis termogravimétrico de los monómeros y del bromacil usados en la síntesis de los hidrogeles	24
Cuadro 5. Determinación de las constantes de la liberación de bromacil en medio acuoso o estático usando el modelo $M_t/M_z = k t^n$	29

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representación esquemática de un polímero lineal, ramificado y entrecruzado.....	1
Figura 2. Estructura molecular del bromacil	4
Figura 3. Bromacil importado en Costa Rica por año de 1998 al 2001	5
Figura 4. Estructura molecular del ácido itacónico.....	7
Figura 5. Estructura molecular de la acrilamida	7
Figura 6. Estructura molecular de la N,N-metilenbisacrilamida.....	7
Figura 7. Representación esquemática de un hidrogel polimérico.....	8
Figura 8. Primeros intermediarios en la reacción de polimerización	9
Figura 9. Diferentes velocidades de los mecanismos de liberación.....	12
Figura 10. Sistema utilizado para la síntesis de los hidrogeles y las formulaciones bromacil-hidrogel.....	17
Figura 11. Cromatograma de bromacil obtenido por HPLC	22
Figura 12. Fotografía donde se muestran los hidrogeles de ácido itacónico secos e hidratados	22
Figura 13. Porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles del ácido itacónico con diferentes porcentajes de agente entrecruzante (MBA).....	25
Figura 14. Porcentaje de hinchamiento en función de la concentración de agente entrecruzante en los hidrogeles de ácido itacónico.....	26

	Página
Figura 15. Porcentaje de bromacil liberado desde hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentajes de agente entrecruzante.....	27
Figura 16. Hidrogel de 10% de entrecruzante y que contiene bromacil donde se muestran las fracturas que ocurren durante el proceso de liberación del plaguicida	28

INDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Figura 17. Análisis calorimétrico diferencial de barrido (DSC) de una muestra de bromacil.....	37
Anexo 2. Figura 18. Espectro de absorción ultravioleta de una muestra de bromacil.....	37
Anexo 3. Figura 19. Espectro Infrarrojo (FTIR) de una muestra de bromacil.....	38
Anexo 4. Figura 20. Análisis termogravimétrico de una muestra de un hidrogel de ácido itacónico al 5% de entrecruzante sin bromacil.....	38
Anexo 5. Figura 21. Análisis termogravimétrico de una muestra de ácido itacónico al 5% de agente entrecruzante con bromacil	39
Anexo 6. Cuadro 6. Determinación del porcentaje de hinchamiento en los hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentajes de entrecruzante.....	39
Anexo 7. Figura 22. Curva de calibración usada para la cuantificación del bromacil	40
Anexo 8. Figura 23. Cromatograma de la elusión del patrón (a) y de una muestra de bromacil(b)...	41
Anexo 9. Cuadro 7. Porcentaje de bromacil liberado desde los hidrogeles de ácido itacónico en medio acuoso usando diferentes porcentajes de MBA	41

CAPITULO I

1. INTRODUCCION

Los polímeros “son grandes moléculas constituidas por la repetición de unidades químicamente más simples denominadas monómeros” (Billmeyer, 1984). Los monómeros pueden estar distribuidos en la cadena formando polímeros lineales, ramificados o entrecruzados tal y como se muestran en la Figura 1.

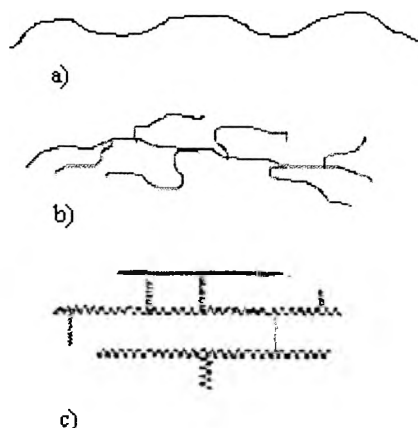


Figura 1. Representación esquemática de: a) Polímero lineal, b) Polímero ramificado, c) Polímero entrecruzado (Billmeyer, 1984).

Según su origen los polímeros se clasifican en dos tipos: los de origen natural y los de origen sintético. Entre los naturales se tienen los polisacáridos, como el almidón o la celulosa, las proteínas, los ácidos nucleicos y otros materiales como el caucho. Los sintéticos se obtienen a partir de monómeros derivados del petróleo, los cuales reaccionan por medio de dos tipos de mecanismos de polimerización.

a) Polimerización por adición o polimerización en cadena, la cual sucede principalmente con monómeros etilénicos y está constituida por tres etapas: iniciación, propagación y terminación. Los intermediarios de este tipo de polimerización pueden ser:

- i. Radicales libres, cuando la apertura del doble enlace origina un radical libre.
- ii. Iónica, cuando luego de la apertura del doble enlace se origina un anión o un catión.

b) Polimerización por condensación o polimerización en etapas, la cual se produce por una serie de reacciones sucesivas entre monómeros polifuncionales con la pérdida de moléculas pequeñas que generalmente son agua, alcoholes, ácido clorhídrico u otras (Katime, 1994).

Los polímeros constituyen desde inicios del siglo pasado una nueva clase de materiales de gran utilidad en la vida moderna. Algunos como el polietileno y el polipropileno, son utilizados en la elaboración de materiales de empaque; el polietilentereftalato (PET) y el cloruro de polivinilo (PVC) son usados en la producción de envases y tuberías; el teflón es empleado como antiadherente; las poliamidas (nylon) y los

poliésteres (tergal), son utilizados en la industria textil; el caucho es destinado para la manufactura de llantas y neumáticos en la industria automotriz y muchos más. (Billmeyer, 1984).

Los sistemas de dosificación controlada de principios activos, ya sean plaguicidas o fármacos, es una nueva tecnología que ha venido a revolucionar las aplicaciones tanto en el control de plagas como en las aplicaciones médicas. Lo anterior ha permitido contar con un medio de dosificación en el lugar de acción, reproducible, efectivo y seguro. El desarrollo de esta tecnología se ha apoyado fundamentalmente en el comportamiento y propiedades de sistemas poliméricos naturales y sintéticos, los cuales son capaces de mantener una concentración óptima y un nivel adecuado de liberación del compuesto activo (Stephenson, 1996). Se ha utilizado polímeros de metacrilato de metilo, policloruro de vinilo, polisulfonas y acetato de celulosa para encapsular diferentes agentes activos como fármacos y agroquímicos. También se han utilizado polímeros naturales como almidón, celulosa, pectina, quitina, quitosano, ácido algínico y lignina, los cuales poseen además la característica de ser biodegradables (Stephenson, 1996).

Los hidrogeles son una clase particular de polímeros que tienen la propiedad de absorber grandes cantidades de agua sin afectar de manera aparente su integridad estructural. Algunos de estos materiales se obtienen mediante polimerización de monómeros etilénicos como por ejemplo derivados del ácido acrílico. Los hidrogeles pueden ser usados como sistemas de liberación de sustancias o compuestos, tales como fertilizantes, plaguicidas entre otros, proporcionando una nueva alternativa para el sector agrícola, pues posibilita una utilización racional de estos compuestos (Sáenz et al. 2002, Enciclopedia de Tecnología Química, 1998).

En Costa Rica la actividad agrícola, requiere de tratamientos que conllevan al uso de los plaguicidas para aumentar los rendimientos en la producción pero, paralelamente, su mal uso multiplica las intoxicaciones de personas y animales (IRET, 1999; Pesticides News, 2000).

La utilización de cantidades excesivas de plaguicida, debido en parte, a la pérdida substancial de éstos en el ambiente, crea una serie de problemas económicos y ecológicos. Su aplicación afecta no solamente a las plagas sino también provocan la eliminación de individuos polinizadores resultando con ello una disminución de la producción (Hilje et al. 1987). La pérdida de plaguicidas es originada en parte por la dispersión que produce el viento y el agua, los cuales los canalizan hacia otros lugares, contaminando la atmósfera y los terrenos aledaños, así como las aguas superficiales y subterráneas, que pueden producir intoxicaciones, trastornos fisiológicos, reproductivos, bioquímicos y hasta la muerte de animales y de otros componentes del ecosistema (Hilje et al. 1987; Pesticides News, 2000). El efecto sobre la salud humana también es motivo de preocupación ya que se pueden producir síntomas o efectos a corto y largo plazo, tales como lesiones oculares, alergias, intoxicaciones, cáncer, malformaciones congénitas, esterilidad y abortos (Hilje et al. 1987)

Sin embargo, la forma violenta con que las plagas atacan a la producción agrícola ha incentivado que se tomen medidas que requieren altos costos, como es el uso de múltiples plaguicidas así como diferentes métodos de aplicación (Solano et al. 1994).

Estas razones han motivado la búsqueda de nuevas metodologías y técnicas de aplicación más eficientes, con el fin de equiparar la relación costo beneficio en la utilización de los plaguicidas y disminuir el impacto que estos producen al ambiente. Como un aporte al desarrollo de estas metodologías, se plantea en el presente estudio el uso de hidrogeles como sistema de liberación de un plaguicida.

CAPITULO II

2. FUNDAMENTO TEORICO

Como la mayoría de los países de Latinoamérica, Costa Rica importa grandes cantidades de productos agroquímicos, lo cual provoca un gasto de dinero y un drenaje de divisas. De acuerdo con el Ministerio de Salud y el la Caja Costarricense del Seguro Social, entre 1991 y 1996 la importación de plaguicidas aumentó en 0,4 millones de kilogramos en nuestro país.

Uno de los plaguicidas utilizados es el bromacil (5-bromo-3-*sec*-butil-6-metil uracilo) Figura 2, el cual es usado para el control de malezas en cultivos como los cítricos y la piña. Comercialmente es conocido como Hyvar o Krovar. Pertenece al grupo uracilo, bromado y está registrado en Costa Rica desde 1997. Su modo de acción es selectivo, pues solo afecta las malas hierbas y no el cultivo de interés comercial. Es absorbido a través de la raíz de la planta inhibiendo el proceso fotosintético. Provoca un intercambio en la secuencia de ciertos aminoácidos causando la destrucción de la planta por foto-oxidación de los carotenoides y posteriormente de la clorofila (The Agrochemical Handbook, 1994, Tomlin , 1994).

El bromacil es un compuesto soluble en agua, lo cual conlleva a que tenga una alta movilidad en el suelo y una persistencia en los sedimentos. En Costa Rica se ha detectado en aguas superficiales en áreas de producción de piñas en concentraciones superiores a los 20 µg/L, las cuales generan el riesgo de afectar el ecosistemas acuático (Gustafsson et al. 2001).

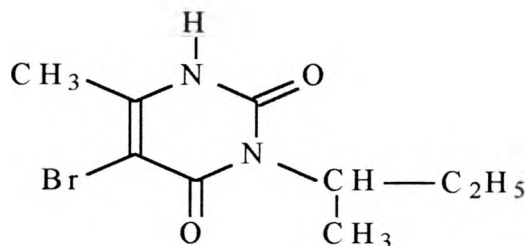


Figura 2. Estructura molecular del bromacil.

Se aplica en concentraciones que varían entre 2 y 6 kg por hectárea (Chinchilla, 2000; IRET, 1999). En los últimos cuatro años las importaciones de este producto han aumentado notablemente. En la Figura 3, se puede observar que el consumo de bromacil en 1998 fue de 17,7 ton mientras que para el año 2001 fue de 37,4 ton (Chaverri, 2002), lo cual significa un aumento de más del 110% en el periodo.

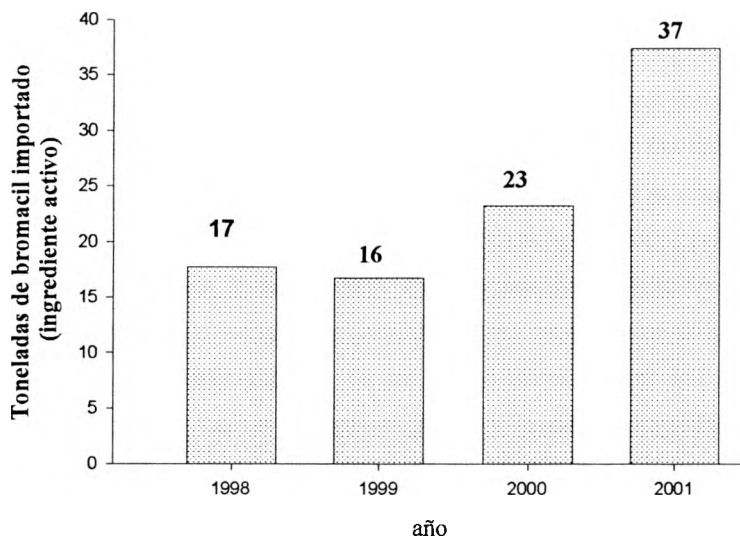


Figura 3. Bromacil importado en Costa Rica por año de 1998 al 2001(Chaverri, 2002).

Los criterios para la selección del bromacil se basaron en varias características tales como: moderada toxicidad en humanos, estabilidad térmica y química, manejabilidad, grado de permanencia en el suelo y su uso en Costa Rica. Además, absorbe radiación en la región ultravioleta teniendo dos máximos de absorción a 210 nm y 280 nm lo que facilita su análisis cuantitativo mediante la técnica de HPLC (IRET et al 1999; Tomlin , 1994).

2.1 SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA DE PRINCIPIOS ACTIVOS EN EL CAMPO AGRICOLA

Las investigaciones agrícolas que se han realizado para liberar de forma controlada fertilizantes y plaguicidas, fueron aplicadas por primera vez a mediados de los años sesenta. Esta técnica busca reemplazar los métodos convencionales por sistemas de aplicación donde el principio activo es contenido en un polímero, lo cual evita su dispersión de manera descontrolada en el medio de aplicación. Entre los efectos positivos de la utilización de estos sistemas se puede mencionar: ayuda a mantener la concentración del agente activo dentro de los niveles de efectividad durante el tiempo de aplicación, además se reducen las pérdidas de agente activo, la cantidad de producto que se utiliza y el número de aplicaciones necesarias. Algunos autores mencionan que los agentes agroquímicos se comportan como no tóxicos cuando se combinan con un material polimérico pues este lo protege, facilitando de esta forma su manipulación y transporte. También se reduce la movilidad del agente activo en el suelo, lo cual disminuye substancialmente el nivel de contaminación en el ambiente y aumenta el tiempo de actividad de los agentes poco persistentes, pues quedan protegidos (Parejo et al. 1998; Gerstl et al. 1996; Cotterill et al. 1996).

2.2 HIDROGELES

Un tipo de polímero que ha encontrado una aplicación interesante en el campo de la liberación controlada de principios activos en el campo agrícola y farmacéutico es el de los hidrogeles (Lee et al. 2001). Se caracterizan por tener una estructura reticulada, que puede retener en su interior una alta cantidad de agua. Presentan un carácter hidrofílico que se debe a la presencia de grupos polares tales como hidróxilos o ácido carboxílico entre otros, lo cual permite absorber mayores cantidades de agua, pero disminuye las propiedades mecánicas del material. Este problema puede ser corregido utilizando mezclas de monómeros unos hidrofílicos y otros hidrofóbicos. La integridad estructural de los hidrogeles se logra mediante interacciones secundarias fuertes (iónicas o polares) entre las cadenas poliméricas o mediante el establecimiento de enlaces covalentes entre las moléculas (Katime, en prensa).

2.2.1 USOS DE LOS HIDROGELES

Las aplicaciones comunes de estos polímeros son: como material absorbente en pañales, membranas, recubrimientos, productos auxiliares en la industria del papel, soporte para catalizadores y ligantes de productos farmacéuticos entre otros. También algunos productos comercializados actualmente derivados de hidrogeles han sido usados para diferentes propósitos, como lentes de contacto, prótesis, tejidos artificiales para conductos humanos, revestimiento de suturas, micro cápsulas, cirugía ocular y en liberación controlada de principios activos entre otros (Vadillo, 1992).

2.2.2 SINTESIS DE HIDROGELES

Los métodos de síntesis de los hidrogeles se basan en una reacción de copolimerización en cadena de uno o varios monómeros. Se necesita además un iniciador que genere los radicales libres intermediarios en la polimerización, y un agente entrecruzante que produzca la estructura tridimensional del hidrogel. Como todas las uniones se realizan por medio de enlaces covalentes se obtiene una estructura reticulada con gran estabilidad mecánica.

Para producir hidrogeles se puede utilizar diferentes tipos de monómeros lo cual va a influir en las propiedades finales del material, ya que, dependiendo de la funcionalidad de estos, así será el polímero. Algunos de ellos poseen sustituyentes laterales no ionizables, como es el caso de la N-etilacrilamida, la N-vinilpirrolidona, el metacrilato de 2-hidroxietilo (Vadillo, 1992). Se tienen también monómeros con grupos funcionales ionizables como los ácidos acrílicos, itacónico y láctico. Por último se pueden utilizar monómeros neutros como el óxido de etileno y el etilenglicol entre otros.

El ácido itacónico (Figura 4) es obtenido por fermentación de los carbohidratos o por la pirólisis del ácido cítrico. Es un monómero que se emplea en la fabricación de polímeros utilizados como materiales de

empaques, en recubrimientos de cartón y papel y en la fabricación de pinturas entre otros. Por su carácter hidrofílico y su origen no fósil se ha utilizado como monómero base para la obtención de hidrogeles (Katime et al, 1993; Escobar et al, en prensa; Enciclopedia de Tecnología Química, 1998).

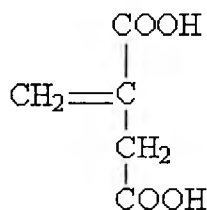


Figura 4. Estructura molecular del ácido itacónico.

Con el objeto de mejorar las propiedades mecánicas del hidrogel generalmente se utiliza como comonómero la acrilamida (Figura 5) y para darle estructura tridimensional al polímero se utiliza un monómero que posee dos dobles enlaces lo que permite el entrecruzamiento de la estructura polimérica. Tal es el caso de la N,N-metilenbisacrilamida (MBA), la cual se muestra en la Figura 6.

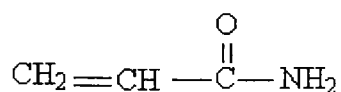


Figura 5. Estructura molecular de la acrilamida

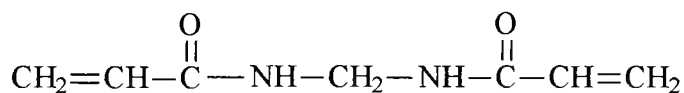


Figura 6. Estructura molecular de la N,N-metilenbisacrilamida (agente entrecruzante).

El grado de entrecruzamiento de las cadenas de este polímero es muy importante porque determina sus propiedades mecánicas (Lewis et al, 1992). Cuando estos materiales reticulados son sometidos a un esfuerzo pueden sufrir deformaciones temporales que desaparecen cuando el esfuerzo cesa. Este comportamiento es denominado elasticidad y está muy relacionado con la flexibilidad de las uniones entre las moléculas en el polímero. Tal comportamiento se ilustra en la Figura 7 (Katime, en prensa; Kremer et al, 1994).

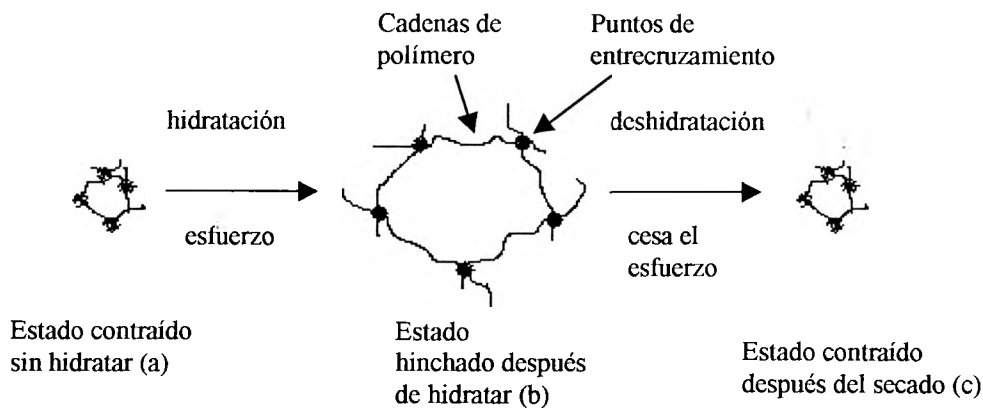


Figura 7. Representación esquemática de un hidrogel polimérico.

Para iniciar la reacción de polimerización que conduzca a la formación de hidrogeles se necesita un agente iniciador. Algunos como el persulfato de potasio se descomponen para conducir a la formación de radicales libres monoméricos que reaccionarán en cadena. Otros iniciadores generan especies iónicas, como en el caso de la polimerización de hidrogeles de poli óxido de etileno. También se conoce el caso de iniciación de la reacción de polimerización por medio de fotopolimerización (Lee et al, 2001). Los pares redox también han sido usados como agentes iniciadores. Entre estos se encuentran los pares persulfato de potasio/tetrametil etilendiamina (Tanaka, 1981) persulfato de potasio/ cisteína (Okaya et al, 1997) , persulfato de potasio/bisulfito de sodio (Umaña, et al, 1995; Katime et al, 1993) entre otros.

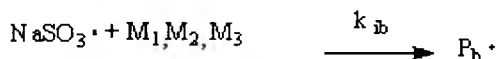
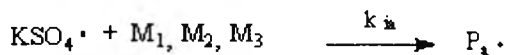
Katime y colaboradores han utilizado los monoésteres del ácido itacónico y la acrilamida como monómeros y la N,N-metilenbisacrilamida como agente entrecruzante y el par redox persulfato de potasio/bisulfito de sodio como iniciadores para producir hidrogeles tridimensionales muy hidrofílicos, pues están formados por cadenas carbonadas que tienen numerosos sustituyentes polares (COOH, CONH₂). Las cadenas están unidas por grupos diamida también polares. El tamaño de los poros puede ser controlado mediante la introducción de un mayor número de uniones entre las cadenas principales; es decir, variando la concentración del agente entrecruzante (Katime, en prensa).

Con base en el mecanismo de polimerización propuesto por Okaya (Okaya, 1996) para la polimerización de la acrilamida utilizando como iniciador el par cisteína-persulfato de amonio, se puede proponer el siguiente mecanismo para la polimerización de ácido itacónico, la acrilamida y la N,N-metilenbisacrilamida.

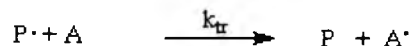
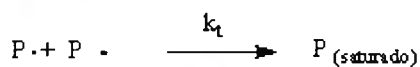
Iniciación



Propagación



Terminación



Donde M_1 , M_2 y M_3 representan los monómeros: ácido itacónico, acrilamida y la N,N-metilenbisacrilamida respectivamente, k es la constante de velocidad de la reacción redox, k_{ia} y k_{ib} son las constantes de velocidad de la reacción de los radicales inorgánicos con los monómeros, k_p es la constante de velocidad de propagación y k_t , k_d y k_{tr} son las constantes de velocidad de terminación.

En la etapa de iniciación se produce la reacción redox entre el sulfito hidrogenado de sodio y el persulfato de potasio resultando dos radicales, los cuales reaccionan con los dobles enlaces de los monómeros para producir los intermediarios radicales más estables como se muestra en la Figura 8.

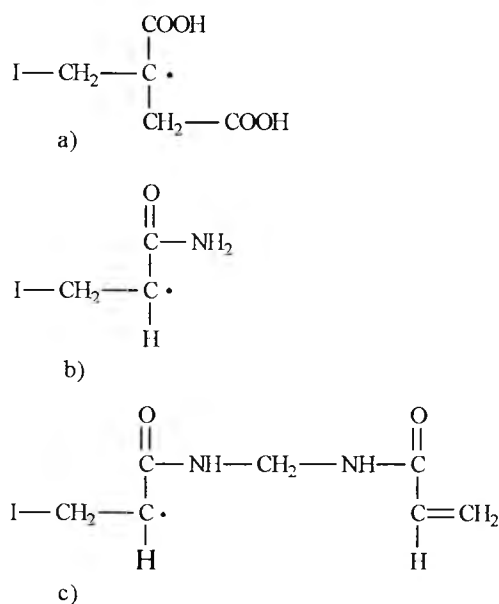


Figura 8. Primeros intermediarios en la reacción de polimerización: a) Intermediario del ácido itacónico. b) Intermediario de la acrilamida c) Intermediario de la N,N-metilenbisacrilamida

En la etapa de propagación los distintos monómeros se van incorporando al polímero en una proporción que depende de su concentración y reactividad con respecto al radical libre formado.

En la etapa final, la reacción de terminación se puede producir mediante un mecanismo de combinación, desproporción o transferencia. Si la conversión en la reacción es total, al final todos los monómeros deben haberse consumido.

2.2.3 CARACTERIZACION DE LOS HIDROGELES

Existen varias maneras de caracterizar estos materiales de las cuales se puede obtener valiosa información acerca de sus propiedades físicas. La gravimetría es una técnica que permite determinar la cantidad de agua existente en el hidrogel. Consiste en tomar la masa inicial cuando el hidrogel está en su estado xerogel o seco, luego se introduce en agua y se mide el aumento de masa en el hidrogel conforme avanza el tiempo. Esta metodología suministra información acerca de la velocidad y cantidad de disolvente que penetra en la red polimérica lo cual está relacionado con el grado de reticulación del hidrogel. (Tapia et al, 2000; Molina et al, 2000). La Calorimetría Diferencial de Barrido y la Termogravimetría (DSC, TGA respectivamente por sus siglas en inglés) suministran información sobre cristalinidad, composición y estabilidad térmica de estos materiales.

En el caso de la liberación de principios activos, la cromatografía líquida (HPLC) se ha utilizado para la caracterización de la disolución que rodea al hidrogel durante la liberación del compuesto (Molina et al, 2000; Agüero et al, 2000, Yazdan-Pedram et al, 2000).

2.2.4 INCORPORACION DE SUSTANCIAS AL HIDROGEL

El diseño de los sistemas de liberación controlada de agroquímicos, implica dos tipos de combinaciones polímero-agente activo, los cuales van a determinar el mecanismo de liberación (Arranz, 1998; Cross et al, 1987; Escobar et al, 2002):

- a) Unión química del polímero con el agente activo. Se utiliza un polímero con grupos laterales que se unen al agente activo mediante enlaces covalentes o iónicos. El tipo de enlace puede ser éster, amida, urea o acetal. La liberación del plaguicida dependerá de la susceptibilidad del enlace en el lugar de aplicación.
- b) Unión física entre el polímero y el agente activo. Procede mediante una polimerización o copolimerización de monómeros en un medio que incluya el compuesto activo que es incorporado sin producirse un enlace químico entre el polímero y el agroquímico. Esta unión genera la posibilidad de que la sustancia se libere por difusión o por erosión de la matriz del polímero considerando además otros mecanismos como la permeación, la ósmosis y la evaporación.

El sistema utilizado en el presente estudio consiste en la unión física entre el polímero y el agente activo.

Algunos ejemplos de los sistemas de liberación controlada de agentes activos que usan estas combinaciones descritas en la literatura se muestran en el Cuadro 1. La variedad de medios de liberación y de sustancias liberadas es un indicativo de la versatilidad y potencial de esta metodología de aplicación de principios activos.

Cuadro 1. Sustancias liberadas desde matrices poliméricas

Polímero	Agente activo	Resultados	Referencia
Lignina de caña de azúcar y eucalipto	El herbicida 2,4 D	Se liberó mediante un mecanismo de difusión	Ferraz et al, 1997
Polímeros a base de etilenglicol, carbamato y benzoín carbamato	El insecticida clordimeform	Se comprueba la eficiencia y seguridad de un sistema de liberación	Lohmann et al, 1998
Hidrogel de poliuretano entrecruzado	cafcina	Se pueden usar poliuretanos como sistemas de liberación	Karsa et al, 1996
Resinas a partir de poli (estirenos-divinilbenceno)	Los herbicidas 2,4-diclorofenoxiacético y 4 cloro-2-metil fenoxiacético	No presentó un mecanismo de difusión simple	Solano et al, 1994
Lignina	Los herbicidas: diuron, cloroxuron, clorotuluron, fluomefuron, metoxuron	Se comprobó la existencia de una correlación entre el coeficiente de partición y la velocidad de liberación	Coterill et al, 1996 Peck et al, 1995
Lignina sulfonada	El fertilizante manganeso	La velocidad de liberación es inversamente proporcional a la capa de revestimiento aplicado	Novillo et al, 2001
Alginato y pectina agregados minerales Alginato-betonita	Los plaguicidas Alachlor atrazina carbofuran	Estudio de la liberación en suelo y agua. Se propone el uso de arcilla como refuerzo.	Gerst et al, 1998 Fernández et al, 2000
Acido itacónico-co-ácido metacrílico	El fármaco ciprofloxacina	Al aumentar la concentración de agente activo aumenta el porcentaje de liberación	Escobar, en prensa.
Quitosano Quitosano-acrilamida	El fármaco teofilina	Se obtienen ordenes de liberación entre 0,699 y 0,620, indicando un mecanismo de liberación de difusión-interacción entre las cadenas del polímero y el fármaco	Tapia, 2000

2.3 MECANISMO DE LIBERACION POR DIFUSION

Existen diferentes mecanismos por los cuales se liberan las sustancias químicas de la matriz polimérica que los contiene. El caso más simple es un sistema de liberación controlado por difusión, lo que implica un diseño donde el agente activo se encuentra encapsulado en el centro de una matriz inerte y difunde a través de ésta. La velocidad de liberación depende del espesor, de la permeabilidad y del área de la matriz. Este diseño sigue un mecanismo de orden cero con respecto a la concentración del agente liberado (Parejo et al, 1999, Stastna, 1995; Parejo et al, 1996)

Un segundo caso es el denominado sistema monolítico, donde el agente activo se encuentra disperso en toda la matriz polimérica. Los sistemas monolíticos se preparan usualmente dispersando el agente activo en disolución o suspensión en el polímero. El mecanismo por el cual el agente activo empieza a liberarse inicia por la difusión de éste cerca de la superficie, lo cual provoca que se formen poros en la matriz. Los poros formados por la pérdida de material no necesariamente forman canales continuos, sin embargo; incrementa la permeabilidad del sistema. La cinética de liberación de este tipo de diseño es de orden medio con respecto a la concentración del agente activo (Stastna, 1995).

Un tercer caso se tiene cuando la liberación del compuesto activo es gobernada por el hinchamiento del polímero siguiendo una cinética de primer orden. Este tipo de mecanismo es particularmente importante para los polímeros vítreos. Además de la difusión, este sistema experimenta otros fenómenos como la penetración de agua y la relajación de las cadenas por hinchamiento. En estos casos se ha observado una cinética de orden uno con respecto a la sustancia liberada (Stastna, 1995).

Los anteriores casos son descritos por la ecuación $M_t/M_z = K t^n$ (ecuación 1) donde M_t es la concentración del principio activo liberado al tiempo t , M_z es la concentración de principio activo inicial. "n" indica el orden de la liberación y K es la constante de velocidad. Generalmente esta ecuación se resuelve por medios gráficos como se muestra en la Figura 9. De esta manera el valor de "n" suministra información sobre el mecanismo de liberación (Stastna, 1995; Ferraz et al, 1997; Cotterill et al, 1996).

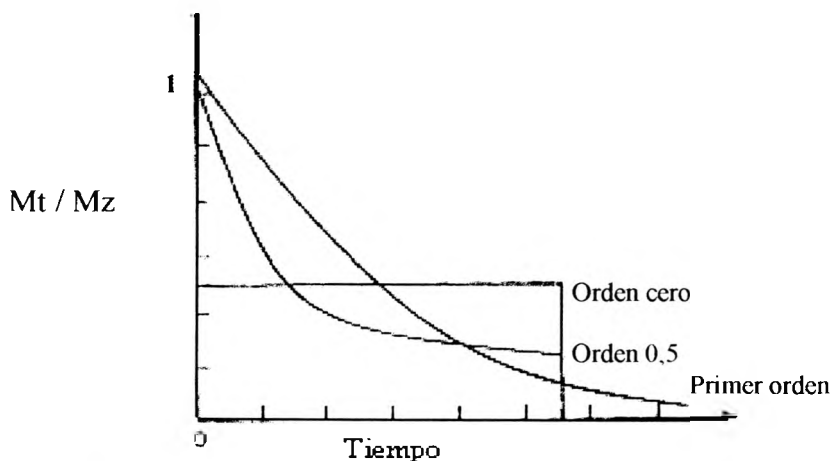


Figura 9. Diferentes velocidades de los mecanismos de liberación (Stastna , 1995).



Una cinética de orden cero, implica que la liberación del agente activo no depende de su concentración dentro del polímero, pues la velocidad de liberación es constante y corresponde a la velocidad de difusión. En la cinética de primer orden, la velocidad depende de la concentración de la sustancia a liberar de una manera exponencial y en la cinética de orden un medio, la velocidad de liberación es proporcional al $t^{1/2}$, es decir con una pendiente mayor que en el caso anterior. Para valores de n entre 0,50 y 1 se observa un proceso combinado de difusión-relajación de las cadenas poliméricas (Stastna, 1995; Escobar, 2002).

2.4 UTILIZACION DEL ACIDO ITACONICO EN LA LIBERACION CONTROLADA DE PRINCIPIOS ACTIVOS

Escobar y colaboradores han estudiado la liberación del fármaco Ciprofloxacina desde hidrogeles del ácido itacónico-co-ácido metacrílico. En este estudio se utiliza MBA como agente entrecruzante (0,25%) y el $K_2S_2O_8$ como iniciador de la reacción de polimerización y se determinó que al aumentar la concentración de agente activo el porcentaje de liberación aumenta (Escobar et al, en prensa).

En el Laboratorio de Polímeros de la Universidad Nacional, se han realizado experiencias para la obtención de hidrogeles a partir de monoésteres del ácido itacónico y la acrilamida y se determinó que la absorción de agua de estos materiales estaba relacionada con la cantidad de agente entrecruzante utilizada (Umaña et al, 1995).

En el presente trabajo se obtendrán hidrogeles por polimerización del ácido itacónico como monómero ionizable y la acrilamida que ayudará a mejorar las propiedades mecánicas del material. Para producir un hidrogel tridimensional se utilizará como agente entrecruzante la N,N-metilenbisacrilamida. El tamaño del poro de la red tridimensional se controlará empleando diferentes proporciones de este dieno. Se incorporará el plaguicida bromacil en la estructura polimérica realizando la polimerización en un medio que contenga este principio activo y posteriormente se estudiará la cinética de su liberación en medio acuoso a pH neutro y la influencia que tiene la cantidad de entrecruzante en la velocidad de liberación.

2.5 TOXICIDAD

Debido a que el sistema de liberación de bromacil podría ser utilizado en ensayos de campo, es conveniente tener una idea de la toxicidad en suelo y en medios acuáticos de las sustancias que se están utilizando.

Bregnic y colaboradores (Bregnic et al, 2001), quienes han preparado hidrogeles a partir del monómero de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA), mencionan que estos polímeros por tener alto peso molecular no son tóxicos. No obstante, existen evidencias de que los monómeros en algunos casos si lo son.

El ácido itacónico, el cual es obtenido por medio de la fermentación de carbohidratos, es un producto natural no tóxico (Katime et al, 1993).

En cuanto a la acrilamida, estudios realizados por la Agencia de Protección Ambiental de la E.E.U.U. (EPA) han encontrado que puede producir cáncer. Sin embargo, como mencionó Bregnic (Bregnic et al, 2001), una vez polimerizado el monómero, el polímero no tiene efectos peligrosos. EPA ha determinado que la acrilamida se degrada en el suelo hasta sustancias simples no tóxicas, produciéndose hasta un 94% de descomposición en 14 días. La degradación en el agua se lleva a cabo mediante microorganismos que tardan en descomponerla entre 2 a 12 días. Por último en la atmósfera, reacciona fotoquímicamente formando radicales hidroxilos. El tiempo estimado de vida es de 6,6 horas (EPA, 1994)

Para la N,N-metilenbisacrilamida usada como entrecruzante no se encontró información sobre su toxicidad. Sin embargo, por ser un dímero de la acrilamida podría tener un comportamiento similar a ésta.

Esta información apoya la propuesta de utilizar este tipo de hidrogel como sistema para la liberación controlada de pesticidas, pues al parecer no presenta grandes peligros de contaminación pero, en futuros trabajos, se hace necesario un estudio completo de la toxicidad en agua y en suelo de este material.

CAPITULO III

3. PARTE EXPERIMENTAL

En este trabajo se sintetizaron 8 hidrogeles usando ácido itacónico y acrilamida como monómeros. Para producir un hidrogel tridimensional se utilizaron diferentes porcentajes de agente entrecruzante, N,N-metilenbisacrilamida, con respecto a la masa de los monómeros. El plaguicida bromacil, una vez purificado, se incorporó en la estructura polimérica y posteriormente se estudió la cinética de su liberación en medio acuoso a pH neutro y temperatura ambiente (23 ± 2 °C).

3.1 PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE REACTIVOS

3.1.1 REACTIVOS

Los reactivos utilizados para la síntesis de los hidrogeles fueron, acrilamida (Aldrich, CAS 76-06-1), persulfato de potasio (Aldrich, CAS 21-622-4), N,N-metilenbisacrilamida (Aldrich CAS 14-607-2), ácido itacónico (Riedel-de Haën, CAS 62698) y sulfito hidrogenado de sodio (Merck, CAS 6228). El agente activo (bromacil) se obtuvo a partir del producto comercial Hyvar X 80 WP aportado por la empresa Abonos Superior.

3.1.2 PURIFICACIÓN DEL AGENTE ACTIVO

Con el fin de obtener el bromacil puro se realizó su extracción y recristalización a partir del producto comercial: Hyvar X 80 WP.

3.1.2.1 Materiales y equipos

- | | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| - Beakers 1L | - Papel de filtro Whatman No 11 |
| - Balanza Precisa 2200 CSCS | - Termómetro |
| - Varilla de vidrio | - Probeta |
| - Calentador | - Estufa VWR 1350 FD |
| - Embudo Büchner | |
| - Rota evaporador | |

3.1.2.2 Procedimiento

Se tomaron 100.00 ± 0.01 g de Hyvar X 80 WP y se disolvieron en 800.0 ± 0.1 mL de etanol al 95%. Se calentó a 50 ± 1 °C en un baño de agua con agitación constante durante 10 minutos. La disolución resultante se filtró y se concentró usando un rotaevaporador. El sólido obtenido fue bromacil, el cual se lavó dos veces con agua destilada fría y se secó en la estufa a 65°C por dos horas.

3.1.3 CONTROL DE PUREZA DEL AGENTE ACTIVO

3.1.3.1 ANALISIS DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Para determinar el punto de fusión del bromacil purificado se utilizó un DSC-6 Perkin Elmer. Se siguió el método descrito por Perkin Elmer el cual consiste en tomar 5 mg de muestra, la cual se coloca en cápsulas de aluminio selladas.

3.1.3.1.1 Condiciones de análisis

- Atmósfera de nitrógeno con un flujo de 20mL/min
- Velocidad de barrido 10°C/min
- Temperatura inicial 50°C
- Temperatura final 200°C

3.1.3.2 ANALISIS ULTRAVIOLETA (UV)

Para determinar la longitud de onda que el bromacil absorbe, la cual sería utilizada para su cuantificación, se empleó un espectrofotómetro ultravioleta Perkin Elmer Lambda 2S. Se utilizó una solución de bromacil en metanol/agua en relación de 1:1 con una concentración de 16.80 µg/mL.

3.1.3.3 ANALISIS INFRARROJO (FTIR)

Para analizar el bromacil se usó un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier marca Perkin Elmer PARAGON 1000 PC, utilizando la técnica de pastillas de KBr.

3.2 SINTESIS DE HIDROGELES

Se formularon cuatro hidrogeles con diferentes porcentajes de entrecruzante sin agente activo que se denominaron H_{1%}, H_{2,5%}, H_{5%} y H_{10%} respectivamente y cuatro hidrogeles con agente activo incorporado que se denominaron H_{1%B}, H_{2,5%B}, H_{5%B} y H_{10%B}

3.2.1 SINTESIS DE HIDROGELES SIN AGENTE ACTIVO

3.2.1.1 Materiales y equipo

- Recipiente plástico con salida lateral (Figura 9)
- Tubos de ensayo
- Balanza electrónica analítica Mettler AE 200
- Agitador Vortex

- Calentador
- Estufa VWR 1350 FD
- Nitrógeno

3.2.1.2 Procedimiento

Para la síntesis del hidrogel al 1% de agente entrecruzante (denominado H_{1%}, se colocaron en un tubo de ensayo 0,0226 ± 0,0001g de N,N-metilenbisacrilamida y se disolvieron en 5,00 ± 0,01mL de agua destilada. Se adicionó 2,0200 ± 0,0001g de acrilamida y se agitó hasta su completa disolución. Luego se agregaron 0,2400 ± 0,0001 g de ácido itacónico y se agitó hasta disolverlo y se añadieron 30,00 ± 0,01 mg de persulfato de potasio y 20,00 ± 0,01 mg de sulfito hidrogenado de sodio y se agitó hasta que se disolvieron completamente.

La solución anterior se vertió sobre un recipiente plástico con salida lateral (Figura 10). Se tapó el recipiente y se burbujeó nitrógeno durante 5 minutos. Se selló el recipiente y se colocó en una estufa a 65 °C durante 2 horas.

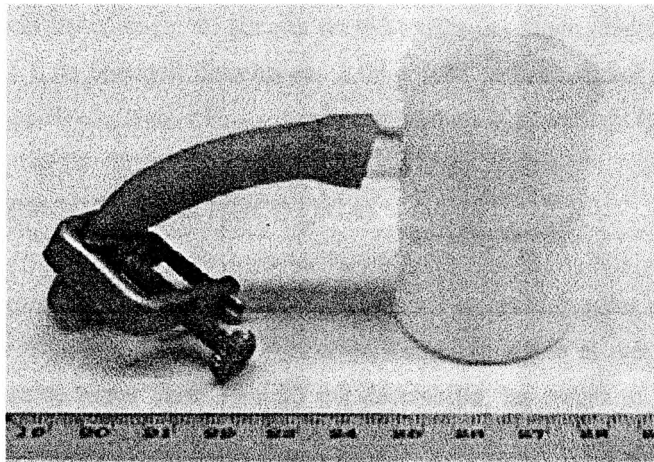


Figura 10. Sistema utilizado para la síntesis de los hidrogeles y las formulaciones, hidrogel-bromacil.

Siguiendo este mismo procedimiento se sintetizaron los hidrogeles de 2.5 % (H_{2,5%}), 5 % (H_{5%}) y 10% (H_{10%}) de agente entrecruzante usando las cantidades descritas en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Cantidades de N,N-metilenbisacrilamida (MBA) utilizadas para la síntesis de hidrogeles del ácido itacónico.

Hidrogel	N´N- Metilenbisacrilamida (MBA) ± 0,0001 g
H_{1%}	0,0226
H_{2,5%}	0,0565
H_{5%}	0,0113
H_{10%}	0,2260

La concentración de los demás reactivos se mantuvo constante

3.2.2 SINTESIS DE HIDROGELES CON BROMACIL

3.2.2.1 Procedimiento

Se preparó siguiendo la metodología de síntesis de hidrogeles del punto anterior, incluyendo en cada caso $0,1000 \pm 0,0001$ g de bromacil disuelto en $1,00 \pm 0,02$ mL de etanol 95%. Cada muestra fue identificada como H_{1%B}, H_{2,5%B}, H_{5%B} y H_{10%B} según corresponda al porcentaje de MBA.

3.2.3 ANALISIS TERMOGRAVIMETRICO (TGA)

Para determinar la presencia de los monómeros y de bromacil en los hidrogeles sintetizados se utilizó un equipo de análisis termogravimétrico (TGA-6) Perkin Elmer. Se siguió el método descrito por Perkin Elmer, el cual consiste en tomar entre 10 a 20 mg de muestra, las cuales se colocan en cápsulas de porcelana sin sellar.

3.2.3.1 Condiciones de análisis

- Flujo de nitrógeno de 30 mL/minuto
- La temperatura se varió entre 50° y 650°C
- Velocidad de calentamiento 20 °C/minuto.

3.2.4 ESTUDIO DE ABSORCION DE AGUA DE LOS HIDROGELES

3.2.4.1 Materiales y equipo

- Vernier Digmatic Caliper
- Frascos de plástico

- Papel aluminio
- Balanza electrónica analítica Mettler AE 200
- Navajillas
- Probeta
- Estufa VWR 1350 FD
- Láminas rectangulares de hidrogel con dimensiones finales de (1,0 X 4,0 X 5,0 ± 0,5) mm.

3.2.4.2 Procedimiento

Los hidrogeles H_{1%}, H_{2,5%}, H_{5%} y H_{10%} se cortaron en paralelepípedos con dimensiones aproximadas de 1x4x5 mm y se secaron a 65 °C hasta masa constante. Posteriormente se sumergieron en 250,00 mL de agua destilada a temperatura ambiente 23 ± 2 °C y pH de 7,0 ± 0,5. Los hidrogeles fueron removidos, secados rápidamente con papel absorbente y pesados cada cierto tiempo hasta alcanzar una masa constante. Se calculó el porcentaje de hinchamiento de los mismos, definido según la ecuación 2.

$$\% \text{ de hinchamiento} = (\text{masa húmedo} - \text{masa seco}) / (\text{masa seco}) \times 100 \quad (\text{ecuación 2})$$

3.3 EVALUACION DE LA CINETICA DE LIBERACION

3.3.1 Materiales, equipo y reactivos

- | | |
|--|---|
| - Recipientes plásticos | - Nevera |
| - Papel aluminio | - Viales |
| - Pipetas volumétricas y aforadas | - Bromacil (Riedel-de Haën No CAS 314-40-9) |
| - Balones aforados de 10,00 mL | - Metanol MX0488-1 |
| - Tubos de ensayo con tapa | - Agua Milli Q Plus |
| - Jeringas | - Filtros de membrana |
| - HPLC 10 A Shimadzu | - Detector de arreglo de diodo SPD-M10A |
| Bomba LC-10 AD Shimadzu | Shimadzu |
| - Software Class-VP Chromatography Data System versión 4.2 | - Columna Ecocart C-18 125-3 |

3.3.2 Procedimiento

Los hidrogeles de forma cilíndrica con dimensiones de 1,5 cm de radio y 1cm de altura, conteniendo el plaguicida se colocaron en recipientes plásticos con $300,0 \pm 0,1$ mL de agua desionizada pH $7 \pm 0,5$ a temperatura ambiente y sin agitación. Siguiendo la metodología descrita por Fernández (Fernández et al. 2002), se tomaron alícuotas de $1,00 \pm 0,06$ mL cada 2 h, 4 h, 8 h, luego cada 24 h y se aforó a un volumen de $10,00 \pm 0,02$ mL con la solución de metanol/agua 1:1. Para mantener el volumen constante en los recipientes de liberación se adicionó $1,000 \pm 0,006$ mL de agua desionizada. Las muestras tomadas fueron filtradas y analizadas por medio de HPLC. La cuantificación del bromacil en las muestras se llevó a cabo usando una curva de calibración entre un ámbito de $1\mu\text{g/mL}$ a $100\mu\text{g/mL}$.

3.3.3 Condiciones de análisis HPLC (Prakash et al. 1991).

- Flujo volumétrico de 0,5 mL/min,
- Eluente metanol/agua 1:1,
- Temperatura 35°C
- Longitud de onda de 280 nm.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 CONTROL DE PUREZA

Según la ficha técnica del producto comercial Hyvar su contenido de bromacil es de 80% en masa. La purificación realizada permitió obtener un material sólido con un rendimiento del 75% en forma de cristales de color blanco. Por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se determinó que este producto empieza a fundirse a una temperatura de 155°C alcanzando su punto máximo de fusión a los $161,625 \pm 0,001^\circ\text{C}$ (Anexo 1). El punto de fusión del bromacil reportado en la literatura es de 159 °C, lo cual coincide con los resultados obtenidos (The Agrochemicals Handbook, 1994)

Usando un espectrómetro ultravioleta se determinó el espectro de absorción del material purificado (Anexo 2). Se puede ver que presenta dos máximos de absorción, uno a 210 nm correspondiente al doble enlace C=C y el otro a 280 nm originado por la transición $n - \pi^*$ de los grupos carbonilo C=O ($\epsilon = 6\ 212\ \text{L mol}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$). Esta última longitud de onda se utilizó para la cuantificación debido a que es el punto donde se presenta la máxima absorción y la menor interferencia por otras sustancias que podrían estar presentes, tales como los monómeros utilizados para la síntesis del hidrogel.

El FTIR del producto aislado (Anexo 3) muestra las principales bandas de absorción a 1 710, 1 650 y 1 620 cm^{-1} , las cuales corresponden al estiramiento C=O urea y C=O amida y el último a la vibración C=C del anillo aromático. Además, se observan bandas entre 2 800 y 3 071 cm^{-1} debido a los estiramientos C-H alifático. Los estiramientos C-N y N-H se encuentran a 1 421 cm^{-1} y 3 205 cm^{-1} respectivamente (Silverstein et al, 1.996). Estos resultados concuerdan con la estructura molecular del bromacil (Figura 2).

En la Figura 11 se muestra el cromatograma característico del bromacil utilizado como patrón. Se observa un único pico simétrico correspondiente al plaguicida. Resultados idénticos se obtuvieron cuando se analizaron las muestras del producto purificado y las provenientes de la liberación del bromacil contenido en un hidrogel.

Los resultados obtenidos muestran que se aisló el bromacil a partir del producto comercial y que no se produce degradación durante la reacción de polimerización ni por la interacción del bromacil con la red polimérica o durante la liberación del mismo de la matriz pues los análisis de HPLC son idénticos en todos los casos.

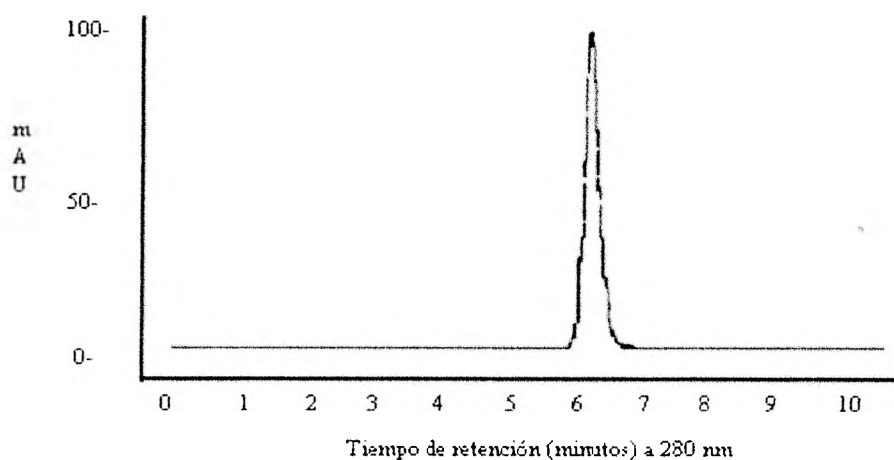


Figura 11. Cromatograma de bromacil obtenido por HPLC

4.2 SINTESIS DE HIDROGELES

La figura 12 corresponde a la fotografía de algunos hidrogeles sintetizados utilizando los monómeros ácido itacónico, acrilamida y la N,N-metilenbisacrilamida como agente entrecruzante. El número 1 es material recién sintetizado y del número 2 al número 5 son hidrogeles donde se varía el grado de entrecruzamiento y que han absorbido agua hasta la saturación. Los materiales tienen una apariencia elástica al tacto, la cual tiende a disminuir a medida que el porcentaje de entrecruzante aumenta. Además se tornan transparentes, más suaves y frágiles al tacto a medida que absorben agua durante el hinchamiento, pero conservan su forma como es característico de los hidrogeles reticulados (Katime, en prensa)

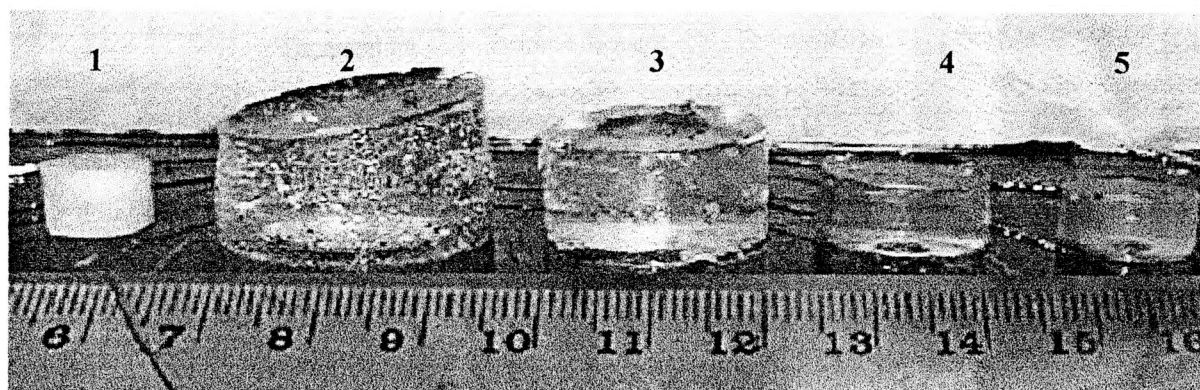


Figura 12. Fotografía donde se muestran los hidrogeles de ácido itacónico hidratados con diferentes grados de agente entrecruzante: 1-H_{1%} (al terminar la reacción), 2-H_{1%}, 3-H_{2,5%}, 4-H_{5%}, 5-H_{10%}

4.2.1 CARACTERIZACION DE LOS HIDROGELES

La caracterización de los hidrogeles del ácido itacónico se realizó por medio de análisis térmicos y experimentos de absorción de agua, los cuales proporcionan información acerca de la estabilidad térmica de los materiales y sobre la porosidad de los diferentes hidrogeles. Esto último es de suma importancia para el objetivo que se propone pues la liberación del plaguicida será realizada en medio acuoso donde los hidrogeles son sometidos a un proceso de hinchamiento pues, cuando termina su síntesis, no poseen la cantidad total de agua que son capaces de absorber.

4.2.1.1 ANALISIS TERMOGRAVIMETRICO (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica que examina el cambio de masa de la muestra en función de la temperatura, por lo cual se determina la temperatura de descomposición y, en general, el comportamiento del material al variarse la temperatura. En el caso de mezclas, donde sus componentes se descomponen a diferentes temperaturas, se utiliza esta técnica para determinar su composición (Hatakeyama T. et. al., 1999).

En el Cuadro 3 se presentan los resultados obtenidos para el hidrogel con un 5% de entrecruzante con y sin bromacil. Resultados similares se obtuvieron en los otros casos. Este material se seleccionó como ejemplo, debido a que representa el punto medio de la concentración de entrecruzante en los hidrogeles sintetizados.

Cuadro 3. Análisis Termogravimétrico del hidrogel con 5% de entrecruzante

Hidrogel	Inicio del primer proceso de descomposición		Inicio del segundo proceso de descomposición	
	Temperatura ± 1 (°C)	Pérdida de masa ± 1 (%)	Temperatura ± 1 (°C)	Pérdida de masa ± 1 (%)
H _{5%}	217	15	346	64
H _{5%B}	167	29	383	50

Se pueden observar dos procesos de descomposición. El primero se inicia a 217°C en el caso del hidrogel sin bromacil y a 167°C cuando contiene el plaguicida. La pérdida de masa de este primer proceso es de 15 % para el H_{5%} y de 29% para el H_{5%B}. El segundo proceso de descomposición se inicia a 346°C y 383°C, con una pérdida de masa de 64 % y 50% respectivamente (Anexos 4 y 5). Es decir, la presencia del bromacil disminuye la resistencia a la descomposición en 50°C y afecta la masa que se pierde en cada

proceso. Además hay que remarcar que el proceso total de descomposición ocurre en un amplio ámbito de temperatura lo que es consecuencia de la estructura compleja de estos materiales.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados de los TGA de los reactivos utilizados los cuales tienden a mostrar procesos de descomposición en ámbitos de temperatura muy estrechos típicos de sustancias puras. En los TGA de los hidrogeles no se detectaron procesos de descomposición que pudieran atribuirse a la presencia de monómeros sin reaccionar por lo que se puede concluir que la conversión es completa. Resultados similares han sido reportados por Katime y colaboradores (Escobar, 2002).

Cuadro 4. Análisis termogravimétricos de los monómeros y del bromacil usados en la síntesis de los hidrogeles

Muestra	Inicio del primer proceso de descomposición		Inicio del segundo proceso de descomposición	
	Temperatura ± 1 (°C)	Pérdida de masa ± 1 (%)	Temperatura ± 1 (°C)	Pérdida de masa ± 1 (%)
ácido itacónico	236	100		
acrilamida	213	93	415	7
bromacil	293	80	420	20
N,N- metilenbisacrilamida	355	73		

4.2.1.2 ESTUDIO DE ABSORCION DE AGUA DE LOS HIDROGELES

Para la síntesis de todos los hidrogeles utilizados en el presente trabajo se mantuvo constante las cantidades del ácido itacónico y la acrilamida y se varió la del agente entrecruzante, es decir, se aumentó la cantidad de puntos de unión covalente entre las diferentes cadenas del polímero, lo que produce un aumento de la densidad de poros en el material y una disminución de su tamaño.

Para evaluar la porosidad de los hidrogeles sintetizados se utilizó la técnica de absorción de agua. En este caso, la cantidad de agua retenida dentro del hidrogel cuando se alcanza el equilibrio suele expresarse como porcentaje de hinchamiento, de acuerdo con la ecuación 2. En la Figura 13 se muestra la variación del porcentaje de hinchamiento en función del tiempo.

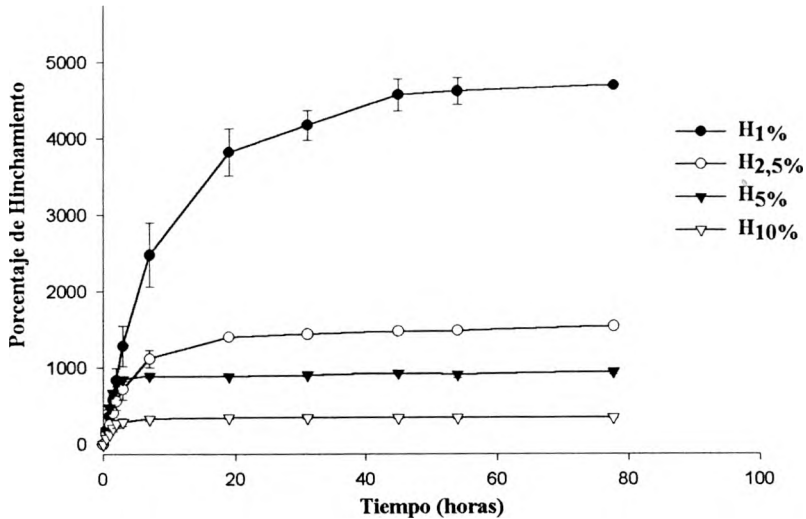


Figura 13. Porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentajes de entrecruzante (MBA)

Al inicio se observa una absorción de agua muy rápida, alcanzando un porcentaje de hinchamiento constante en periodos de tiempo variables, tiempos que varían entre 20 horas para el hidrogel con 10% de entrecruzante y alrededor de 70 horas para el hidrogel con 1% de entrecruzante.

Estos resultados muestran que efectivamente el porcentaje de hinchamiento depende de manera inversa del agente entrecruzante pues entre mayor número de puntos de unión entre las moléculas, menor es el tamaño de los poros y existe entonces más dificultad para que el agua ingrese en la estructura tridimensional. Tal comportamiento también ha sido observado por Parejo y colaboradores (Parejo et al, 1996) con hidrogeles de polimetacrilato de 2-hidroxietilo (PHEMA).

Barcellos y colaboradores (Barcellos et al. 2001), en experimentos realizados con hidrogeles de PHEMA, han demostrado que durante el hinchamiento, el agua se difunde a través de los poros cuando se utilizan cantidades de entrecruzante no mayores a 2,5 % en moles. Cuando la concentración está por encima del 4% en moles, el transporte del agua está controlada por la interacción del agua con la matriz del polímero.

Para mostrar la relación que existe entre porcentaje de hinchamiento y la cantidad de agente entrecruzante se graficaron (Figura 14) los máximos valores de hinchamiento que lograron alcanzar los hidrogeles con respecto al porcentaje de MBA cuando se alcanza el equilibrio (a las 77 horas) (Anexo 6). Se observa una relación inversa entre estos dos parámetros, como ya se indicó anteriormente, a mayor densidad de puntos de unión, menor es la distancia entre los puntos entrecruzados, provocando la disminución del poro y una menor capacidad de ingreso de agua a la red tridimensional.

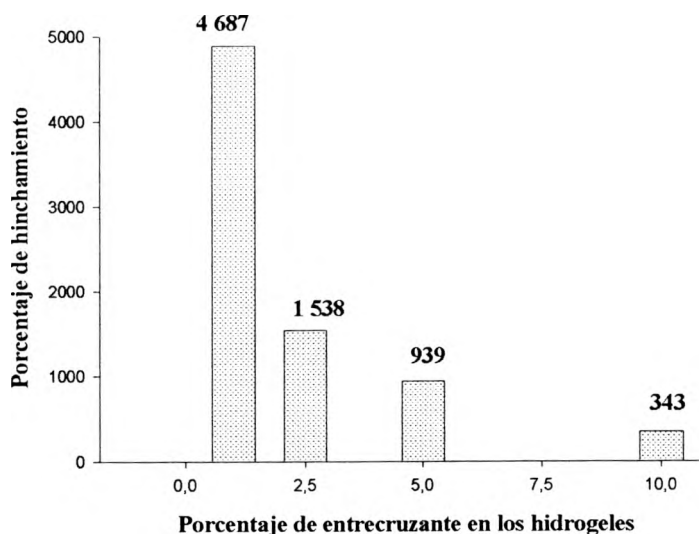


Figura 14 . Porcentaje de hinchamiento en función de la concentración de agente entrecruzante en los hidrogeles del ácido itacónico

Resultados similares han sido reportados por Katime utilizando hidrogeles obtenidos a partir de monómeros de monoésteres del ácido itacónico.

4.3 LIBERACION DE BROMACIL

Los hidrogeles con bromacil se obtuvieron realizando la polimerización en un medio que contiene este plaguicida. De esta manera al formarse la red polimérica el principio activo queda incluido de manera uniforme en toda la estructura. Como ya se demostró por medio de HPLC, las condiciones de la reacción de polimerización no producen la destrucción del bromacil pues una vez liberado, su patrón de elusión resultó idéntico al de una muestra patrón (Anexos 7 y 8)

El estudio de la liberación de bromacil de los hidrogeles de ácido itacónico se realizó introduciendo los hidrogeles conteniendo el plaguicida dentro de recipientes con agua destilada según se describe en el apartado 3.3.2). La concentración del plaguicida en el hidrogel fue de (4% m/m) y la única variable que se varió fue la concentración del agente entrecruzante (MBA), lo cual, permitió estudiar su efecto sobre la velocidad de liberación del plaguicida.

Las muestras de agua tomadas cada cierto tiempo del medio de liberación se analizaron por cromatografía líquida (HPLC). Para observar la reproducibilidad y la incertidumbre de los datos, se procedió a realizar el estudio por triplicado, es decir, se analizaron las muestras de tres hidrogeles con el mismo porcentaje de entrecruzante a un mismo tiempo. Los resultados obtenidos (Anexo 9) se graficaron

los promedios de los porcentajes de bromacil liberado en medio acuoso, los cuales se muestran en la Figura 15.

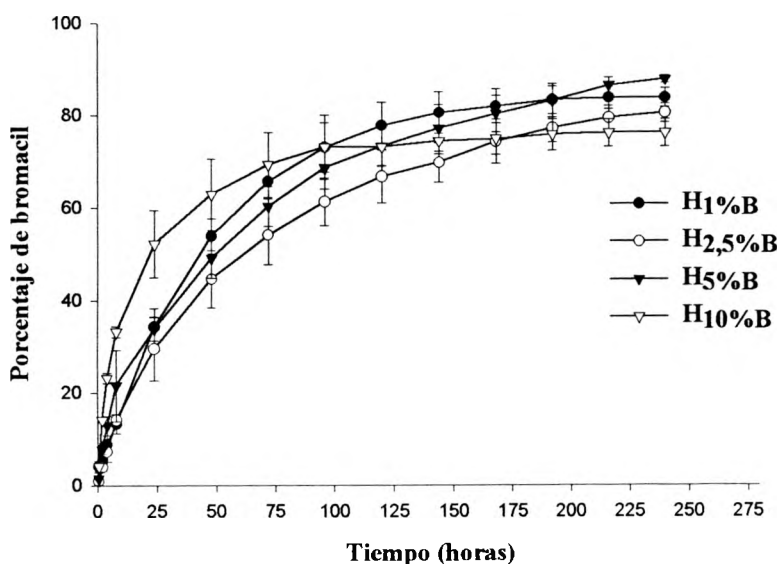


Figura 15. Porcentaje de bromacil liberado desde hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentajes de entrecruzante

En todos los casos, al principio de la curva, que es donde se puede estimar las diferentes velocidades de liberación, se observa un aumento acelerado de la cantidad de bromacil liberado en el medio. Posteriormente la velocidad de liberación disminuye hasta alcanzar un valor de concentración del principio activo que no varía con el tiempo. En estas experiencias se recuperó entre el 76% y 90% del principio activo. El resto del material se elimina del medio durante la extracción de las muestras para ser analizadas por la técnica de HPLC pues, debido a la metodología utilizada, éstas no se devuelven al recipiente que contiene el medio de liberación (Fernández et al. 2002). En el caso de los hidrogeles de 1% ($H_{1\%B}$), 2,5% ($H_{2,5\%B}$) y 5% ($H_{5\%B}$) la velocidad de liberación del bromacil fue muy semejante y la dispersión de los resultados obtenidos no permite establecer diferencias entre ellas. En el caso del hidrogel de $H_{10\%B}$ se observa una mayor velocidad inicial de liberación del principio activo pues después de 25 horas de ensayo se ha liberado alrededor del 55% en el caso del $H_{10\%B}$, en comparación con cerca del 35% en los otros tres casos.

Durante las experiencias se pudo observar que los hidrogeles se hidratan en el medio de liberación, es decir, aumentan su volumen debido al ingreso de agua dentro de la red. Cuando esto sucede se producen grandes tensiones en el material, lo que incluso llega a causar fracturas en éste como se muestra en la Figura 16. Esto ocurre en el hidrogel más rígido que es el caso del de mayor contenido de MBA ($H_{10\%B}$).

Como la cantidad de material que difunde depende de la superficie a través de la cual debe pasar, cualquier aumento de superficie afectará los resultados observados. En el caso del $H_{10\%B}$ cuando se producen esas fracturas se aumenta la superficie específica (área/unidad de masa) lo que explicaría el aumento de la velocidad de liberación que se observó en este caso.

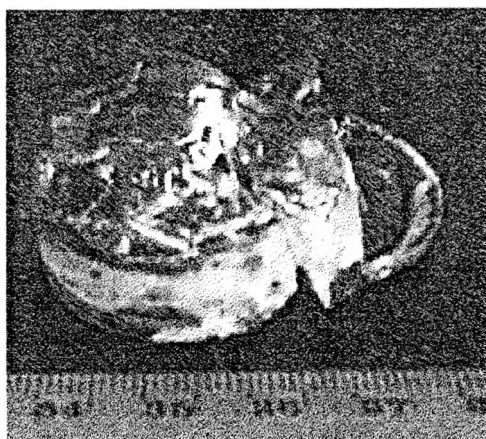


Figura 16. Hidrogel con 10% de entrecruzante que contienen bromacil donde se muestran las fracturas que ocurren durante el proceso de liberación del plaguicida

Este efecto del área de difusión sobre la velocidad de liberación de principios activos ya había sido observado por Cotterill y colaboradores en experimentos de liberación de diuron desde matrices de lignina, donde se comprueba que a mayor superficie de matriz expuesta, mayor es la velocidad de liberación (Cotterill, 1996).

En conclusión, los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas en la velocidad de liberación del plaguicida por lo que se puede deducir que la velocidad de liberación del bromacil no depende de la cantidad de agente entrecruzante en los hidrogeles.

Los cálculos de los parámetros cinéticos con base en el modelo propuesto por Stastna (Stastna, 1996), se resumen en el Cuadro 5. Los valores de “n” determinados a partir de las curvas de la Figura 15 se sitúan entre 0,41 y 0,70. Se recuerda que un valor de “n” de cero corresponde a un proceso de difusión donde la matriz no interactúa con el material liberado. Valores mayores significan que el proceso de liberación es afectado por la difusión y además por otras interacciones que ocurren entre el principio activo y las cadenas poliméricas. En el caso estudiado los valores de “n” indican que no estamos en presencia de un fenómeno de difusión puro sino que además se producen interacciones entre el bromacil y la red polimérica del hidrogel las cuales, si se considera la estructura química de ambos, probablemente sean de tipo polar. Este es un aspecto que debería ser evaluado en estudios posteriores.

Cuadro 5. Determinación de las constantes de la liberación de bromacil en medio acuoso o estático usando el modelo $Mt/Mz = k t^n$ (ecuación 1)

Formulación	n	R
H _{1%B}	0,70	0,995
H _{2,5%B}	0,70	0,988
H _{5%B}	0,55	0,990
H _{10%B}	0,41	0,968

El tiempo requerido para liberar la totalidad de una sustancia es muy variado entre los sistemas de liberación tanto de fármacos como de plaguicidas. Por ejemplo, en experimentos de liberación de alachlor usando polímeros naturales como pectinas y alginatos, el tiempo de liberación total del compuesto en medio acuoso es próximo a los cuarenta horas (Gerstl et al. 1998), mientras que otros polímeros, tales como acrílicos y lignina, han liberado el herbicida 2.4-D de tres a cuatro semanas (Solano et al. 1994, Feraz et al. 1997). Es decir, el sistema seleccionado está muy relacionado con el uso final de esta técnica.

Los resultados obtenidos muestran que efectivamente el hidrogel utilizado retarda la liberación del bromacil pues este no se libera instantáneamente en el medio acuoso. Como se puede observar en la Figura 15, el bromacil difunde al medio acuoso completamente después de 100 h de liberación en condiciones controladas (caso H_{10%B}). Esto sugiere que los hidrogeles sintetizados pueden ser usados como sistemas liberadores en este ámbito de tiempo. Si se desea implementar un sistema de liberación usando estos materiales, tomando en cuenta el factor económico y ambiental, el hidrogel al 1% de entrecruzante sería el recomendado, que es el que consume el menor porcentaje de monómero entrecruzante ya que este parámetro no afecta la velocidad de liberación. Menores porcentajes de agente entrecruzante producen materiales muy suaves lo que dificulta su manipulación.

Estudios realizados en liberación de pesticidas en suelo (Gerstl et al, 1998; Peck et al, 1995), han comprobado que estos compuestos presentan una menor movilidad en el medio, lo que es beneficioso desde el punto de vista ambiental y económico pues permite un mayor aprovechamiento del compuesto y una menor contaminación. Es de esperar un comportamiento similar para los hidrogeles del ácido itacónico. No obstante es necesario un estudio de liberación en suelo bajo condiciones de laboratorio y de campo para evaluar mejor el potencial de su uso comercial.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El presente trabajo es un estudio acerca de la síntesis y caracterización de hidrogeles de ácido itacónico y la utilización de estos materiales como un sistema de liberación controlada de bromacil en condiciones controladas, a saber, medio acuoso estático, pH neutro y temperatura ambiente.

El análisis térmico (TGA) no mostró la presencia de monómero sin reaccionar lo que indica que la transformación fue completa y que no quedaron monómeros que pudieran producir problemas de contaminación. Se observó un comportamiento similar de los patrones de descomposición de los diversos hidrogeles sintetizados, la presencia de bromacil disminuyó la estabilidad térmica de los hidrogeles.

Al aumentar la cantidad de agente entrecruzante el material presenta una menor elasticidad al tacto y una menor capacidad de hinchamiento, debido a que, al aumentar la densidad de entrecruzamiento disminuye la capacidad de las moléculas de agua para entrar en la red polimérica tridimensional.

Mediante análisis de HPLC se observó que no existió ningún tipo de degradación del bromacil durante su aislamiento, la síntesis de los hidrogeles, ni durante su liberación, lo que sugiere que es posible obtener un sistema de liberación del plaguicida mediante el método empleado.

La liberación del bromacil usando hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentajes de entrecruzante en medio acuoso estático mostró velocidades similares entre los hidrogeles sintetizados ($H_{1\%B}$, $H_{2.5\%B}$, $H_{5\%B}$,) mientras que el hidrogel con 10% de MBA presentó una velocidad mayor que los anteriores. La mayor velocidad de liberación observada con el hidrogel con 10% de entrecruzante se explicó por el hecho que se fragmenta durante el ensayo por lo que produce un aumento de la superficie específica que afecta la velocidad de liberación del plaguicida. Dado a la conclusión anterior, el hidrogel al 1% de entrecruzante es el que presenta mayores ventajas tanto económicas como ambientales si se piensa usar como sistema liberador.

Según el modelo cinético empleado, el proceso de liberación está controlado por difusión y la interacción entre la matriz polimérica y el bromacil.

El uso de un sistema de liberación controlada como éste, podría ser una técnica beneficiosa y segura, tanto para la manipulación y aplicación de plaguicidas, como desde el punto de vista ecológico y económico. La velocidad de liberación óptima puede ser solamente decidida después de una investigación exhaustiva del comportamiento de los hidrogeles en el suelo bajo condiciones de campo.

Para futuros trabajos, se recomienda hacer un estudio del grado de conversión de los monómeros en el punto de gelificación para asegurar la total conversión del sistema.

Debido a que el hidrogel a 1% de entrecruzante es el que presenta mayores ventajas en el uso, se recomienda realizar un estudio variando la concentración de bromacil en este sistema para observar el efecto de la concentración del plaguicida en la red polimérica y en la cinética de liberación.

Es necesario la ejecución del estudio de liberación del plaguicida en el suelo, para obtener mayor información sobre el comportamiento de estos materiales como sistemas de liberación controlada en situaciones de campo. Se requiere también mayor información sobre el comportamiento de los hidrogeles del ácido itacónico ante diferentes condiciones degradativas, como el efecto de la temperatura, la luz ultravioleta, la acidez o basicidad, enzimas entre otras con el fin de establecer la degradabilidad del material (Meyvis, 2000).

Por último es necesario un estudio de toxicidad del hidrogel para organismos en el suelo y para organismos acuáticos para determinar el impacto al ambiente del material.

CAPITULO VI

6.0 BIBLIOGRAFIA

1. Billmeyer, F.W. 1984. Textbook of Polymer Science. Third edition. Willey Interscience Publication. New York, p 7-49.
2. Katime, I. 1994. Química física macromolecular. Universidad del País Vasco. España, p 23-35.
3. Stephenson, R.A. and Karsa, D.R. 1996. Chemical Aspects of Drugs Delivery Systems. The Royal Society Chemistry. UK. p1-97.
4. Lee, Y.K and Mooney, J.D. 2001. Hydrogels for tissue engineering. Chemical Reviews. American Chemical Society. Vol 10, No. 7, p 1869-1879.
5. Katime, I. en prensa. Síntesis de Hidrogeles Poliméricos Derivados del Ácido Itacónico. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, CYTED. Subprograma de Tecnología de Materiales. España.
6. IRET. 1999. Manual de Plaguicidas: Guía para América Central. Segunda edición. Instituto de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.
7. "Se multiplican intoxicaciones por uso de plaguicidas". Agencia AFP. LA NACION Digital: Adriana Quirós R. 10 dic. 1998. Disponible.(Consulta: 10 abril 2001).
<http://www.nacion.co.cr/ln-998/diciembre/09/ultima3.html>.
8. The price of pineapples. Pesticides News. N°48, June 2000, page 8. Disponible.(Consulta: 25 abril 2001). <http://www.hpan-uk.org/pestnews/pn48p8.html>.
9. Hilje, L., Castillo, L., Thrupp, L. y Wesseling, I. 1987. El Uso de los Plaguicidas en Costa Rica. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. p 61-94
10. Solano, R., D'Antone, S. and Chiellini, E. 1994. Hydrogel-type polymer in the controlled release of phytodrugs. In: Polymers From Agricultural Coproducts. Fishman, M.L., Friedman, R.B., and Huang, S.J. American Chemistry Society. Washinton, DC. USA, p 112-125.

11. Acuña, A. 2000. Uso de Herbicidas. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Fundación para el Fomento de la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria en Costa Rica. San José, Costa Rica.
12. Parejo, C., Ortiz, C., Serradilla, C., Vázquez, B., Gallardo, A. y San Román, J.1996. Contribución de las macromoléculas al diseño y desarrollo de sistemas de dosificación controlada y dirigida de medicamentos. *Revistas de Plásticos Modernos*. No.482, p 141-152.
13. Parejo, C., Ortiz, C. y Vázquez, B. 1998. Hidrogeles poliméricos para aplicaciones biomédicas. I Comportamiento de sistemas neutros. *Revista Plásticos Modernos*. Vol 75, No 499, p 96-101.
14. Vadillo, I. 1992. Síntesis y propiedades de hinchamiento de hidrogeles de acrilamida y diversos monoitaconatos de alquilo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco, España.
15. Lewis, A.L. and Miller, D.J. 1992. Coordinative cross-linking of pyridyl-and bipyridyl-based hidrogel polymer membranes. *Polymer*. UK.
16. Kremer, M., Pothmann, E. and Rössler, T. 1994. Poro-size distribution of cationic polyacrylamide hidrogels varyng in initial monomer concentration and cross-linker/monomer ratio. *Macromolecules*. Vol 27, número 11, p 2965-2973.
17. Tanaka, T. 1981. Gels. *Scientific American* Vol 244, p 100-123.
18. Okaya, T., Kikuchi, K. and Morii, Y. 1996. Polymerization of acrylamide in aqueous medium initiated with a redox system of cysteine and ammonium persulfate. *Polymer Journal*, Vol 29, número 6, p 545-549.
19. Cotterill, V.J. and Wilkins, R.M. 1996. Controlled release of phenyl urea herbicides from a lignin matrix: Release kinetics and modification with urea. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Vol 9, número 9, p 2908-2912.
20. Arranz, F. 1998. Dosificación controlada de compuestos agroquímicos por sistemas poliméricos. *Revista Plásticos Modernos*. Vol 75, número 499, p 39-44.
21. Lohmann, D. and D'Hondt, Ch. 1988. Advanced polymeric systems for site-specific release control of insecticides in foliar applications. En: *Pesticides formulations innovations and developments*. Cross, B. and Scher, H.B. American Chemistry Society, Washington, EUA.

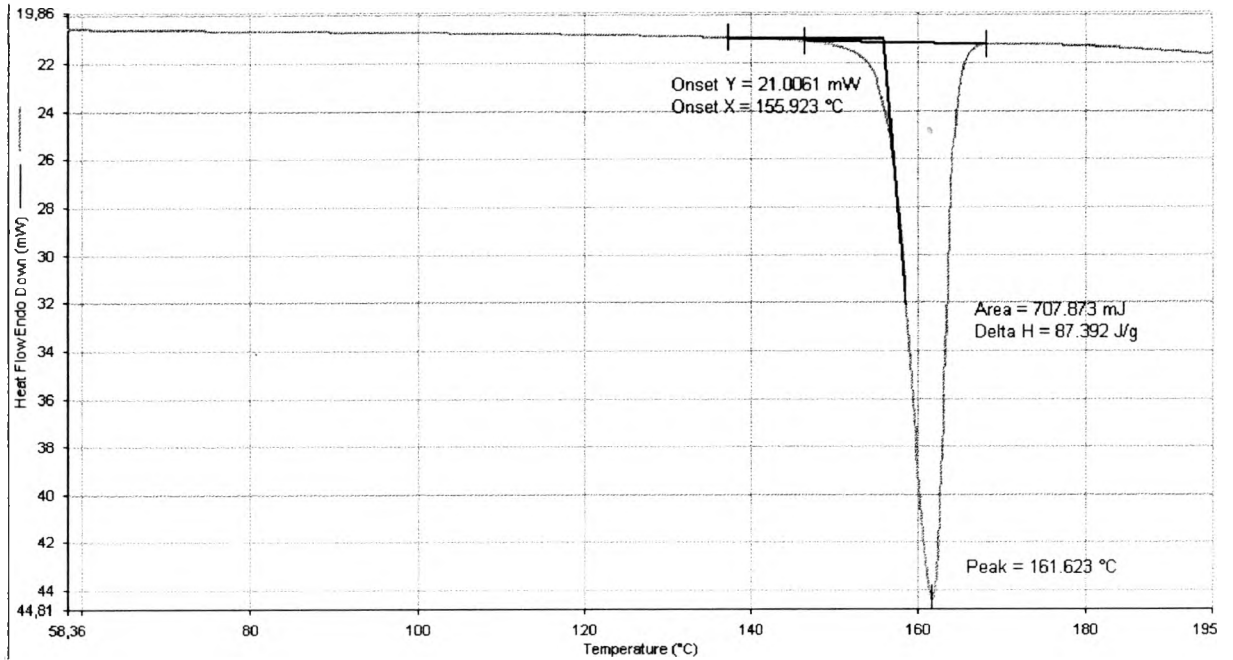
22. Stastna, J. and De Kee, D. 1995. Transport properties in polymer. Technomic publishing. USA. p147-167.
23. Ferraz, A., Souza, J.A., Silva, T.F., Goncalves, A.R., Bruns, R.E. and Cotrim, A.R. . 1997. Controlled release of 2,4 D from granule matrix formulation based on six lignins. Journal of Agricultural Food Chemistry. Vol 45, No. 3, p 96-101.
24. Umaña, E. 1995. Laboratorio de Investigación y Tecnología de Polímeros (POLIUNA). Síntesis de nuevos hidrogeles y sus aplicaciones. Informe editado por Umaña E.R et. al. Universidad Nacional.
25. Cotterill, J.V., Wilkins, R.M. and da Silva, F.T. 1996. Controlled release of diuron from granules based on a lignin matrix system. Journal of Controlled Release. Vol 40, 1996, pg. 133-142.
26. Prakash, S. and Ebing, W. 1991. High performance liquid chromatography of pesticides. Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry Department of Ecological Chemistry, Berlin.
27. Silverstein, R.M. and Bassler, C.G. 1996. Spectrometric identification of organic compounds. Fifth Edition. John Wiley and Sons, Inc. U.S.A.p 91-162, 289-315.
28. Tomlin, C. A. 1994. World Compendium. The Pesticide Manual Incorporating The Agrochemicals Handbook. Tenth Edition. The Royal Society of Chemistry. UK, p 113-115.
29. The Agrochemicals Handbook. 1994. Third Edition. The Royal of Chemistry. Cambridge, England.
30. Barcellos, I.O., Katime, I. y Pires, S.N. 2001. Estudio de la liberación controlada de fenobarbital en hidrogeles de PHEMA. Disponible. (Consulta: 12 de noviembre del 2001) www.geocities.com/dkatime/atrazados.html.
31. Bregnic, C. y Pizzorno, M.T. Nuevos sistemas de liberación controlada de drogas : Matrices poliméricas ; Disponible (Consulta: 14 de noviembre, 2001) www.rec.uba.ar/ubacyt/fa/fa125.htm.
32. Katime, I., Madoz, A. y Veleza J.L. 1994. Síntesis, caracterización y cinética de polimerización de algunos derivados del ácido itacónico. Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol 2, número 2, p 73-89.

33. Office of pollution prevention and toxics U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1994. Chemical summary for acrylamide. Disponible (Consulta: 2 de mayo, 2001) www.epa.gov/opptintr7chemfact7s/acryla.txt.
34. Hatekeyama, T. and Quinn, F.X. 1999. Thermal analysis, fundamentals and applications to polymer science. Second edition. John Wiley and sons. USA, p 1-24, 45-71.
35. Novillo, J., Rico, M.I. and Alvarez, J.M. 2000. Controlled release of Manganese into water from coated experimental fertilizer. Laboratory Characterization. Journal of Agricultural Food Chemistry. Vol 49, número 3, p 1298-1303.
36. Gerstl, Z., Nasser, A. and Mingelgrin, U. 1998. Controlled release of pesticides into water from clay-polymer formulation. Vol 46, número 9, pg 3803-3809.
37. Gerstl, Z., Nasser, A. and Mingelgrin, U. 1998. Controlled release of pesticides into soil from clay-polymer formulation. Journal of Agricultural Food Chemistry. Vol 46, número 9, pg 3797-3802.
38. Peck, M., Cotteril, J.V., Blanco, F.J. and Willkins, R.M. et al. 1995. A field experiment to compare the movement of diuron from wettable powder and controlled release formulations in a Brazilian soil. En: Pesticide movement to water. A. Walker, R. Allen, S.W Baley et.al. No 62. British Crop Protection Council. UK. p 327-332.
39. Meyvis, T., De Smetd, S. and Demeester, J. 2000. Influence of the degradation mechanism of hydrogeles on their elastic and swelling properties during degradation. Macromolecules, Vol.33, número 13, p 4717-4723.
40. Gustafsson, K., Wendt-Rasch, L., Plantman, P., Englund, S., Swahn, G., Ruepert, C. y Castillo, L. 2002. Effects of bromacil, a herbicide common in pineapple production, an aquatic primary producer in Costa Rica. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) 12 th Annual Meeting. Viena.
41. Escobar, J., Bocourt, M., Agüero, L., Zaldivar, D., Ramírez, E. y Katime, I. 2000. Estudio de hemocompatibilidad y liberación de ciprofloxacina a partir de ácido itacónico-co-ácido metacrílico. En: VII Simposium Latinoamericano de Polímeros. Libro de Resúmenes. La Habana p 343.

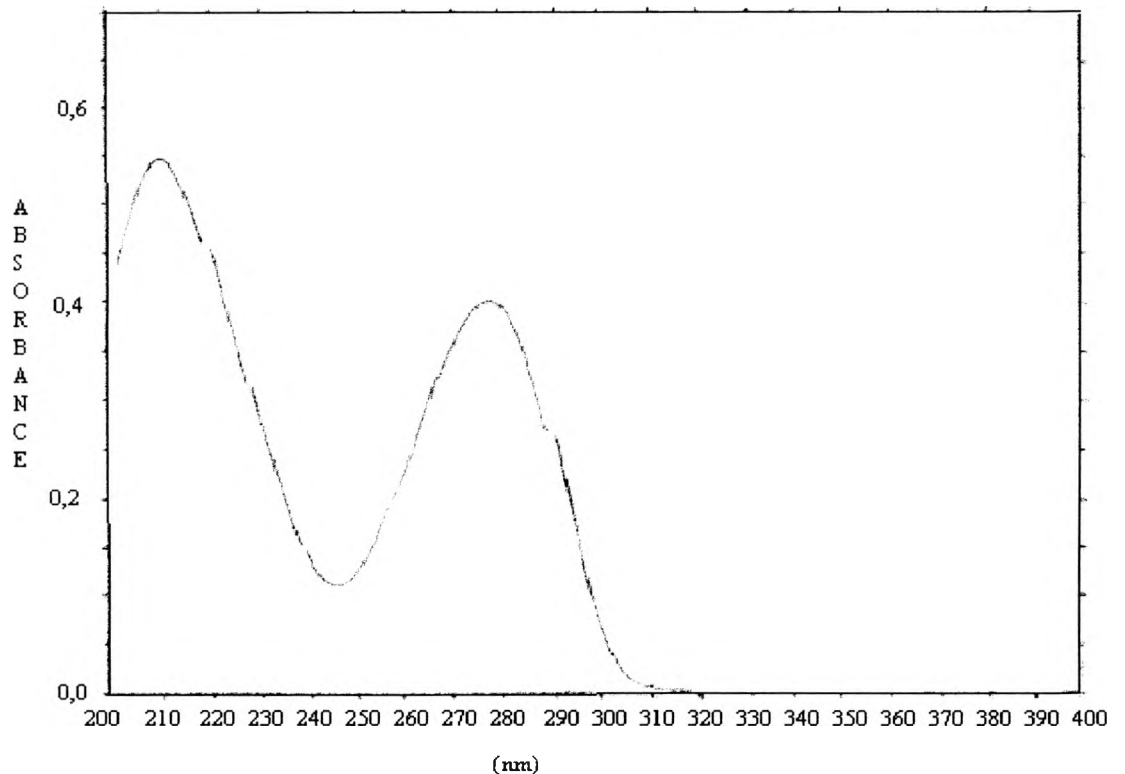
42. Tapia, C., Costa, E., Munita, A., Yazdhani, M. y Terraza, C. 2000. Estudio del comportamiento de liberación de Teofilina desde matrices de quitosano y quitosano injertado con acrilamida. En: VII Simposium Latinoamericano de Polímeros. Libro de Resúmenes. La Habana., p 475
43. Molina, M., Gomez-Aton, M. y Piérola, I. 2000. Propiedades de hinchamiento de los hidrogeles de polivinilimidazol neutros y protonados. En: VII Simposium Latinoamericano de Polímeros. Libro de Resúmenes. La Habana, 402.
44. Agüero, L., Escobar, J., Zaldivar, D., Katime, I. y Rodríguez, E. 2000. Determinación del contenido de agua por DSC en hidrogeles de poliácido metacrílico-co-acrilamida. En: VII Simposium Latinoamericano de Polímeros. Libro de Resúmenes. La Habana, p 353.
45. Yazdani-Pedram, M., Lagos, A., Pailaya, R. y Retuert, J. 2000. Estudio de hidrogeles basado en gelatina injertada con poli(acrilamida). En: VII Simposium Latinoamericano de Polimeros. Libro de Resúmenes. La Habana. p 287.
46. Escobar, J., García, D.M., Zaldivar, D. y Katime, I. 2002. Hidrogeles principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. Revista Iberoamericana en Polímeros. Vol 3, número 3, p 1-25.
47. Fernández, M., Villafranca, M., González, E., Martines, F. and Flores, F. 2002. Controlled release of carbofuran from an alginate-bentonite formulation: Water release kinetics and soil mobility. Journal of Agricultural Food Chemistry. Vol 48, No 3, p 938-943.
48. Sáez, V., Hernández, E. y Angulo, L. 2002. Sistemas de liberación controlada de medicamentos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol 3, número 3, p 1-20.
49. Chaverri, F. 2002. Importación de bromacil (ingrediente activo) en Costa Rica. Comunicación personal. IRET.

CAPITULO VII

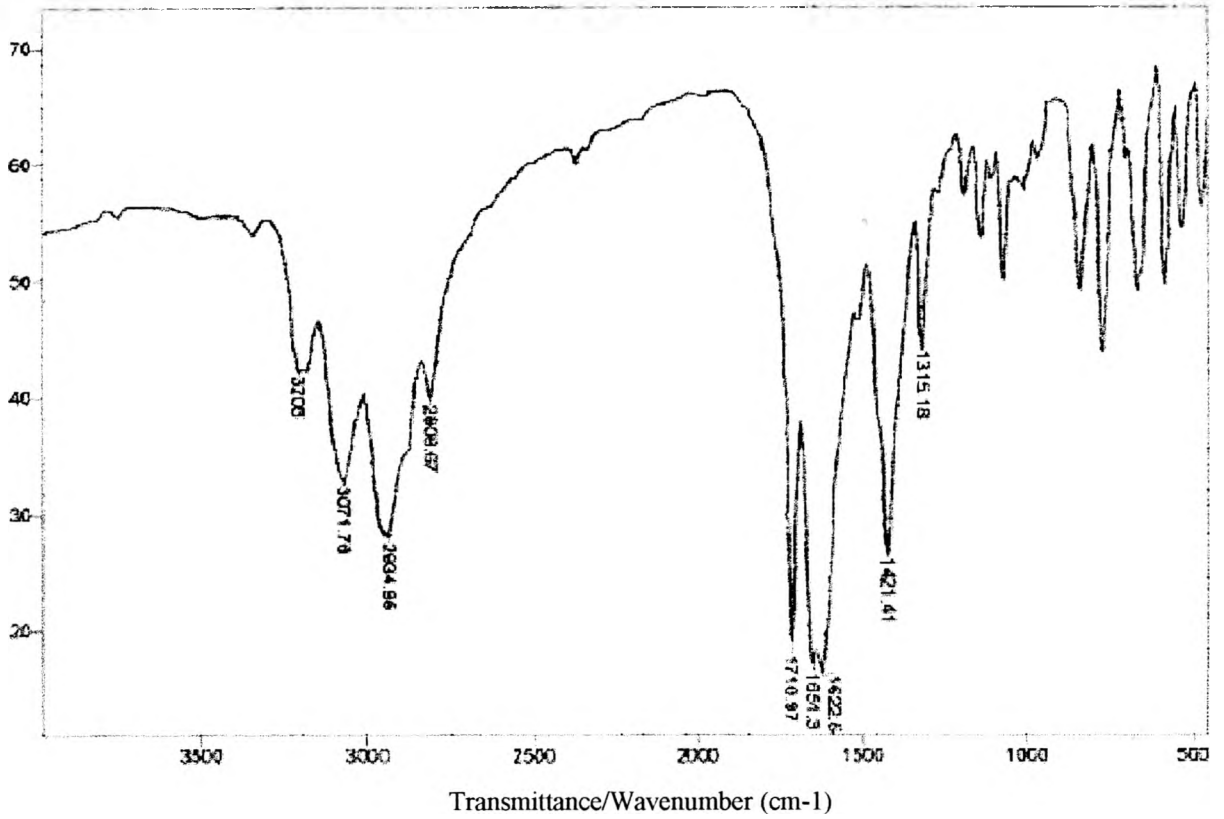
7. ANEXOS



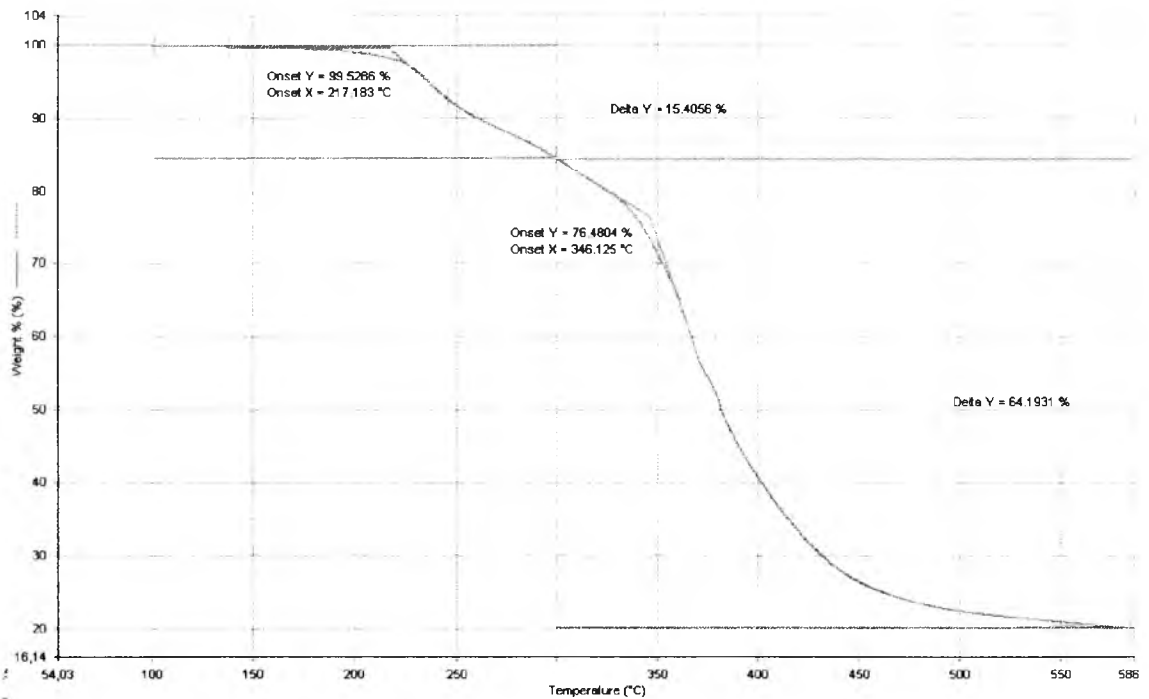
Anexo 1. Figura 17. Análisis calorimétrico diferencial de barrido (DSC) de una muestra de bromacil



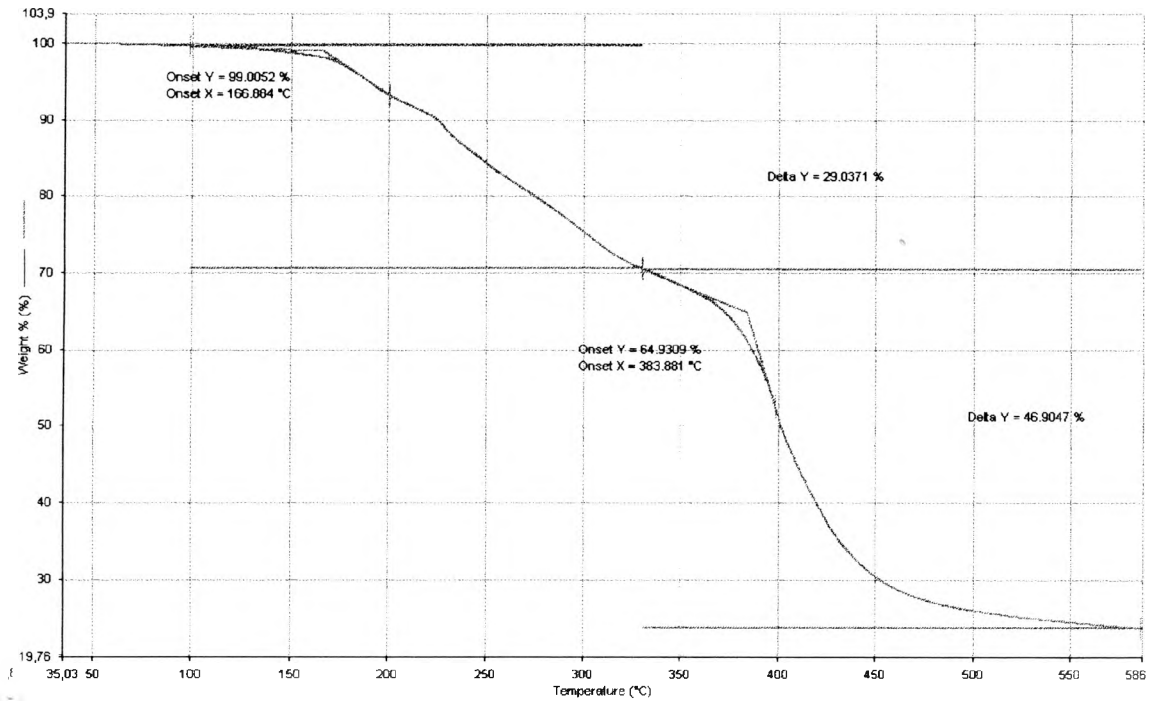
Anexo 2. Figura 18. Espectro de absorción ultravioleta de una muestra de bromacil.



Anexo 3. Figura 19. Espectro IFTR de una muestra de bromacil.



Anexo 4. Figura 20. Análisis Termogravimétrico de una muestra de un hidrogel de ácido itacónico al 5% de agente entrecruzante sin bromacil



Anexo 5. Figura 21. Análisis Termogravimétrico de una muestra de un hidrogel de ácido itacónico al 5% de agente entrecruzante con bromacil

Anexo 6. Cuadro 6. Determinación del porcentaje de hinchamiento en los hidrogeles de ácido itacónico con diferentes porcentaje de entrecruzamiento.

Tiempo (horas)	Hidrogel 1% Bis	Desv. St	Hidrogel 2,5% Bis	Desv. St	Hidrogel 5% Bis	Desv. St	Hidrogel 10% Bis	Desv. St
0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	178	28	135	10	178	9	80	8
1	365	52	257	16	478	24	132	12
1,5	582	67	413	55	675	27	208	50
2	837	159	557	105	793	32	268	52
3	1285	264	719	139	853	28	286	49
7	2480	421	1116	117	892	22	327	23
19	3820	308	1400	21	887	0	343	13
31	4170	193	1437	28	905	16	343	13
45	4568	209	1477	28	927	0	343	13
54	4614	179	1485	24	907	36	343	13
77,7	4687	25	1538	18	939	28	343	13

Channel : A
Peak : Bromacil

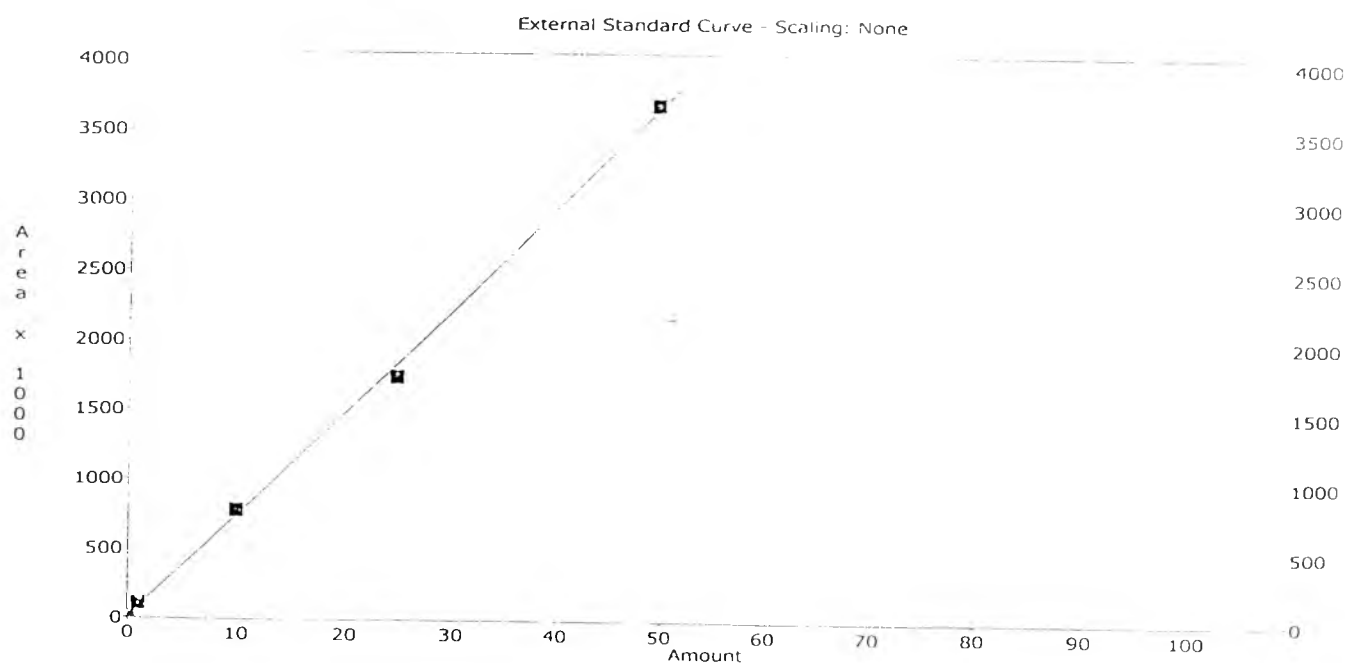
Level	Area	Amount	RF	Rep Area 1	Rep Area 2	Rep Area 3	Rep Area 4	Rep Area 5	Replic STD	Replic %RSD	Old Area
1	104912	0.995	9.484e-006	104912							0
2	781903	9.9149	1.268e-005	781903							0
3	1744342	24.7871	1.421e-005	1744342							0
4	3692128	49.5743	1.343e-005	3692128							0

Calib Flag: Replace

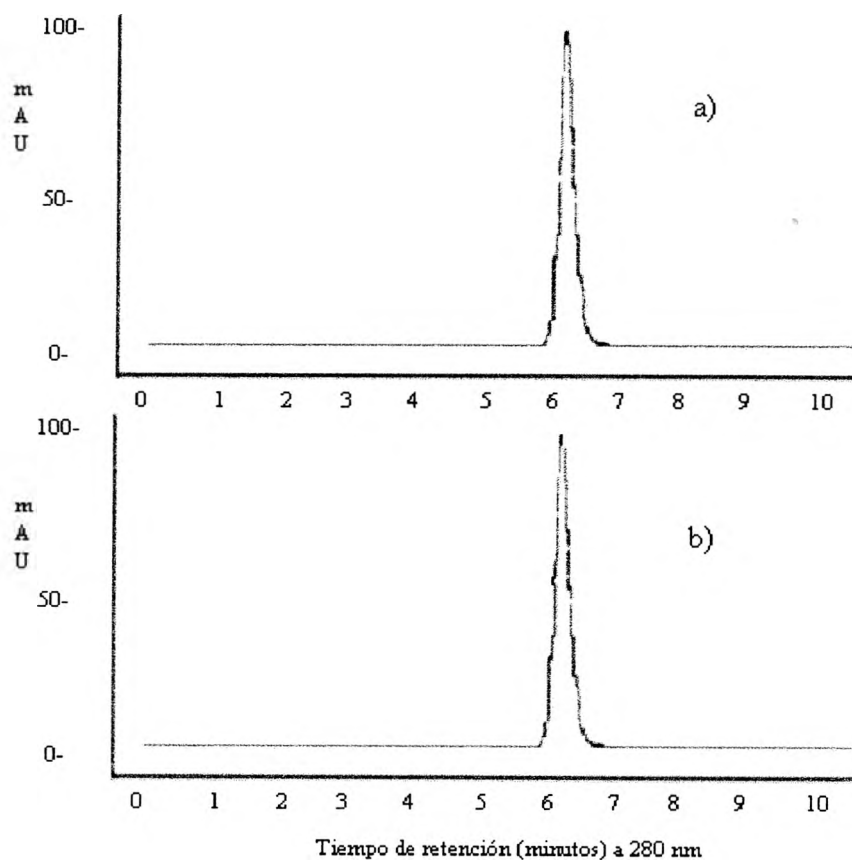
Average RF: 1.24504e-005
RF StdDev: 2.07378e-006
RF %RSD: 16.656

RF Definition: Amount / Area
Weighting Method: None
Fit Through Zero: No

Linear Fit: Amount = 1.36051e-005 x Area - 0.189428
R² = 0.99844



Anexo 7. Figura 22. Curva de calibración usada para la cuantificación del bromacil



Anexo 8. Figura 23. Cromatograma de la elución del patrón (a) y de una muestra de bromacil (b).

Anexo 9. Cuadro 7. Porcentaje de bromacil liberado desde hidrogeles del ácido itacónico en medio acuoso usando diferentes porcentajes de MBA.

Tiempo (horas)	H _{1%B}	Des. Est	H _{2,5%B}	Des. Est	H _{5%B}	Des. Est	H _{10%B}	Des. Est
2	5	2	4	0,3	7	0,9	14	0,6
4	8	2,0	7	2,1	12	2,1	23	1,1
8	13	2,0	14	1,2	21	7,7	33	1,1
24	34	4,1	29	6,9	33	2,5	52	7,2
48	53	3,8	44	6,2	49	4,4	62	7,7
72	65	3,8	54	6,3	60	4,3	69	7,1
96	72	5,4	61	5,1	68	4,6	73	6,9
120	77	5,2	66	5,7	73	4,2	73	4,2
144	80	4,5	69	4,2	77	5,1	74	2,8
168	81	3,6	74	4,8	80	4,0	74	3,4
192	83	3,0	77	3,0	82	3,6	75	3,4
216	83	2,3	79	2,7	86	1,7	76	3,0
240	83	2,0	80	2,0	87	0,9	76	3,0