

Cod. Barras/ 163382

N.º R. ALEPH 966503  
N.º R. Bib. 5110  
Signat. M/CI-39 VILLAVERDE

XXXIX CURSO INTERNACIONAL DE EDAFOLOGÍA Y BIOLOGÍA  
VEGETAL

**APLICACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN  $\beta$ -CD-  
NORFLURAZONA PARA LA DESCONTAMINACIÓN DE  
SUELOS.**



Memoria presentada por Jaime Villaverde Capellán

Sevilla, Julio de 2002

Memoria presentada por Jaime Villaverde Capellán , correspondiente al trabajo de investigación desarrollado durante el curso “Biotopo edáfico” en el departamento de Química de la interfase en procesos medioambientales.



Fdo: Jaime Villaverde Capellán

Vº Bº Los Directores del Trabajo de Investigación



Fdo: Morillo González, Esmeralda



Fdo: Maqueda Porrás, Celia

## *ÍNDICE*

1.	<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1.	<b><u>PLAGUICIDAS</u></b>	2
1.2.	<b><u>ANTECEDENTES DE LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE PLAGUICIDAS</u></b>	3
1.3.	<b><u>NORFLURAZON</u></b>	9
1.3.1.	<b>Propiedades físico-químicas del herbicida Norflurazón</b>	9
1.3.2.	<b>Mecanismo de acción</b>	10
1.3.3.	<b>Toxicología</b>	10
1.3.4.	<b>Aplicaciones</b>	10
1.4.	<b><u>CICLODEXTRINAS</u></b>	11
1.4.1.	<b>Historia y concepto</b>	11
1.4.2.	<b>Obtención</b>	11
1.4.3.	<b>Estructura química</b>	12
1.4.4.	<b>Propiedades fisicoquímicas</b>	13
1.5.	<b><u>COMPUESTOS DE INCLUSIÓN</u></b>	14
1.5.1.	<b>Concepto</b>	14
1.5.2.	<b>Requerimientos para la formación de compuestos de inclusión</b>	14
1.5.2.1.	<b><u>Factores estéricos</u></b>	15
1.5.2.2.	<b><u>Medio</u></b>	16
1.5.2.3.	<b><u>Polaridad y carga</u></b>	17
1.5.3.	<b>Métodos de elaboración</b>	17
1.5.3.1.	<b><u>Preparación de complejos en medio líquido</u></b>	18
1.5.3.1.1.	<i>Coprecipitación</i>	18
1.5.3.1.2.	<i>Neutralización</i>	18
1.5.3.1.3.	<i>Atomización</i>	19
1.5.3.1.4.	<i>Liofilización</i>	19

1.5.3.2. <u>Preparación de complejos en medio sólido</u>	19
1.5.3.2.1. Amasado	19
1.5.3.2.2. <i>Molienda</i>	20
1.5.3.2.3. <i>Calentamiento en contenedor sellado</i>	20
<b>1.5.4. Métodos de estudio del complejo de inclusión</b>	<b>20</b>
1.5.4.1. <u>Métodos de estudio de los complejos de inclusión en solución</u>	20
1.5.4.1.1. <i>Estudio de la solubilidad</i>	21
1.5.4.1.2. <i>Espectrofotometría Ultravioleta</i>	23
1.5.4.1.3. <i>Resonancia magnética nuclear de protones (<sup>1</sup>H-RMN)</i>	23
1.5.4.2. <u>Método de estudio de los complejos en estado sólido</u>	24
1.5.4.2.1. <i>Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</i>	24
1.5.4.2.2. <i>Termogravimetría (TG)</i>	25
1.5.4.2.3. <i>Microscopía de Platina Caliente (HSM)</i>	25
1.5.4.2.4. <i>Espectroscopía de infrarrojos (IR)</i>	26
1.5.4.2.5. <i>Difracción de Rayos X</i>	26
1.5.4.2.6. <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i>	26
<b>1.6. <u>APLICACIÓN DE LAS CICLODEXTRINAS EN EL</u></b>	
<b><u>CAMPO DE LOS PLAGUICIDAS</u></b>	<b>27</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
<b>3. EXPERIMENTAL</b>	<b>32</b>
3.1. <u>MATERIALES</u>	32
3.1.1. <b>Plaguicida</b>	32
3.1.2. <b>Ciclodextrinas</b>	32
3.1.3. <b>Reactivos HPLC</b>	
3.1.4. <b>Suelos</b>	32

<b>3.2. <u>MÉTODOS</u></b>	<b>35</b>
3.2.1. <b>Valoración del plaguicida</b>	<b>35</b>
3.2.2. <b>Valoración de la clorofila</b>	<b>36</b>
3.2.3. <b>Determinaciones analíticas para la determinación de suelos</b>	<b>36</b>
3.2.4. <b>Técnicas de elaboración de complejos</b>	<b>39</b>
3.2.4.1. <u>Atomizado</u>	<b>39</b>
3.2.4.2. <u>Rotavapor</u>	<b>39</b>
3.2.4.3. <u>Amasado</u>	<b>40</b>
3.2.5. <b>Estudio de los complejos</b>	<b>40</b>
3.2.5.1. <u>Estudios en estado líquido</u>	<b>40</b>
3.2.5.1.1. <i>Estudios de solubilidad</i>	<b>40</b>
3.2.5.1.2. <i>Estudios de velocidad de disolución</i>	<b>41</b>
3.2.5.2. <u>Estudios en estado sólido</u>	<b>42</b>
3.2.5.2.1. <i>Calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i>	<b>42</b>
3.2.5.2.2. <i>Espectroscopía de Infrarrojos (IR)</i>	<b>42</b>
3.2.5.2.3. <i>Difracción de Rayos X</i>	<b>42</b>
3.2.6. <b>Estudios de interacción herbicida-suelo</b>	<b>43</b>
3.2.6.1. <u>Cinéticas de adsorción</u>	<b>43</b>
3.2.6.2. <u>Isotermas de adsorción-desorción</u>	<b>43</b>
3.2.6.3. <u>Columnas de suelos</u>	<b>44</b>
3.2.6.3. <u>Bioensayos</u>	<b>45</b>
3.2.6.4. <u>Fotodegradación</u>	<b>46</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>48</b>
4.1. <b><u>ESTUDIOS EN ESTADO LÍQUIDO</u></b>	<b>48</b>
4.1.1. <b>Diagramas de solubilidad de fases</b>	<b>48</b>
4.2. <b><u>ESTUDIOS EN ESTADO SÓLIDO</u></b>	<b>50</b>

4.2.1. Calorimetría diferencial de barrido	50
4.2.2. Estudios por difracción de rayos X	53
4.2.3. Espectroscopía de infrarrojos	55
4.3. <u>ESTUDIOS DE VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN</u>	57
5. ESTUDIO DE LA INTERACCION DEL PLAGUICIDA CON SUELOS	61
5.1. <u>EXPERIENCIAS DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN EN SISTEMAS CERRADOS</u>	61
5.1.1. Cinéticas de adsorción	61
5.1.2. Isotermas de adsorción	62
5.1.3. Isotermas de adsorción-desorción	66
6. CONCLUSIONES	74
7. BIBLIOGRAFÍA	77

## ***INTRODUCCIÓN***

## 1.1 PLAGUICIDAS

La FAO/OMS define el término plaguicida como cualquier sustancia o mezcla de ellas utilizada para prevenir o controlar plantas o animales indeseables e incluso aquellas otras destinadas a utilizarse como regulador del crecimiento de la planta, defoliante o desecante.

Según su naturaleza química, los plaguicidas pueden agruparse en varias clases, pudiéndose clasificar como (Ware,1983; García y Hernanz, 1987):

### 1.-Insecticidas y acaricidas:

\*Organoclorados: endosulfan, DDT, dicofol, lindano.

\*Organofosforados: paratión, fenitrotión, dimetoato, metidation, malation, triclofon.

\*Organosulfurados: tetradifon, clorfeson

\*Carbamatos: cabaril, aldicarb, metiocarb, pirimicarb, metomilo, butocarboxim, cabofurano.

\*Otros grupos: formamidinas (amitraz), dinitrofenoles (dinocap), tiocianatos orgánicos (lethane), organoestánicos (fenbutestan), compuestos de flúor (fluoruro sódico), insecticidas naturales (piretrinas, nicotina), piretroides sintéticos (cipermetrina), compuestos inorgánicos (azufre, arseniatos).

### 2.-Herbicidas:

\*Inorgánicos: sulfamato amónico, boratos.

\*Orgánicos: Aceites derivados del petróleo, derivados organoarsenicales (DSMA), ácidos fenoxialifáticos (2,4-D, MCPA), amidas sustituidas (propanil), nitroanilinas (triflularin), ureas sustituidas (diuron, linuron), carbamatos (profam), tiocabamatos (EPTC), triazinas, triazoles, derivados de la piridina, uracilos sustituidos (atrazina, simazina, amitrol, bromacilo), ácidos alifáticos (dalapon), ácidos aril alifáticos (dicamba), derivados fenólicos (PCP), bipyridilos (diquat, paraquat).

### 3.-Fungicidas:

\*Inorgánicos: azufre, cobre, mercurio.

\*Orgánicos: ditiocarbamatos (maneb, zineb), tiazoles (etridiazol), triazinas (anilazina), aromáticos sustituidos (HCB, dicloran), dicarboxiamidas (captan, folpet), dinitrofenoles (dinocap), quinonas, organoestánico.

4.-Otros:

\*Nematicidas

\*Rodenticidas

\*Helicidas

\*Desinfectantes del suelo

El producto activo plaguicida es obtenido por la industria química con un grado de pureza variable. Este producto, llamado técnicamente, puro no es apto para uso agrícola, por lo que debe acondicionarse antes en una “formulación”. Esta contiene la materia activa o producto puro más o menos diluido en un soporte sólido o en un disolvente líquido y sustancias auxiliares que mejoran su acción (coadyuvantes). Estas formulaciones pueden aplicarse de forma directa o dispersas en agua.

Las interacciones que tiene lugar entre las moléculas del plaguicida y las fracciones coloidales del suelo están influenciadas considerablemente por la humedad, temperatura, pH, contenido en minerales y contenido en materia orgánica del suelo. A su vez, también están relacionadas con las características de los componentes orgánicos en cuanto a solubilidad en agua, polaridad, tamaño molecular y características químicas. De acuerdo con esto el grado de adsorción de un plaguicida por el suelo depende de la naturaleza de la fracción coloidal y de la estructura química del compuesto.

En general, los plaguicidas son compuestos orgánicos con propiedades tóxicas. Por eso es necesario saber qué tipo de interacción existe entre estos compuestos y los suelos, así como con sus constituyentes.

## **1.2 ORIGEN DE LOS PLAGUICIDAS EN EL SUELO**

Unas veces se debe a los tratamientos que se efectúan directamente a las partes aéreas de las plantas para combatir sus plagas, donde un 50% aproximadamente del producto utilizado se deposita en el suelo; o bien, por arrastre del incorporado a la planta por acción de la lluvia o del viento. Este es el caso que normalmente se presenta en la aplicación de insecticidas, fungicidas y herbicidas.

Otras veces el tratamiento se hace directamente al suelo, como en la aplicación de nematicidas y algunos herbicidas, apareciendo el producto en cantidades mayores.

En menor proporción, pueden también proceder de restos vegetales diversos que quedan en el suelo al recolectar el cultivo, o desprendidos durante el tratamiento. También hay que considerar el arrastre de restos suspendidos en la atmósfera por el viento o la lluvia.

### **1.2.1. Evolución de los plaguicidas en el suelo**

Cuando un plaguicida se aplica al campo, éste se distribuye en las distintas fases del ambiente (suelo, agua, aire, animales y plantas). Esta distribución dependerá tanto de las propiedades del plaguicida como de las propiedades de las distintas fases. Entre las propiedades del plaguicida está la solubilidad, y por ello, todos los factores susceptibles de hacerla variar tienen una gran influencia en la dinámica del plaguicida. Desde este punto de vista, los procesos de adsorción y desorción son, entre los distintos factores a considerar, los más importantes.

El proceso de adsorción se debe a la atracción entre una superficie sólida y un vapor o disolución, y resulta de la interacción de fuerzas que emanan de la superficie del adsorbente y las moléculas o iones del adsorbato.

El concepto es aplicable al caso de los plaguicidas. Estos pueden actuar como adsorbatos y quedar retenidos en el suelo, que actúa como adsorbente. Los procesos de la dinámica de los plaguicidas en suelos pueden englobarse en dos grupos: procesos de transferencia y procesos de transformación.

Entre los procesos de transferencia se encuentran:

a) Absorción, exudación y retención por las plantas: Depende de las propiedades del herbicida (Ashton y Crafts, 1981; Fedtke, 1982) tanto para maleza como para plantas de interés agrícola. Herbicidas como el 2,4-D son de moderada a alta solubilidad en agua y son muy móviles tanto fuera como dentro de las plantas, mientras que herbicidas de dinitroanilina son muy insolubles y muy inmóviles en plantas. Normalmente, la cantidad de un herbicida móvil absorbido y retenido por la planta alcanza un 5-10 % de la cantidad total aplicada.

b) Adsorción-desorción: Estos procesos serán estudiados con más detalle en otro apartado posterior, debido a la importancia que revisten, al influir en todos los demás procesos.

c) Volatilización: Es un proceso frecuente en el movimiento y desaparición de plaguicidas en el suelo, que consiste en el flujo del compuesto hacia la fase aire y

supone uno de los mecanismos de pérdida de masa hacia la atmósfera. La volatilidad potencial está relacionada con su presión de vapor, pero la volatilidad efectiva depende, además de la temperatura, composición del suelo, contenido en agua, naturaleza del plaguicida y grado de adsorción.

d) Lixiviación y flujo capilar: Se le denomina también percolación o flujo de masas. La lixiviación es un proceso frecuente de transporte de los plaguicidas en profundidad a lo largo del perfil del suelo, que puede tener lugar tanto si el plaguicida está en solución como en fase sólida (por arrastre mecánico o lavado del mismo), debido a la influencia del agua, tanto de riego como de lluvia. Los procesos de movimiento de masas y de difusión están implicados en ambos casos (Hartley y Graham-Bryce, 1980; Taboada y col., 1994). Los factores a tener en cuenta que influyen en la lixiviación son: las características físico-químicas del suelo (White y col., 1986), frecuencia e intensidad de la lluvia y el riego (Wietersen y col., 1993), solubilidad del plaguicida, posibilidad de adsorción del plaguicida en los coloides del suelo.

e) Erosión: Al estar los plaguicidas tan íntimamente ligados a las partículas del suelo, ya sea por adsorción sobre las mismas o por simple mezcla, estas partículas pueden actuar como portadores del plaguicida sobre la superficie del suelo cuando son movidas de un lugar a otro por el agua o el aire, mediante el proceso de erosión.

f) Difusión: Es el proceso por el cual el plaguicida es transportado en el suelo como resultado accidental debido a sus energías térmicas. A causa de ellas, hay un neto movimiento de posiciones de alta concentración a otras de menor concentración, y su importancia depende fundamentalmente de su solubilidad y de la presión de vapor del plaguicida. Los factores más influyentes en la difusión de los plaguicidas en el suelo son: la solubilidad, la temperatura (la difusión tiende a aumentar al hacerlo la temperatura), la humedad y porosidad del suelo (al aumentar la humedad, aumenta la difusión), la densidad de vapor y el grado de adsorción del plaguicida (un incremento de la adsorción reduce la difusión, por lo que altos contenidos de humus, arcillas u óxidos de hierro y aluminio, al aumentar la adsorción del plaguicida, incidirá en su disminución).

Y entre los procesos de transformación:

a) Degradación química y microbiológica: Están íntimamente ligadas entre sí siendo difícil establecer independencia entre ellas por lo que se denomina degradación

bioquímica.

La degradación química procede principalmente por reacciones de hidrólisis, oxidación y reducción, pudiéndose dar también isomerización, deshalogenación, desalquilación, reacciones de bismutación y reacciones con radicales libres.

La degradación microbiológica es quizá el mecanismo de descomposición de plaguicidas más importante, en el que las bacterias, algas y hongos del suelo los descomponen y los usan como fuente de alimentos y energía para su crecimiento.

La descomposición bioquímica de los plaguicidas depende principalmente de la estructura química de la molécula y de las condiciones del sistema suelo: composición, humedad, aireación, sustancias catalizadoras, microorganismos.

b) Degradación fotoquímica: Consiste en la degradación no biológica de herbicidas mediante la luz solar. La cantidad de herbicida fotoquímicamente degradado depende de la susceptibilidad de la molécula, de su exposición a la luz, que depende a su vez del método de aplicación, del tiempo de exposición, del grado de adsorción del plaguicida en el suelo, de la presencia de catalizadores fotoquímicos, del pH del suelo y del grado de aireación del suelo.

### **1.2.2. Adsorción-desorción de los plaguicidas en el suelo**

Son los procesos más importantes, ya que condicionan directa o indirectamente la magnitud de los demás.

La adsorción puede definirse como cualquier cambio en la concentración en una interfase que es diferente del seno de la fase (solución, gas, sólido). El sistema suelo es un sistema complejo, estando formado por muchas fases que incluyen sólidos, partículas coloidales, solución del suelo, solutos como nutrientes, plaguicidas y otras sustancias orgánicas naturales presentes, gases como CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, y vapores de herbicidas volátiles y otros orgánicos.

Un factor adicional a tener en cuenta es la variedad de mecanismos de adsorción que son posibles dependiendo de las propiedades químicas y físicas del herbicida. Los herbicidas iónicos son adsorbidos por los coloides del suelo mediante fuerzas coulombicas dependiendo de su carga iónica. Los herbicidas catiónicos se adsorben por reacciones de intercambio catiónico, las especies aniónicas son repelidas por los coloides del suelo cargados negativamente y atraídas hacia los cargados positivamente.

Por otra parte, los aniones fosforados se complejan con los coloides del suelo por intercambio de ligando y por reacciones de precipitación. Los plaguicidas que se presentan en forma molecular se unen a los coloides del suelo por enlaces de hidrógeno (fuerzas dipolo-dipolo dirigidas directamente), complejos de transferencia de carga, o por fuerzas de Van der Waals, de London o Debye.

Los diferentes mecanismos de adsorción dan lugar a diferentes tipos de isothermas (Calvet, 1989). De acuerdo con Giles y col. (1960), se pueden establecer cuatro tipos diferentes de isothermas, que implican una afinidad distinta del adsorbato por el adsorbente:

- Isotherma tipo S: presentan una pendiente inicial baja que aumenta con la adsorción y vuelve a disminuir a adsorción alta. Sugiere una afinidad de la superficie por el adsorbato menor que la de la solución, probablemente debido a competencia entre el adsorbato y el disolvente.
- Isotherma tipo L: indican una afinidad relativamente alta de la superficie por el adsorbato, que disminuye al aumentar la adsorción como consecuencia de una disminución en la superficie disponible, de aquí que la pendiente vaya disminuyendo con la adsorción hasta alcanzar un valor constante.
- Isothermas tipo H: son un caso extremo de la curva L, con una pendiente inicial muy grande, sugiriendo una afinidad muy alta.
- Isothermas tipo C: presentan una pendiente constante hasta alcanzar la adsorción máxima posible, y es debida a una distribución constante del adsorbato entre la interfase y la solución.

El proceso inverso de la adsorción es la desorción, y ésta puede ser total (adsorción reversible) o puede no serlo en gran medida (adsorción parcialmente irreversible). Las diferencias entre las isothermas de adsorción y desorción obtenidas para un mismo soluto es lo que se denomina histéresis, es decir, la cantidad de soluto retenido por el adsorbente en los procesos de desorción es diferente de la esperada de acuerdo con su isoterma de adsorción, para una concentración de equilibrio dada.

Mediante la ecuación de Freundlich se puede describir la adsorción de herbicidas por suelos en sistemas acuosos multicomponentes:

$$x/m=K C^n$$

El término  $x/m$  refleja la cantidad de herbicida adsorbido por el suelo,  $K$  es una

constante que refleja la capacidad de adsorción,  $C$  es la concentración del herbicida en solución, y  $n$  es una constante relacionada con la intensidad de enlace y con la curvatura que presenta la isoterma de adsorción.

La fracción de herbicida adsorbido puede ser mayor o menor para otros herbicidas en suelos diferentes. Asumiendo que  $1/n$  sea igual a 1.0, la ecuación anterior puede ser reordenada para dar lugar a un coeficiente de distribución para un herbicida dado en un suelo determinado, según la expresión:

$$K=[x/m]/C= C_s/C_e$$

Siendo  $C_s$  la cantidad de herbicida en el suelo y  $C_e$  la cantidad de herbicida en solución. Los valores de  $K$  se encuentran normalmente altamente correlacionados con el contenido de materia orgánica de los suelos, aumentando a medida que aumenta el contenido de dicha materia orgánica. Si asumimos que los herbicidas se adsorben sólo por superficies orgánicas y que el porcentaje de carbono orgánico del suelo es conocido, se puede calcular un valor  $K_{oc}$  (coeficiente de partición) para un herbicida dado adsorbido por un determinado suelo:

$$K_{oc}=[K/\% \text{ carbono orgánico}] \times 100$$

De acuerdo con Kanazawa (1989), se obtienen altos valores de  $K_{oc}$  para herbicidas con propiedades catiónicas y compuestos lipofílicos de baja a extremadamente baja solubilidad. El valor de  $K_{oc}$  para un herbicida con propiedades básicas es dependiente del  $pK_a$  del compuesto (cuanto mayor sea el  $pK_a$  tanto mayor es el  $K_{oc}$ ). El valor de  $K_{oc}$  para un herbicida con propiedades ácidas es también dependiente del  $pK_a$  del compuesto y del  $pH$  del sistema (cuanto menor el  $pH$ , mayor  $K_{oc}$ ). El  $K_{oc}$  para herbicidas no iónicos está normalmente inversamente relacionado con las solubilidades en agua de los compuestos.

### **1.2.3. Adsorción de los plaguicidas sobre la materia orgánica**

Como ya se ha mencionado, la materia orgánica tiene un papel muy importante en los procesos de adsorción-desorción y posterior movilidad de plaguicidas. Ello es debido a propiedades como la capacidad de cambio de cationes en las sustancias húmicas, que es más alta que la de los silicatos laminares, siendo del orden de 200 a 400 meq/100 g, y poseen además un gran área superficial. De hecho su importancia es tal, que se define

un coeficiente para describir la adsorción de plaguicidas en suelos normalizado de acuerdo con el contenido de materia orgánica, ya descrito anteriormente.

Los mecanismos que operan en la adsorción de plaguicidas en la materia orgánica son el cambio iónico, cambio de ligando, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, procesos de ión-dipolo y coordinación, a los que añadir complejos de transferencia de carga y enlaces hidrofóbicos. Dichos mecanismos se encuentran solapados, siendo a veces difícil su distinción.

La materia orgánica, concretamente las sustancias húmicas, presentan un alto contenido en grupos químicos de naturaleza diferente, estando presente tanto componentes hidrofílicos como hidrofóbicos. Los compuestos de baja solubilidad en agua se adsorberán preferencialmente en estas áreas hidrofóbicas mediante los llamados enlaces hidrofóbicos. La partición de los plaguicidas sobre estas superficies hidrofóbicas se realiza por interacciones soluto-solvente débiles, que son especialmente importantes en el caso de plaguicidas no iónicos, los cuales poseen altos valores de  $K_{oc}$  (Weber y Swain, 1993; Loux y col., 1989).

La adsorción a través de intercambio catiónico, por ejemplo en el caso de los plaguicidas dicuat, paracuat y clordimeform (Maqueda y col., 1989, 1990, 1993), se da en el caso de plaguicidas que, o bien son catiónicos en solución, o bien pueden aceptar un protón de las superficies ácidas o de la solución del suelo y adsorberse como molécula protonada.

Los enlaces por puentes de H son factibles dependiendo de la polaridad de la molécula del herbicida, que interacciona a través de los grupos funcionales de los ácidos húmicos que contienen hidroxilos y oxígenos. reacciones de transferencia de carga provienen de estructuras redox que las sustancias húmicas poseen, dando lugar a estructuras resonantes por transferencia de carga con núcleos aromáticos. Mecanismos de transferencia de carga han sido reseñados en el caso de clordimeform (Maqueda y col., 1989).

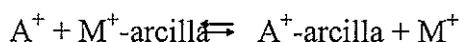
Por otra parte, los plaguicidas pueden ser incorporados a las sustancias húmicas a través de enlaces covalentes mediante una oxidación acoplada con radicales polimerizados estables. En el caso del 2,4-D existe evidencia de reacciones de oxidación acoplada vía fenólica (Piccolo y col., 1996).

#### 1.2.4. Adsorción de los plaguicidas sobre los minerales de la arcilla

La fijación de moléculas orgánicas por minerales de la arcilla depende tanto de las características del silicato (naturaleza del silicato, densidad de carga laminar, naturaleza del catión que satura el espacio interlaminar, etc.) como de las propiedades de las moléculas adsorbidas (grupos funcionales, tamaño, capacidad de protonación, etc). En líneas generales las reacciones implicadas pueden clasificarse de la siguiente forma:

*A) Procesos de cambio iónico: Adsorción de moléculas cargadas.*

A.1) Cambio catiónico: El mecanismo de adsorción de moléculas cargadas por cambio catiónico se explica mediante el intercambio que puede producirse entre cationes minerales adsorbidos que compensan parte de las cargas superficiales de la arcilla y los cationes orgánicos presentes en la fase líquida en contacto con ella. El enlace tiene lugar por fuerzas electrostáticas:



Donde  $M^+$  representa al catión mineral y  $A^+$  a la molécula orgánica cargada.

Aunque existen pocos plaguicidas catiónicos, han sido ampliamente estudiados los herbicidas dicuat, paracuat, clordimeform y clormequat (Maqueda y col., 1994; Weber, 1994). Todos son bases fuertes y se ionizan completamente en agua. Debido a su carácter iónico, son altamente solubles en agua y fácilmente adsorbidos por los minerales de la arcilla.

Los cationes orgánicos presentan una serie de propiedades diferentes de los inorgánicos, las cuales determinan el proceso de cambio iónico en las arcillas:

\*La adsorción está influida por otras fuerzas, como enlaces de hidrógeno, ión-dipolo y otras fuerzas físicas, cuya importancia depende en cada caso de factores tales como peso molecular, grupos funcionales y configuración de la molécula.

\*La interacción del catión orgánico con el disolvente empleado puede hacer cambiar la adsorción de dicho catión

\*Efecto de densidad y tipo de carga laminar: Condiciona la orientación de las moléculas en el espacio interlaminar.

\*"Irreversibilidad de la reacción de cambio: La adsorción de plaguicidas catiónicos en suelos es prácticamente irreversible en las condiciones normales de los mismos. Por esta

razón, su actividad herbicida desaparece rápidamente, mientras que su persistencia química es muy elevada, por lo que su adsorción produce una contaminación permanente del suelo, bloqueando en parte la capacidad de cambio de los minerales de la arcilla.

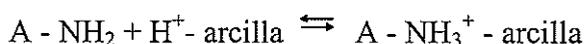
\*Influencia del catión inorgánico de cambio: Hay cationes inorgánicos que tienen más tendencia que otros a desplazarse de los minerales de la arcilla.

A.2) Adsorción de moléculas orgánicas protonadas: Muchos compuestos orgánicos pueden adsorberse en el espacio interlamilar de los minerales de la arcilla protonándose y convirtiéndose en cationes. La protonación puede tener lugar en la misma superficie de la arcilla o previamente en solución.

La protonación en la superficie de la arcilla depende de la acidez superficial, y la protonación en solución depende del pH de la misma. En ambos casos hay que tener en cuenta el valor de pKa del compuesto. Cuando la protonación se da en solución, la especie protonada se adsorbe por intercambio catiónico.

La protonación en la superficie de la arcilla puede darse mediante tres mecanismos diferentes:

1.- Transferencia de protones que ocupan sitios de cambio:

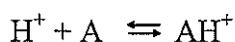


2.- Donación de protones del agua asociada a un catión interlamilar (hidrólisis):



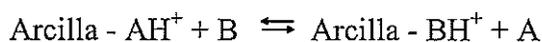
El grado de desplazamiento de la reacción depende del poder polarizante del catión (o sea, de su carga y radio iónico) pues cuanto mayor sea, más polarizadas están las moléculas de agua (Morillo, y col. 1991).

Los protones obtenidos pueden ser tomados por una base orgánica



La especie protonada se adsorbe a continuación por cambio catiónico.

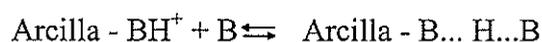
3.-Transferencia de protones de otras especies protonadas presentes:



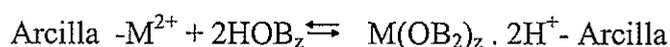
Un grupo importante de herbicidas que presentan este tipo de interacción son las triazinas sustituidas. Estos compuestos poseen un carácter débilmente básico, por lo que

su existencia en forma de catión dependerá de su capacidad para adquirir un protón, siendo entonces adsorbidos mediante intercambio catiónico. La adsorción de estos compuestos aumenta con el pH de la solución, hasta llegar al pKa del compuesto, a partir del cual disminuye su adsorción. El pKa depende de la naturaleza de los sustituyentes del anillo triazínico.

A.3) Formación de hemisales: Cuando una molécula B, adsorbida bajo forma catiónica protonada, fija otra molécula B mediante la formación de un compuesto donde el protón  $H^+$  es compartido:

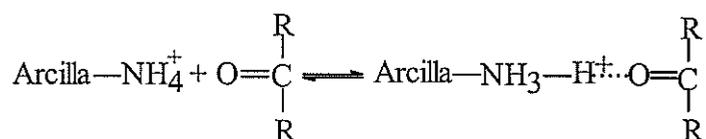


A.4) Cambio aniónico: En contra de lo que cabría esperar, también se ha observado la adsorción de aniones por minerales de la arcilla:



*B) Procesos de enlace de hidrógeno:*

B.1) Enlace de hidrógeno orgánico-orgánico: Cuando los cationes de cambio de la arcilla son orgánicos, existe la posibilidad de que éstos interaccionen con otras especies orgánicas mediante enlaces de H es un proceso parecido a la formación de hemisales. El protón permanece asociado al catión orgánico inicialmente presente, pero interacciona con grupos polares negativos de la otra molécula.

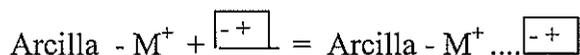


B.2) Procesos por puentes de agua: Implica la unión de moléculas orgánicas polares al catión metálico de cambio a través de las moléculas de agua de su primera esfera de hidratación (Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano, 1987; Roldán y col., 1991; Weber y Swain, 1993)

*C) Procesos de cambio de ligandos: Enlaces por transferencia de carga.*

Interacción que se produce cuando existe una transferencia de electrones entre un dador rico en electrones y un aceptor deficiente en electrones. Estas reacciones se dan con más frecuencia con óxidos y con las sustancias húmicas del suelo, como se verá en otro apartado de este trabajo, más que con minerales de la arcilla.

D) *Ión-dipolo y coordinación*: Interacción entre los dipolos de las moléculas orgánicas neutras y los cationes de cambio del silicato, bien directamente o a través del agua de hidratación del catión. La naturaleza del catión saturante del mineral de la arcilla y el agua asociada a él juegan un papel muy importante, ya que determinan la acidez superficial de la arcilla.



Se establece una competencia entre los dipolos de agua de la esfera de hidratación del catión  $\text{M}^+$  y las moléculas polares que se adsorben, pues ambos tienden a estar rodeando al catión de cambio.

Entre los plaguicidas polares, los compuestos que presentan mayor interés en estos procesos de adsorción son los carbamatos y los plaguicidas organofosforados (Franci y col., 1990; Pusino y col., 1991).

La interacción con los cationes de cambio se puede dar directamente, sustituyendo a dipolos de agua de la primera esfera de hidratación, dando lugar a un enlace ión-dipolo, o bien, sin desplazar al agua, dando lugar a un enlace por puentes de agua.

La adsorción de plaguicidas también puede darse por coordinación, es decir, por la formación de complejos estables con los cationes de cambio. Esto le ocurre al plaguicida aminotriazol con Ni y Cu, principalmente, aumentando su adsorción cuando el catión de cambio es uno de ellos. También le ocurre al glifosato en presencia de Fe y Al.

E) *Fuerzas de Van der Waals*: Son fuerzas físicas, relativamente débiles, que se superponen a las demás interacciones. Es el resultado de la atracción entre dipolos entre moléculas cercanas, por eso disminuyen cuando aumenta la distancia entre ellas. Estas fuerzas son por tanto mayores cuanto mayor sea el tamaño de la molécula adsorbida.

#### **1.2.5. Adsorción de plaguicidas sobre óxidos y oxihidróxidos**

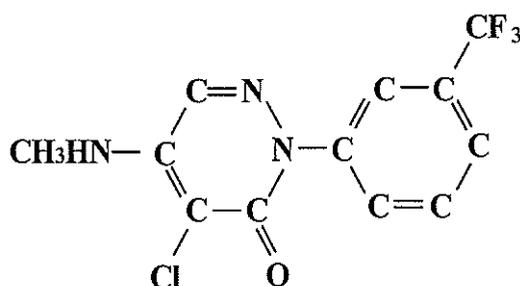
La adsorción de plaguicidas sobre óxidos es importante, especialmente en plaguicidas ácidos, por interacciones electrostáticas vía adsorción del anión del herbicida sobre sitios de cargas, independientes del pH, cargados positivamente (Maqueda y col., 1986; Loux y col., 1989b). Madrid y Díaz-Barrientos (1991) sugirieron que este mecanismo es el que parece estar operando en la adsorción del plaguicida 2,4-D sobre lepidocrocita,

atribuyendo la menor adsorción de este plaguicida en presencia de fosfato, al efecto que la carga negativa de este último tiene sobre el potencial eléctrico y no a una competencia por los sitios de adsorción. Además de estas interacciones electrostáticas, otros mecanismos que pueden estar operando en la adsorción de plaguicidas sobre óxidos son interacciones dipolo-dipolo, como es el caso de la hidracida maleica sobre lepidocrocita (Roldán y col., 1991) y la adsorción de primisulfuron sobre ferrihidrita, goetita, buserita y silica (Ukrainczyk y Ajwa, 1996).

En el estudio del plaguicida clorsulfuron, también ácido, se observó una estrecha relación entre la adsorción de este plaguicida y el número de grupos protonados  $\text{FeOH}_2^+$  (Borggaard y Streibig, 1988). Sin embargo, a bajos pHs, la disminución en la adsorción de clorsulfuron no es fácilmente explicable si la protonación de grupos hidroxilos se considera el único factor importante en su adsorción. Los resultados pueden ser explicados atendiendo a otro mecanismo, como es el intercambio de ligado entre los grupos hidroxilos y el plaguicida. Este mecanismo es el que parece estar teniendo lugar también entre óxidos de hierro y el plaguicida organofosforado glifosato.

## 1.2. NORFLURAZON

Químicamente se trata del (4-cloro-5-metilamino-2-( $\alpha\alpha\alpha$ -trifluoro-m-tolyl)pyridazin-3(2h)-uno). Es un herbicida que pertenece al grupo de las piridazinonas, inhibidor de la síntesis de carotenoides, con un peso molecular de 303.7, siendo su fórmula química la siguiente:



### 1.2.1. **Propiedades físico-químicas del herbicida norflurazon**

La norflurazona pura es un sólido cristalino sin color. Su punto de fusión se encuentra entre 174-180 °C. Presenta una baja solubilidad en agua de 28 mg/L, siendo mucho mayor su solubilidad en disolventes orgánicos: acetona 50 g/L, etanol 142 g/L y de 2.5 g/L en xileno. Es una molécula estable en solución acuosa con un margen de de Ph

entre 3-9. El herbicida almacenado a 20 °C tiene una vida mayor o igual a 4 años. Rápidamente es degradado por la luz solar. La dosis DL50 en suelo es de 21-28 días.

Se ha comercializado con las marcas: Zorial®, Evital® y Solicam®

Evital®: es una formulación comercial granulada (50 g de ingrediente activo/Kg).

Solicam®, Solicam rapid® y Zorial®: son formulaciones de polvos humectables.(800g/Kg).

También existe una formulación constituida por una mezcla, denominada “Telok®”, con formulación granulada de 40 g de norflurazona y 20 g de simazina por Kg.

### **1.2.2. Mecanismo de acción**

El modo primario de acción consiste en la inhibición de la fitoendosaturasa o la inhibición de la deshidrogenación básica en la biosíntesis del carotenoide , siendo la inhibición del carotenoide un efecto secundario. Sin la protección de los carotenoides la clorofila es destruida por fotooxidación, lo cual conlleva la muerte de la planta.

Otros modos de acción:

- a) Inhibición de la reacción colina.
- b) Alteración en la relación de los ácidos linolénico/linoleico.
- c) Influencia en los ribosomas de los cloroplastos.

### **1.2.3. Toxicología**

Toxicidad en mamíferos: vía oral LD50 para ratas en dosis superiores a 8000 mg/Kg.

Vía percutánea LD50 para conejos en dosis superiores a 20000 mg/Kg.

Pruebas de alimentación durante 2 años en ratas 375 mg/Kg en la dieta.

Pruebas de alimentación durante 90 días con dosis diaria de 12.5 mg/Kg.

### **1.2.4. Aplicaciones**

Es considerado como el más efectivo de los herbicidas , usado como herbicida de preemergencia para cultivos de algodón, fresas, cítricos, nueces, soja y frutas con hueso a 1-4 Kg AI/ha, para el control de numerosas malas hierbas caducas. La principal vía de metabolización, en las plantas, es la N- desmetilación.

### 1.3. CICLODEXTRINAS (CDs)

#### 1.3.1. Historia y concepto

El primer trabajo sobre el aislamiento de una sustancia reconocible como CD fue realizado por Villiers en 1891. Dicho investigador aisló una pequeña cantidad de sustancia cristalina de un medio de cultivo de *Bacillus amylobacter*, el cual fue denominado celulosina.

El siguiente avance en la química de las cicloextrinas fue realizado por Schardinger (1903-1911), fue el primero en aislar el bacilo productor de la enzima responsable de la transformación del almidón en CD (*Bacillus macerans*).

Schardinger caracterizó esta sustancia cristalina como una mezcla de dos oligosacáridos cíclicos, a los cuales denominó dextrina cristalina  $\alpha$  y dextrina cristalina  $\beta$ , describiendo detalladamente su aislamiento y preparación de ambas sustancias cristalinas. Por ello, estas CDs son también conocidas como dextrinas de Schardinger, cicloglucanos o cicloamilosas.

Pringsheim descubre su poder complejante y su aptitud para formar compuestos de inclusión con distintas moléculas, observando una modificación en el comportamiento de las mismas.

Las CDs se pueden definir como oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1,4). Estas moléculas van a ser capaces de formar complejos de inclusión con numerosos productos, debido a la más importante característica estructural de estos compuestos, que consiste en una conformación toroidal o de "donut", que delimita una cavidad relativamente apolar, mientras que el exterior presenta una naturaleza hidrofílica, pudiendo formar compuestos de inclusión tanto en medio líquido como en estado sólido.

En los últimos años las CDs han acaparado un gran interés en el campo de los plaguicidas, debido a su capacidad para formar compuestos de inclusión con estas moléculas, para una amplia variedad de las mismas, obteniéndose importantes resultados que resolverían los problemas más importantes que plantean en la actualidad, como son el aumento de la hidrosolubilidad, debido a que se trata de sustancias muy hidrófobas y solo se disuelven en medios orgánicos, consiguiéndose una reducción en la toxicidad y del coste económico que supone el empleo de esos disolventes orgánicos.

### **1.3.2. Obtención**

Las CDs son producidas por la acción de la enzima CD glicosiltransferasa (CGT) en un medio que contenga almidón, el producto primario de la rotura por la CGT experimenta una reacción intramolecular dando lugar a productos finales cíclicos, por medio de enlaces  $\alpha$ -(1,4).

La nomenclatura de las CDs se realiza por medio de letras griegas para denotar el número de unidades de D-glucosa:  $\alpha$  para las de 6 unidades,  $\beta$  para las de 7,  $\gamma$  para las de 8 y así sucesivamente para CDs superiores. Se puede llegar a encontrar CDs con un mayor número de subunidades de D-glucosa, pero estas presentan dificultades tanto para su purificación como para su posible complejación con otras moléculas. CDs con un número inferior a 6 unidades no se pueden aislar debido a impedimentos estéricos.

### **1.3.3. Estructura química**

Como consecuencia de la conformación del  $C_1$  de las unidades de  $\alpha$ -D-glucopiranososa y la ausencia de libre rotación en los enlaces glucosídicos, estas moléculas no son totalmente cilíndricas, sino que presentan una conformación troncocónica. Los grupos hidroxilos secundarios (aportados por los átomos  $C_2$  y  $C_3$  de las unidades de glucosa) y los hidroxilos primarios se encuentran situados, cada uno, en los polos opuestos de la molécula, siendo más estrecho el lado donde se encuentran los hidroxilos primarios, confiriendo a la molécula una estructura hidrofílica en el exterior de la misma. La libre rotación de los hidroxilos primarios, debido a que no se encuentran rodeados por átomos de hidrógeno, puede ser el responsable de la reducción del diámetro efectivo por donde esto ocurra, mientras que los hidroxilos secundarios, situados en cadenas más rígidas, no tendrían esa posibilidad.

Los hidroxilos secundarios pueden formar puentes de hidrógeno entre sí, concretamente entre el hidroxilo secundario aportado por el  $C_2$  y el hidroxilo secundario aportado por el  $C_3$  del residuo glucopiranosil adyacente. Por lo tanto en las CDs se puede formar un cinturón completo de uniones de hidrógeno, siendo responsable de la formación de una estructura rígida, tal y como ocurre con la  $\beta$ -CD.

Esta estructura, así estabilizada, permite una orientación particular de los protones libres  $H_1, H_2, H_3, H_4, H_5$  (soportados por  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5$ ). Los  $H_1, H_2$  y  $H_4$ , se encuentran dirigidos hacia el exterior, mientras que los  $H_3$  y  $H_5$  lo están hacia interior de la cavidad. La cavidad de la CD consiste en un anillo de átomos de hidrógeno aportados por los  $C_3$ , otro anillo de oxígenos aportados por los enlaces glucosídicos y por un último anillo de átomos de hidrógeno aportados por los  $C_5$ . Por esta razón, la cavidad presenta un carácter apolar.

*Tabla 1.- Dimensiones de las CDs naturales.*

CAVIDAD:	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
Diámetro interior (Å)	5	6	8
Diámetro exterior (Å)	14.6	15.4	17.5
Profundidad (Å)	7.9	7.9	7.9
Volumen (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Volumen/mol (mL)	104	157	256
Volumen/g. (mL)	0.1	0.14	0.20

#### 1.4. COMPUESTOS DE INCLUSIÓN

##### 1.4.1. Concepto

El término “einschlussverbindurg” (compuesto de inclusión) fue introducido por Schlenk en 1950; también se conoce en la literatura a través de otras denominaciones, tales como, clatrato, aducto, compuesto molecular y complejo.

Los complejos de inclusión son compuestos moleculares que presentan la estructura característica de un clatrato, en la cual la molécula hospedadora envuelve a otra.

De este modo, el compuesto incluido (molécula huésped) , se encuentra situado en la cavidad del hospedador, sin verse afectada de manera significativa su estructura. Aparte

de la leve deformación, un hecho característico es que el tamaño y la forma de la cavidad disponible permanecen prácticamente inalterados.

Los compuestos de inclusión resultantes pertenecen a los complejos del tipo “hospedador-invitado”.

#### **1.4.2. Requerimientos para la formación de compuestos de inclusión**

La formación de los compuestos de inclusión se dividen en 6 etapas, que se describen a continuación.

Aproximación de la molécula huésped hacia la CD.

- I) Ruptura del agua de estructura del interior de la cavidad de la CD con eliminación de algunas moléculas de agua fuera del anillo.
- II) Desordenación de la estructura del agua alrededor de la molécula que va a ser incluida y transporte de algunas moléculas de agua hacia la solución.
- III) Interacción de la molécula del sustrato o de algunos de sus sustituyentes con grupos del borde o del interior de la cavidad de la CD.
- IV) Formación de posibles puentes de hidrógeno entre el sustrato y la CD.
- V) Restablecimiento de la estructura del agua de alrededor de la parte exterior de la molécula después de la inclusión.

Resulta importante señalar que la fase de formación de puentes de hidrógeno nunca va a ser una fase limitante en el proceso de formación del complejo de inclusión, debido a que se forman de una manera extremadamente rápida. La formación del complejo de inclusión se establece mediante uniones no covalentes sustrato ligando, como del tipo: Van der Waals, electrostáticas, de inducción o polarización y de dispersión o de London. Para que se forme un complejo de inclusión deben cumplirse una serie de requisitos, los cuales se enumeran a continuación.

#### **1.4.3. Métodos de elaboración**

No existe una técnica universal para la preparación de complejos de inclusión ya que el método tendrá que adaptarse a las características del principio activo y sus requerimientos. A la hora de elegir un método de elaboración es importante tener en cuenta podría ser si el método va destinado a una producción a nivel de laboratorio o

industrial. Aunque los métodos de elaboración descritos en la bibliografía son numerosos y variados, se podría hacer una clasificación en función de su naturaleza.

#### 1.4.3.1. Preparación de complejos en medio líquido

Estos métodos consisten básicamente en añadirle el plaguicida o una solución acuosa del mismo u otro disolvente, si el principio no es hidrosoluble, a una solución acuosa de CD bajo agitación. El sistema deberá reunir las condiciones necesarias para que se de una adecuada complejación, deberá ser una solución en caliente y el pH dependerá de la molécula haciendo que la misma no se encuentre en estado ionizado.

El disolvente utilizado deberá ser miscible o inmiscible con el agua. Una vez añadido el plaguicida la solución se dejará en agitación durante un tiempo variable para conseguir el equilibrio.

##### *1.4.3.1.1. Atomización*

Este proceso consiste en la preparación de una solución de CD en agua y del plaguicida en un disolvente del tipo orgánico, siendo el más comúnmente utilizado el etanol. Ambas soluciones se mezclan en las proporciones adecuadas para evitar la coprecipitación de alguna de las sustancias participantes posteriormente se dejan en agitación, por ejemplo en un ultrasonido, durante un tiempo hasta conseguir una distribución homogénea de las soluciones. Una vez conseguida esta solución, se introduce en un atomizador, donde es nebulizada en forma de gotículas finamente divididas que por acción de un aire a altas temperaturas evaporan el disolvente obteniéndose el complejo sólido.

#### 1.4.3.2. Preparación de complejos en medio sólido

Entre otros métodos tenemos el amasado, molienda y calentamiento en contenedor sellado.

##### *1.4.3.2.1. Amasado*

Este método es uno de los más descritos en la bibliografía, consistente en la disolución del principio activo en un disolvente adecuado, volátil, en un mortero e ir añadiendo cantidades de CD paulatinamente, amasando la mezcla simultáneamente. El tiempo empleado para el amasado es variable, secándose en una estufa, evaporándose el disolvente y obteniendo finalmente el complejo sólido de inclusión.

La gran ventaja de este método es que obtenemos un muy alto rendimiento del proceso además de ser un método barato y sencillo muy apto para su uso a nivel industrial.

#### **1.4.4. Métodos de estudio del complejo de inclusión**

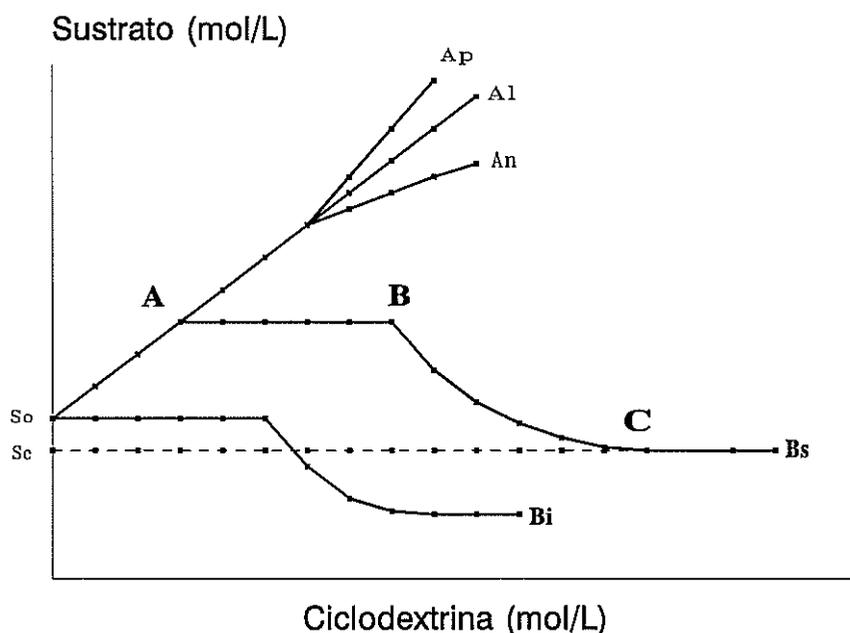
En el transcurso del proceso de formación del complejo de inclusión, se van a dar interacciones entre la molécula del plaguicida y la CD (que pueden ser de diferente naturaleza, hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, electrostáticas) y estas se producirán de manera independiente o en cooperación (Giordano y la Manna, 1991, Bekers et al., 1991). Estas interacciones pueden modificar las propiedades físico-químicas, siendo el estudio de estas interacciones lo que permitirá seguir la inclusión y determinar la naturaleza del complejo formado. Existen numerosos métodos de estudio de la complejación. Para su aplicación hay que tener en cuenta que los complejos formados pueden venir en estado sólido o líquido.

##### 1.4.4.1. Métodos de estudio de los complejos de inclusión en solución

Todos ellos se rigen por un mismo principio general. Se basa en el análisis, por un lado del plaguicida y de la CD independientemente y por otro, en el análisis del complejo formado. Las modificaciones observadas son las que nos hacen pensar en la posible formación del complejo de inclusión por interacciones entre sus moléculas.

##### *1.4.4.1.1. Estudio de la solubilidad*

El método que a continuación vamos a detallar fue el propuesto por Higuchi y Connors (Higuchi et al., 1965). Se basa en la observación del cambio de solubilidad que presenta un sustrato a lo largo de la adición del agente complejante. La molécula de sustrato se le irá añadiendo a soluciones, de concentraciones crecientes de CDs, bajo condiciones, de agitación y temperatura constantes. Tras dejarlo un tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio, se harán mediadas de las concentraciones de sustrato disueltos. Finalmente representaremos las concentraciones del sustrato disuelto frente a las concentraciones crecientes de CDs. Los diagramas de solubilidad obtenidos se clasifican en diferentes tipos:



*Figura 2.- Representación de los distintos tipos de diagramas de solubilidad existentes*

Tipo A: Si la solubilidad del complejo es ilimitada. Aparece un complejo soluble donde la concentración del sustrato aumenta con la concentración de la CD.

Las curvas del tipo A pertenecen a alguno de estos subtipos:

1.  $A_L$ : en este caso se trata de un complejo de inclusión con estequiometría 1:1.
  1.  $A_P$ : el complejo posee una estequiometría superior a la proporción 1:1.
  2.  $A_N$ : Este tipo de curvas son más difíciles de interpretar pues las interacciones soluto/soluto y solvente/soluto complican el sistema.

Tipo B: Si la solubilidad del complejo es limitada, es decir, que posee un límite de solubilidad a partir del cual precipita. Podemos encontrarlos con dos subtipos:

3.  $B_I$ : en este caso se forma el complejo de inclusión, pero este no es soluble, no existiendo mejora en la solubilidad de la molécula huésped.
4.  $B_S$ : el complejo se forma y nos aporta una mejora en la solubilidad del huésped, en el punto A la solubilidad alcanza su límite permaneciendo esta constante en el tramo de A hasta B hasta que todas las moléculas huésped forman un complejo insoluble, por la creciente adición de CD, precipitando en un complejo microcristalino.

Nota:  $S_c$ : solubilidad límite del complejo poco soluble.

$S_o$ : solubilidad de la molécula huésped.

$S_t$ : Concentración del soluto (libre+complejado).

Si el complejo responsable del aumento de solubilidad en la porción inicial del diagrama es el mismo que el que luego precipita, la cantidad de sustrato disuelta en el último punto de la curva  $B_S$  deberá ser igual a lo que se ha disuelto en la porción inicial del diagrama.

En caso contrario, se podría decir que se forman dos complejos distintos, uno responsable del aumento de solubilidad inicial y el otro que precipitaría.

En algunas ocasiones se ha podido observar un aumento de solubilidad a partir del punto C causado por la formación de un nuevo compuesto de inclusión.

El cálculo de la constante de estabilidad,  $K_c$ , para aquellos complejos para los cuales se les presupone una estequiometría de tipo 1:1, se realiza a partir de la pendiente de la curva  $A_L$  o bien de la pendiente de la porción inicial de la curva  $B_S$ , según la expresión:

$$K_{1:1} = \frac{\text{pendiente}}{S_0 (1 - \text{pendiente})}$$

$S_0$ : origen de ordenadas.

Otro de los datos que podemos obtener a partir del diagrama de solubilidad es la eficacia solubilizante, que se define como el aumento de solubilidad relativa del plaguicida observado a una determinada concentración de CD, a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Eficacia solubilizante: } S_{cd}/S_0$$

$S_{cd}$ : Concentración del soluto a una determinada concentración de CD

$S_0$ : Solubilidad del sustrato en ausencia de CD.

#### 1.4.4.2. Método de estudio de los complejos en estado sólido

Los complejos de inclusión se pueden obtener en estado sólido y, como tales pueden ser estudiados, por varios métodos analíticos, los cuales, serán descritos a continuación:

#### 1.4.4.2.1. *Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)*

Esta técnica se basa en la medida de la cantidad de calor absorbida o liberada por una muestra sometida a un programa de temperatura controlado (la temperatura aumenta linealmente con el tiempo). El equipo mide las diferencias entre la cantidad de calor de la muestra y un patrón de referencia, es decir, de cada muestra va a medir la cantidad de calor que el sistema necesita suministrar, al sistema, para mantener la muestra, a una temperatura constante. La comparación de los diagramas obtenidos, de la CD, plaguicida, mezcla física con el del supuesto complejo nos podrá aportar una información crucial para confirmar la formación del complejo de inclusión. (Corrigan y Stanley, 1982; Fujioka et al., 1983; Çelebi y Nagai, 1987; Nakai et al., 1987; Giordano et al., 1988; Lin et al., 1988; Vincieri et al., 1988; Kitamura et al., 1990; Blanco et al., 1991; Claudy et al., 1991; Green et al., 1991; Kawahara et al., 1992; Uekama et al., 1992).

#### 1.4.4.2.2. *Termogravimetría (TG)*

Esta técnica se basa en la variación de peso que experimenta una muestra, colocada bajo una atmósfera controlada, sometida a un programa de temperaturas, normalmente aumentando de manera lineal con el tiempo. Se trata de una técnica de gran utilidad en los casos en que el plaguicida presente procesos de descomposición por debajo de la temperatura de descomposición de las CDs (a partir de 250°C). Con esta técnica obtenemos una información menos completa que con DSC. En general se trata de una técnica muy útil a la hora de determinar la formación, posible, de compuestos de inclusión de una molécula huésped volátil (Nakai et al., 1991; Szafranek Szafranek, 1983; Nakai et al., 1988; Claudy et al., 1991).

#### 1.4.4.2.3. *Microscopía de Platina Caliente (HSM)*

Es una técnica con un uso no muy generalizado en el campo de las inclusiones con CDs, su uso es importante cuando se trata de un sustrato que presenta un punto de fusión superior al de las CDs, lo cual implica que los verdaderos compuestos de inclusión presenten un único efecto de fusión, tras el cual se obtiene un fluido homogéneo constituido por una sola fase correspondiente a dicho complejo.

Cuando el principio activo funde a menor temperatura que la CD, resulta difícil de detectar su cambio de estado visualmente, debido a que su porcentaje en peso en la mezcla suele ser minoritario respecto al de la CD.

Esta técnica puede ser interesante en el caso de que el producto de estudio presente características volátiles, pudiéndose llegar a estudiar su sublimado, recogido al aplicar la muestra sobre el producto. Muy recientemente, se ha aplicado esta técnica con éxito para poner en evidencia el proceso de transformación sólido-sólido que registra la  $\beta$ -CD. (Kohata et al., 1994; Bettinetti et al., 1994).

#### *1.4.4.2.4. Espectroscopía de infrarrojos (IR)*

Esta técnica junto con la difracción de Rayos X, es de las más empleadas para la determinación de la existencia de complejos de inclusión. Se basa en la detección de la formación del complejo, mediante desplazamientos y variaciones en la intensidad de las bandas características de los grupos funcionales de la molécula huésped, comparándolos con los de las sustancias participantes, por separado, y la mezcla física. Esto es debido a que las rotaciones/vibraciones de la sustancia huésped, en el interior de la cavidad de la CD, se encuentran restringidas. (Uekama et al., 1983; Vila-Jato et al., 1987; Erden y Çelebi, 1988; Ghandi y Karara, 1988; Giordano et al., 1988; Glomot et al., 1988; Szejtli, 1988; Lin, 1990).

#### *1.4.4.2.5. Difracción de Rayos X*

Esta técnica resulta muy útil para el estudio de la formación de complejos de inclusión en estado sólido (polvos). Se basa en que cada sustancia posee un patrón de difracción característico. El patrón de difracción del complejo de inclusión se distingue claramente del espectro de la mezcla física de ambos componentes. Un dato también importante es que vamos a poder determinar el grado de cristalinidad de la muestra (Gelb et al., 1978; Sekikawa et al., 1983; Uekama et al., 1984; Si-Nang et al., 1989; Anguiano-Igea et al., 1992; Liu et al., 1992; Shangraw et al., 1992). Por otra la técnica de Rayos X se muestra como una poderosa herramienta para la realización de un estudio profundo tanto de la estructura como de la conformación del compuesto de inclusión formado (simetría, sistema de cristalización, constantes de la celda unidad,....etc). Los inconvenientes de la

técnica se basan en que, además de ser una técnica laboriosa, necesitamos de una muestra pura con un tamaño adecuado, para realizar su estudio.

### **1.5. APLICACIÓN DE LAS CDs EN EL CAMPO DE LOS PLAGUICIDAS**

La encapsulación molecular mediante el empleo de CDs, presenta numerosas ventajas dentro del campo de los plaguicidas, las más significativas son las siguientes.

1. Conllevan un aumento de la solubilidad en agua del plaguicida, lo cual implica una más rápida y fácil liberación del plaguicida del suelo donde se encuentra. Este hecho también nos lleva a la reducción en el uso de disolventes orgánicos (la mayoría de las moléculas de plaguicida son compuestos apolares, hidrófobos) que a su vez reduce la contaminación por estos, además de suponer un ahorro desde el punto de vista económico.
2. Disminuyen la pérdida por volatilización, lo cual supone un menor riesgo para la salud pública, pudiéndose utilizar para aquellos plaguicidas fácilmente sublimables o que sean líquidos volátiles, para así conseguir reducir su pérdida.
3. Disminuyen la de plaguicidas mediante su encapsulación, lo que permite que estas sustancias puedan ser más estables y puedan ser usadas a medio y largo plazo.
4. En algunos casos logran suprimir la cualidades organolépticas de este tipo de sustancias, como el mal olor de los mismos.
5. A partir de estas encapsulaciones podemos llegar a conseguir una liberación controlada de estos plaguicidas.
6. Debido al aumento de la solubilidad que provoca este tipo de encapsulaciones podemos conseguir su liberación, por acción de la lluvia, justo en el momento en el cual debe actuar.
7. Las CDs también poseen un efecto directo sobre las plantas influyendo en su germinación. Además presentan un efecto auxina en determinadas plantas y por último decir que, poseen un efecto antídoto de algunas sustancias fitotóxicas.

Dentro de las desventajas de su uso, podemos destacar dos de ellas:

1. Su elevado coste que hace que prácticamente sea viable el uso en el caso de la  $\beta$ -CD.

El aumento de la solubilidad y de la capacidad de absorción del plaguicida encapsulado, trae como consecuencia una aceleración de la eliminación del plaguicida por la lluvia.

## ***OBJETIVOS***

## **2. OBJETIVOS**

Las plantas suponen la principal fuente de alimentos en el mundo. Las plantas son susceptibles de aproximadamente unas 100.000 enfermedades, causadas por una amplia variedad de agentes. Se estima que una tercera parte de los cultivos de alimentos son devastados por estas plagas. El uso de plaguicidas se convierte así en algo totalmente imprescindible. (Jacobson M. 1975).

En base a esto, este trabajo de investigación, pretende contribuir a una mejora en el uso de estos plaguicidas alcanzándose un uso más racional de los mismos, mejorando las condiciones en su administración convencional.

La elección de este plaguicida, norflurazon, se ha hecho en base a las siguientes premisas:

El norflurazon, es un herbicida, ampliamente utilizado en una gran variedad de tipos de cultivos, siendo un plaguicida de enorme interés a nivel mundial, ampliamente estudiado y con numerosas publicaciones sobre su comportamiento y características fisico-químicas. Presenta una serie de limitaciones en su uso debidas a su baja solubilidad y pobre velocidad de disolución. Con la encapsulación molecular con CDs pretendemos reducir esos problemas que presenta.

El primer objetivo que se planteará será el de conseguir una técnica útil, eficaz y barata para la obtención de los complejos de inclusión. Después se hará una caracterización fisico-química de los mismos. Nuestros trabajos partirán del cálculo de dos factores fundamentales, como son la constante de estabilidad y la determinación de la estequiometría de dicho complejo, imprescindible para la preparación del mismo.

Seguidamente los estudios de caracterización de las sustancias obtenidas van a permitir por una parte el conocimiento más exhaustivo del proceso de disolución y los factores que sobre el inciden, así como la confirmación de la consecución del complejo, evaluando el grado de interacción entre los productos del sistema binario.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

Por último se abordarán los estudios de interacción entre el herbicida y los suelos. Este trabajo de investigación constituye el inicio de un proyecto más amplio cuya finalidad radica en la utilización práctica de estos sistemas, que abaratarían los costes de la formulación del herbicida y disminuirían el impacto medioambiental que su administración produce en nuestro ecosistema.

## ***EXPERIMENTAL***

### **3. EXPERIMENTAL**

#### **3.1. MATERIALES**

##### **3.1.1. Plaguicida**

El plaguicida fue cedido por Laboratorios Novartis (compuesto para investigación con una pureza del 97.8%).

##### **3.1.2. CDs**

En nuestro caso concreto, debido a su elevado peso molecular y tamaño, decidimos probar directamente con las CDs naturales ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -CD).

Las sustancias empleadas provenían de:

- Rindex (F-París) la  $\alpha$ -CD
- Roquette (F-Lestrem) la  $\beta$ -CD
- Cyclolab (H-Budapest) la  $\gamma$ -CD

##### **3.1.3. Reactivos HPLC**

Acetonitrilo 200 far UV ROMIL

##### **3.1.4. Suelos**

Para la realización de los estudios de investigación se usaron cinco suelos con distintas características, todos ellos tomados del horizonte superficial (0-25 cm).

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

*Tabla 2. Características de los suelos Coria 2000, Tomejil, strichen, Alájar, SR y P-27.*

	<b>CORIA</b>	<b>TOMEJIL</b>	<b>STRICHEN</b>	<b>SR</b>	<b>P-27</b>	<b>ALÁJAR</b>
<b>PH</b>	<b>8.0</b>	<b>8.0</b>	<b>5.8</b>	<b>6.5</b>	<b>5.7</b>	<b>7.8</b>
<b>CaCO<sub>3</sub> (%)</b>	<b>6.9</b>	<b>24.1</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
<b>Materia orgánica (%)</b>	<b>0.92</b>	<b>1.76</b>	<b>5.34</b>	<b>0.51</b>	<b>1.38</b>	<b>1.38</b>
<b>Arena (%)</b>	<b>87.6</b>	<b>2.70</b>	<b>61.10</b>	<b>92.80</b>	<b>56.7</b>	<b>16.40</b>
<b>Limo (%)</b>	<b>4.0</b>	<b>31.5</b>	<b>29.0</b>	<b>4.4</b>	<b>23.8</b>	<b>61.2</b>
<b>Contenido en arcilla (%)</b>	<b>8.4</b>	<b>65.9</b>	<b>9.8</b>	<b>2.5</b>	<b>19.5</b>	<b>22.6</b>

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

*Tablas 3. Elementos mayoritarios y minoritarios de los suelos Coria, Tomejil, Strichen, Alájar, SR y P-27.*

**ELEMENTOS MAYORITARIOS (%)**

	<b>CORIA</b>	<b>TOMEJIL</b>	<b>STRICHEN</b>	<b>P-27</b>	<b>SR</b>	<b>ALÁJAR</b>
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>5.32</b>	<b>11.64</b>	<b>15.26</b>	<b>7.52</b>	<b>2.37</b>	<b>16.87</b>
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>1.14</b>	<b>4.39</b>	<b>6.69</b>	<b>1.83</b>	<b>0.83</b>	<b>25.1</b>
<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>0.16</b>	<b>0.57</b>	<b>0.72</b>	<b>0.29</b>	<b>0.43</b>	<b>0.83</b>
<b>MgO</b>	<b>0.41</b>	<b>1.37</b>	<b>0.63</b>	<b>0.27</b>	<b>0.05</b>	<b>3.43</b>
<b>CaO</b>	<b>2.98</b>	<b>12.85</b>	<b>0.26</b>	<b>0.89</b>	<b>0.10</b>	<b>0.85</b>
<b>Na<sub>2</sub>O</b>	<b>0.58</b>	<b>0.38</b>	<b>1.84</b>	<b>1.93</b>	<b>0.39</b>	<b>0.2</b>
<b>SiO<sub>2</sub></b>	<b>82.7</b>	<b>67.27</b>	<b>61.50</b>	<b>82.2</b>	<b>93.06</b>	<b>1.7</b>

*ELEMENTOS MINORITARIOS (mg/L)*

	CORIA	TOMEJIL	STRICHEN	P-27	SR	ALÁJAR
Ni	6.92	43.00	44	1.22	11.4	82
Zn	20.19	61.4	49	26.82	23.2	863
Cu	12.99	24.00	36	17.19	4.1	77.3
Co	6.60	33.20	27	7.71	1.8	63.6
Pb	35.19	N.D.	46	33.53	13.9	1777.0
Cr	18.28	N.D.	54	n.d.	n.d	74

n.d.: No detectado.

### 3.2. MÉTODOS

#### 3.2.1. Valoración del plaguicida

Para la valoración del plaguicida utilizamos un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución, HPLC (Shimadzu sil-6B), empleando las siguientes condiciones:

Fase: 60:40; Acetonitrilo:agua

Flujo: 0.6 mL/min

Detector: Fluorescencia

$\lambda_{ex}$ : 310 nm

$\lambda_{em}$ : 405 nm

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

Columna: Hypersil ods 5  $\mu$ m 15x0.4

### 3.2.2. Valoración de la clorofila

Para la valoración de la clorofila de las plantas usamos un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda EZ210, empleando las siguientes condiciones:

$\lambda$ : 664 y 647 nm

Volumen de muestra: 1.2 mL

Máximo valor de absorbancia: 1.2

### 3.2.3. Determinaciones analíticas para la determinación de suelos

Antes de proceder a los diferentes ensayos, las muestras de suelo se secaron al aire a temperatura ambiente, se separaron las piedras y se rompieron los agregados con un rodillo. Las muestras así preparadas se pasaron por un tamiz con luz de malla de 2 mm.

Para los diferentes ensayos se tomaron alícuotas representativas, siguiendo el método del “cuarteado” y para aquellos ensayos con necesidad de un mayor grado de subdivisión se molieron en mortero de ágata.

#### *a) Análisis químico de los suelos.*

Se realizó el análisis químico del suelo total, para lo cual, las muestras se sometieron a una disgregación triácida con ácido fluorhídrico, ácido nítrico y ácido perclórico siguiendo la metodología propuesta por Bennet y col. (1962) con ligeras variantes (Pérez Rodríguez y col., 1990). Por este procedimiento se evapora la sílice como SiF<sub>4</sub>.

Para la disgregación se partió de 1.25 g de muestra seca y molida finamente en mortero de ágata que se colocaron en una cápsula de teflón a la que se le añadieron 10 ml de ácido nítrico 1:1 y 10 ml de ácido perclórico 1:1, dejándola en reposo durante 15 minutos. Al cabo de los cuales, se adicionaron 20 ml de ácido fluorhídrico y se evaporó a sequedad. Este tratamiento se repitió con ácidos nítrico y perclórico llevándola a sequedad hasta la desaparición total de humos blancos. Finalmente, una vez frío, se humedeció añadiéndose 3 ml de ácido clorhídrico concentrado y se calentó suavemente hasta disolución total de la muestra. Una vez fría, se filtró y se enrasó hasta 50 ml.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

A partir de esta disolución base se tomaron diferentes diluciones, acordes con las concentraciones de los elementos en la muestra.

Para determinar el contenido de sílice se realizaron las fusiones de las muestras en un autoclave de teflón con una mezcla de ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico y ácidos nítrico a 140°C durante 1 hora. Una vez fría se le agregaron 5 g de ácido ortobórico sólido y 100 ml de agua destilada, colocándose en una estufa a 80°C hasta su disolución completa. Dejada a temperatura ambiente se enrasó en un matraz de plástico ya que los matraces de vidrio se atacan parcialmente .

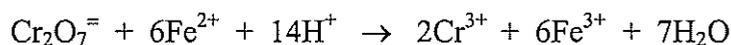
Las concentraciones de los elementos se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica para el Si, Al, Fe, Ti, Ca y Mg, así como para los elementos minoritarios Mn, Cu, Ni, Co, Pb, Cd, Cr, Zn, y por fotometría de llama para los elementos Na y K.

Para los elementos mayoritarios, los resultados se expresan en porcentajes de óxidos respecto a la muestra seca, y para los minoritarios, en mg/L.

Para la determinación de la humedad y las pérdidas por calcinación se partió de 1g de muestras finamente molida, por duplicado colocándolas en dos crisoles de porcelana y estos dentro de una estufa a 110°C durante 24 horas, transcurrido este tiempo se pesan las muestras y posteriormente se introducen en un horno a 1100°C durante 45 minutos, y se vuelven a pesar. Los resultados se dan por diferencia de pesos y en tanto por ciento.

*b) Determinación del carbono orgánico total.*

Existen más de un método para determinar el carbono orgánico total de un suelo. El método seguido ha sido el basado en la técnica descrita por Walkley y Black (1934), que consiste en la oxidación de la materia orgánica con dicromato potásico ( $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) en presencia de ácido sulfúrico y posterior valoración del dicromato no reducido con sal de Mohr (valoración por retroceso), según la reacción:



Para ello se tomaron 2 g de muestra de suelo, finamente pulverizada y secada en una estufa a 60°C durante toda la noche. La muestra una vez pesada se introdujo en un matraz erlenmeyer de 500 ml y se le agregaron 10 ml  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  1 N,

### *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

sometiéndose posteriormente a agitación suave hasta que todo el suelo se hubo empapado de esta solución. A continuación se agregaron 20 ml de ácido sulfúrico concentrado con agitación suave durante treinta segundos, al cabo de los cuales se dejó en reposo durante treinta minutos. Después se añadieron 200 ml de agua desmineralizada y se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadieron 10 ml de ácido fosfórico concentrado seguido de 1 ml de solución de difenilamina (2.5 g de producto disuelto en 20 ml de agua y 100 ml de ácido sulfúrico concentrado). Nuevamente se enfrió hasta temperatura ambiente e inmediatamente se procedió a valorar el exceso de dicromato no reducido mediante solución de sal de Mohr 0.5 N.

#### *c) Determinación del nitrógeno.*

Para la determinación del nitrógeno orgánico de las muestras de suelo, se utilizó el método Kjeldahl, basado en la utilización de una mezcla de selenio, sulfato de cobre como catalizadores de la reacción y sulfato potásico como enaltecedor del punto de ebullición de la mezcla de digestión, transformando el nitrógeno orgánico en sulfato amónico. Para ello, 1 g de muestra finamente pulverizado y secado en estufa a 60°C durante toda la noche, se introdujo en un matraz Kjeldahl, seguido de 1.5 g de mezcla catalizadora y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, agitándose suavemente el matraz hasta que el ácido mojó perfectamente todo el contenido. Se calentó para efectuar la digestión, elevando la temperatura poco a poco hasta que el líquido tomó un color claro. A partir de este momento, se mantuvo la mezcla en ebullición durante treinta minutos más, al cabo de los cuales se dio por terminada la mineralización. Una vez frío el mineralizado, se procedió a la destilación y valoración del amoníaco utilizando el aparato de Bouat. Previamente, al mineralizado se le añadieron 10 ml de agua poco a poco y agitando, llevando el contenido a un matraz aforado de 50 ml y lavando con varias porciones de agua. Se tomaron 20 ml del mineralizado y en el matraz de destilación se le agregaron 3 g, aproximadamente, de hidróxido sódico en lentejas, acoplándose inmediatamente al aparato que por calentamiento directo comenzó a destilar. Dicho destilado se valoró con ácido sulfúrico 0.005 N usando el indicador Shiro-Tashiro. (Un mililitro de ácido sulfúrico 0.005 N gastado corresponde a 0.175 mg de nitrógeno).

*d) Determinación de la materia orgánica y relación C/N.*

El conocimiento de la materia orgánica en el suelo es de gran interés, pero es también importante conocer cual es el estado de dicha materia orgánica y, sobre todo, su grado de humificación. La relación C/N es un buen índice para juzgar la actividad global del humus.

Suponiendo que la materia orgánica contiene el 58% de C, se ha utilizado 1.724 como factor de conversión de carbono orgánico total a materia orgánica, de acuerdo con Jackson (1982).

*e) Determinación del pH.*

Se siguió el método propuesto por Guitian y Carballas (1976), mediante la medida en pasta saturada de muestra en agua. Para ello un vaso de 50 ml de capacidad, se llenó de muestra hasta las 3/4 partes y se añadieron cantidades sucesivas de agua desmineralizada hasta obtener una pasta espesa. Sin agitar y dejando que el suelo se humedezca por capilaridad se siguió agregando agua hasta que un orificio hecho en el centro con una varilla se cierra lentamente. Se dejó reposar durante treinta minutos, transcurridos los cuales se hizo la medida potenciométrica con electrodo de vidrio.

### **3.2.4. Técnicas de elaboración de complejos**

La preparación de los complejos se llevó a cabo por distintos métodos, tanto en solución (atomizado, rotavapor y liofilizado), como en estado sólido (amasado).

Por otra parte se prepararon mezclas físicas mediante simple mezcla mecánica de la norflurazona con las CDs bajo estudio, las cuales nos servirán como muestras de referencia.

#### **3.2.4.1. Atomizado**

Fue realizado en un Büchi 190M mini spray-Dryer . Para esto, el herbicida norflurazon, fue disuelto en 400 mL de Etanol (96% v/v) y la CD en 200 mL de agua destilada, ambos compuestos fueron añadidos en cantidades estequiométricas. Posteriormente las soluciones fueron mezcladas y agitadas en ultrasonido, durante 15 minutos, hasta obtener una disolución de aspecto

## *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

translúcido, la cual fue llevada al atomizador, siendo sometida al atomizado. Las condiciones del proceso fueron las siguientes: flujo, 10 mL/s, temperatura de entrada: 157 °C, temperatura de salida: 90 °C, flujo del aire: 400 NL/h.

### 3.2.4.2. Rotavapor

Se hizo una mezcla hidroalcohólica entre la CD y el herbicida, disolviendo al plaguicida en el disolvente orgánico etanol (96%) y la CD en agua destilada en la relación estequiométrica. La mezcla fue llevada posteriormente a agitación en ultrasonido durante 15 minutos, para después ser tratada en un aparato de rotavapor-R (Büchi), hasta llevar la muestra a sequedad. Después de recogido el polvo lo dejamos a secar en la estufa durante 24 horas a 37°C.

### 3.2.4.3. Amasado

Cantidades estequiométricas de norflurazona y CD fueron pesadas y mezcladas juntas en un mortero, siendo posteriormente sometidas a un proceso de amasado durante 45 minutos. Durante este proceso una cantidad apropiada de etanol fue adicionada a la mezcla con el fin de mantener una consistencia adecuada.

En todos los casos el producto sólido obtenido fue lavado con 20 mL de etanol frío y posteriormente secado en estufa, a 37 °C, durante 24 horas, con el fin de eliminar la norflurazona no complejada.

## 3.2.5. **Estudio de los complejos**

### 3.2.5.1. Estudios en estado líquido

#### 3.2.5.1.1. *Estudios de solubilidad*

Los estudios de solubilidad se llevaron a cabo de acuerdo con el método descrito por Higuchi y Connors. Por un lado, el herbicida fue añadido en cantidades que exceden de su teórica solubilidad a 25 °C (28 ppm), es decir, 5 mg en 10 mL, sobre la solución de CD, en distintas concentraciones crecientes de la misma (desde  $0-1.2 \cdot 10^{-2}$  M para la  $\beta$ -CD y de  $0-0.1$  M para  $\alpha$  y  $\gamma$ -CD). Para eliminar cualquier posible interacción en estado sólido se adicionó el principio activo cuando las CDs se encontraban completamente disueltas. El ensayo se hizo en matraces aforados de 25 mL, los cuales se pusieron en agitación, a 25 °C, durante una semana (tiempo estimado para el alcance del equilibrio). Entonces las

### *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

muestras así obtenidas fueron filtradas por inyección a través de un filtro de membrana de celulosa, Millipore de 0.22  $\mu\text{m}$ . La porción de muestra así obtenida fue analizada mediante HPLC.

Los resultados así obtenidos fueron representados para obtener el diagrama de solubilidad, con las cantidades de herbicida disueltas frente a las cantidades crecientes de CD empleadas.

Por último se procedió a la determinación de las constantes de estabilidad ( $K_c$ ), las eficacias solubilizantes y la estequiometría para los distintos complejos obtenidos a partir de las distintas CDs naturales. Estas constantes fueron obtenidas mediante la ecuación propuesta por Higuchi y Connors:

$$K_{1:1} = \frac{\text{pendiente}}{S_0 (1 - \text{pendiente})}$$

#### *3.2.5.1.2. Estudios de velocidad de disolución*

Los estudios de velocidad de disolución se realizaron según la técnica recogida en la USP XXV, usando un aparato modelo Turu Grau D-6, equipado con un sistema de palas. El medio de disolución fue agua desionizada (1000 mL), la velocidad de rotación fue de 50 rpm y la temperatura de  $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . La cantidad de muestra analizada fue de 5 mg, para el norflurazon, dicha cantidad no pudo ser superior debido a la dificultad para disolverse del plaguicida, usando cantidades equivalentes en norflurazona para los sistemas binarios.

Fueron tomadas del medio de disolución alícuotas de 1 mL a intervalos de tiempo previamente establecidos (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, minutos) para posteriormente medirlos en HPLC.

Una vez representados los perfiles de liberación del plaguicida, se procedió a la determinación de una serie de parámetros que nos dan información sobre el proceso de disolución. Estos fueron la eficacia de disolución (DE) y el porcentaje de plaguicida disuelto (DP) a distintos tiempos. El cálculo de la DE se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$ED = \int_0^t \frac{M}{M_t} dt \quad (2)$$

### 3.2.5.2. Estudios en estado sólido

#### 3.2.5.2.1. *Calorimetría diferencial de barrido (DSC)*

Estos estudios fueron realizados empleando un aparato Mettler, compuesto por un horno FP85, una unidad de control de la temperatura FP80 HT y software de control FP89 HT. 10 mg de cada muestra fueron llevadas a crisoles de aluminio, sellados y agujereados posteriormente, para así poder permitir la salida del gas que se pudiera producir durante el proceso de calentamiento. Este análisis térmico se llevó a cabo bajo una atmósfera de aire estática, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, en un intervalo máximo de temperaturas de 40 a 280 °C.

#### 3.2.5.2.2. *Espectroscopía de Infrarrojos (IR)*

Los espectros de Infrarrojos se realizaron en un aparato *Nicolet 510-P*, mediante Transformada de Fourier, de las materias primas por separado y de los sistemas binarios preparados. El intervalo del número de ondas fue desde 250 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , con 32 barridos por espectro y una resolución de espectro de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Las muestras fueron preparadas en pastillas de BrK con 1 mg de muestra y 100 mg de BrK.

#### 3.2.5.2.3. *Difracción de Rayos X*

Los difractogramas fueron obtenidos, de las sustancias puras y de los distintos sistemas binarios preparados, utilizando un aparato Siemens modelo Kristallflex D5000, equipado con contador de centelleo, la radiación empleada fue la de  $\text{Cu } \alpha$  con filtro de níquel. Se trabajó a 36 Kv y 26 mA, la velocidad de barrido fue de 1°/min, una velocidad de carta de 1 cm/min y sensibilidad adecuada, generalmente  $2 \cdot 10^4$  cps.

### **3.2.6. Estudios de interacción herbicida-suelo**

#### **3.2.6.1. Cinéticas de adsorción**

Las cinéticas de adsorción se realizaron para determinar el tiempo de contacto necesario entre los suelos y las soluciones de plaguicidas hasta obtener una concentración de equilibrio constante. Para ello, se tomaron 5g de cada uno de los suelos y se pusieron en contacto con 10 mL de disolución de herbicida de distintas concentraciones, en medio  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0.01 M para mantener la fuerza iónica constante, y se agitaron durante los 1, 2, 3 y 6 días. Después, las suspensiones se centrifugaron y se midió la concentración final de la disolución de herbicida en el sobrenadante. La cantidad adsorbida se calculó por diferencia entre las concentraciones inicial y final. La curva de la cinética de adsorción se obtiene representando la cantidad total adsorbida frente al tiempo de contacto. En todos los casos el tiempo necesario para obtener una concentración de equilibrio fue de 24 horas.

Para estudiar como afecta la formación de complejos norflurazon-CDs a la interacción del plaguicida con suelos, se han realizado ensayos de adsorción-desorción en tubos de centrifuga (Bath), ensayos de movilidad empleando columnas de suelo y por último se hicieron bioensayos para poder comprobar el verdadero efecto del herbicida sobre la planta.

#### **3.2.6.2. Isotermas de adsorción-desorción**

Las isotermas de *adsorción* sobre los suelos seleccionados se realizaron mezclando 10 g del mismo con 20 mL de soluciones de norflurazona comprendidas entre 0 y 20 mg/L, (en medio 0.01 M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ). Las suspensiones fueron agitadas en tubos de centrifuga de 50 mL, a una temperatura constante de 25 °C durante 24 horas. Todas las experiencias se realizaron por triplicado. Posteriormente las suspensiones fueron centrifugadas y en el sobrenadante se midió la cantidad de norflurazona que no se había adsorbido. Las isotermas de adsorción se obtuvieron representando la cantidad adsorbida por el suelo, expresada en  $\mu\text{mol}$  de norflurazona adsorbida por kilogramo de suelo ( $\mu\text{mol}/\text{Kg}$ ), frente a las correspondientes concentraciones de equilibrio ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ ).

## *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

Las curvas de las isothermas de adsorción han sido ajustadas a la ecuación de tipo logarítmica, conocida como la ecuación de Freundlich:

$$C_s = K_f C_e^n$$

Donde:

$C_s$  ( $\mu\text{mol/Kg}$ ) – cantidad de plaguicida adsorbido por kilogramo de suelo

$C_e$  ( $\mu\text{mol/L}$ ) – concentración de plaguicida en el equilibrio

$K_f$  – expresa la cantidad de plaguicida adsorbido cuando la concentración de equilibrio es la unidad.

$n$  – es el parámetro que indica la intensidad de la adsorción y representa la linealidad de la adsorción.

Un parámetro importante para determinar la relación entre la adsorción del plaguicida en el suelo con la materia orgánica del mismo es la  $K_{foc}$ , que se obtiene por la siguiente fórmula:

$$K_{foc} = (K_f / \% \text{ Carbono orgánico}) \times 100$$

Las isothermas de *desorción* se llevaron a cabo reemplazando la mitad del sobrenadante de los tubos de centrífuga, una vez que el equilibrio de adsorción se había alcanzado, por 10 mL de solución 0.01 M de  $\text{KNO}_3$  para el blanco, y de concentración 0.01 M para las CDs. Las suspensiones se dejaron equilibrar durante otras 24 horas más, en las mismas condiciones anteriores, y posteriormente se volvió a retirar la mitad del sobrenadante en el que se determinó espectrofotométricamente la concentración del plaguicida. Este proceso se repitió hasta un total de tres veces.

### 3.2.6.3. Columnas de suelos

Los ensayos en *columnas* (6 tubos de policloruro de vinilo uno superior de 10 cm y los 5 restantes de 4 cm) homogéneas de suelo fueron realizados mediante una previa determinación del volumen de poro ( $V_p$ ), que es la diferencia de peso entre la columna con el suelo mojado y el suelo seco partido por la densidad del agua ( $\rho=1 \text{ g/cm}^3$ ). Los volúmenes de poro obtenidos fueron:

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

<u>Suelo</u>	<u>Peso seco (g)</u>	<u>Peso mojado (g)</u>	<u>Vp (mL)</u>
ALÁJAR	384.65	472.71	88.06
CORIA 2000	439.42	496.89	57.47
SR	495.88	536.91	41.03

Se adiciona un volumen de agua destilada igual al volumen de poro correspondiente a cada suelo, para mojarlo. A continuación se le añadió un volumen de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  igual a 5 veces el volumen de poro, para acondicionar las columnas.

Después de la solución de electrolito se pasó un volumen de 14 mL de una solución de 20 ppm de norflurazona en cada columna. Inmediatamente después se pasó solución 0.01 M de  $\text{KNO}_3$  o solución  $5 \cdot 10^{-3}$  M de  $\beta$ -CD.

Posteriormente se recogerán las muestras diariamente (adicionando 25 mL de agua mili Q), en un matraz de 25 mL, enrasando el mismo y así hasta que deje de salir plaguicida de la columna de suelo. Finalmente las muestras fueron medidas espectrofotométricamente por HPLC.

### 3.2.6.3. Bioensayos

La realización de los *bioensayos* consistieron en la siembra de semillas de soja en el suelo procedente de las columnas, además de la siembra de un blanco constituido por suelo por el que no ha pasado norflurazon. Las plantas se regaron y se dejaron crecer durante una semana aproximadamente.

Finalmente, se procedió a la determinación de la clorofila en las plantas, para así poder determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento para las mismas. El procedimiento consistió en cortar las plantas de soja a ras de suelo anotándose el peso de las plantas correspondiente a cada vaso o anillo. Los tallos se cortaron en trozos pequeños y se colocaron en viales de vidrio añadiéndose 4 mL de dimetilformamida para conseguir que la clorofila contenida en la planta pase a la solución para después medirla. Previamente se pasan por nitrógeno gaseoso para que no se oxide la clorofila que ha sido liberada. Por último se dejaron durante 48

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

horas en una cámara frigorífica y protegidos de la luz, determinándose la clorofila espectrofotométricamente por absorbancia.

3.2.6.4. Fotodegradación

Los estudios de *fotodegradación* se han llevado a cabo con un fotoreactor SUNTEST de Heraeus equipado con una lámpara de xenon y un filtro permanente seleccionando longitudes de onda superiores a 290 nm, con objeto de simular el espectro de emisión de la radiación solar. La energía de la lámpara era de 500 W/m<sup>2</sup> y la superficie total de exposición del aparato de 500 cm<sup>2</sup>.

Una disolución acuosa (200 mL) de norflurazona 20 ppm fue irradiada, con agitación, en matraces de cuarzo de 500 mL durante 7 horas. La misma experiencia se repitió en presencia (en suspensión) de 10 g de suelo y de 20 mg de: arcilla de wayoming, goetita sintética y ácidos húmicos.

El descenso en la concentración de norflurazona durante los experimentos de fotólisis, fue determinado por HPLC en las condiciones anteriormente descritas.

## *RESULTADOS Y DISCUSIÓN*

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al comenzar el proceso experimental se planteó la necesidad de realizar la elección racional de la CD, que por sus distintas características tanto físicas como químicas y económicas se adecuara de la manera más satisfactoria posible al principio activo o plaguicida en cuestión. Dado que la molécula del plaguicida, norflurazon, posee un peso molecular más bien elevado (303,7) se planteó la posibilidad del uso de dos CDs naturales con los mayores diámetros de cavidad interna, como son la  $\beta$ - y la  $\gamma$ -CD. Dado que la solubilidad en agua de la  $\beta$ -CD es inferior a la de  $\gamma$ -CD y además su coste es menor, se supuso que proporcionaría una mayor viabilidad del proyecto así como una aplicación práctica del mismo que es lo que al fin y al cabo se pretende.

Se realizó un ensayo de solubilidad usando las tres CDs naturales con el norflurazon, para obtener un dato experimental que apoyará la decisión. Este ensayo dio como resultado una mayor constante de estabilidad para la  $\beta$ -CD, obteniéndose un complejo de inclusión muy estable y con una estequiometría (R) claramente definida de 1:1, y esto unido a su diámetro de cavidad interna y a su bajo coste económico dio lugar a la elección de la  $\beta$ -CD para llevar a cabo el proyecto. A continuación se desarrollarán todos los pasos seguidos en el estudio de la formación del complejo de inclusión entre la  $\beta$ -CD y el plaguicida.

### **4.1. ESTUDIOS EN ESTADO LÍQUIDO**

#### **4.1.1. Diagramas de solubilidad de fases**

Para poder abordar el estudio de la interacción entre cualquier principio activo con las CDs, en primer lugar hay que realizar el estudio de su estequiometría, paso fundamental para la preparación posterior de mezclas previas de ambas sustancias y la obtención de los complejos. En las figuras 1, 2 y 3 se muestran los diagramas de solubilidad de norflurazona en presencia de  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ - CD respectivamente.

Observando los tres diagramas de solubilidad correspondientes a las tres CDs estudiadas se aprecia un aumento lineal de la solubilidad del plaguicida a medida que se aumenta la concentración de las CDs, clasificándose estas curvas como del tipo  $A_L$  de Higuchi y Connors [Higuchi y Connors, 1965]. En todos los casos, los complejos formados en solución no poseen un límite de solubilidad definido, hallándose estos disueltos en su

## *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

totalidad. Debido que el tipo de diagrama obtenido presenta una pendiente  $<1$ , se asume que los complejos presentarán una estequiometría (R) 1:1 en solución.

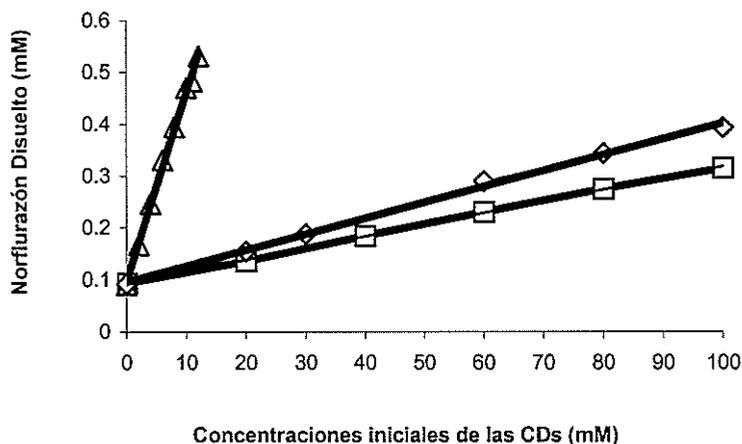


Figura 3. Ensayos de solubilidad:  $\square$   $\alpha$ -CD;  $\Delta$   $\beta$ -CD;  $\diamond$   $\gamma$ -CD.

Las constantes de formación aparente ( $K_c$ ) fueron calculadas siguiendo el método descrito en el apartado anterior de la presente memoria.

El estudio comparado de las constantes de complejación nos muestra, que entre las diferentes CDs empleadas, la que conduce a una mayor constante de complejación es la  $\beta$ -CD. Estos resultados nos indican una acomodación óptima de la molécula de norflurazona en la cavidad de la  $\beta$ -CD, pudiéndose destacar el alto valor de la eficacia solubilizante de la misma, consiguiéndose un aumento de la solubilidad del plaguicida en agua de casi seis veces.

Es de destacar que el tamaño de la cavidad de la CD es determinante para la efectividad del proceso de complejación, obteniéndose una constante de estabilidad mayor para la  $\beta$ -CD ( $377.75 \text{ M}^{-1}$ ) así como de la eficacia solubilizante (ES).

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

Tabla 4. *Estequiometría y diferentes parámetros obtenidos a partir del ensayo de solubilidad*

	ES <sub>0.1M</sub>	r	K <sub>c</sub>	R
$\alpha$ -CD	2.569	0.9992	38.42	1:1
$\beta$ -CD	5.198	0.9964	360.00	1:1
$\gamma$ -CD	3.265	0.9967	51.82	1:1

r: coeficiente de correlación

Por otra parte, es de destacar que debido al mayor diámetro interno de la cavidad de la  $\gamma$ -CD provocaría un proceso fácil tanto de entrada como de salida de la molécula huésped de la cavidad. Por el contrario, en el caso de la  $\alpha$ -CD, su reducida cavidad, dificultaría la entrada de la molécula conduciendo igualmente a una baja K<sub>c</sub>. Con estos resultados se pone de evidencia la relación entre la constante de estabilidad del complejo en solución con el mayor o menor impedimento estérico que pudiera ofrecer la CD.

## 4.2. ESTUDIOS EN ESTADO SÓLIDO

### 4.2.1. Calorimetría diferencial de barrido

En primer lugar observamos, en el diagrama de la norflurazona (figura 4, b), la aparición de un pico correspondiente al punto de fusión del plaguicida el cual, según la bibliografía se encuentra entre 174-180 °C. En segundo lugar, observando el diagrama de la  $\beta$ -CD (figura 4, a), detectamos un importante efecto endotérmico correspondiente a la deshidratación de la CD que aparece entre 60-150 °C.

En el termograma de la mezcla física podemos observar como aparecen los efectos endotérmicos tanto de la  $\beta$ -CD como del norflurazon.

El sistema elaborado por amasado presenta una disminución en la entalpía de fusión ( $\Delta H_f$ ) del pico correspondiente al norflurazon, comparándolo con la mezcla física (ver tabla 4). Se observa un efecto exotérmico a

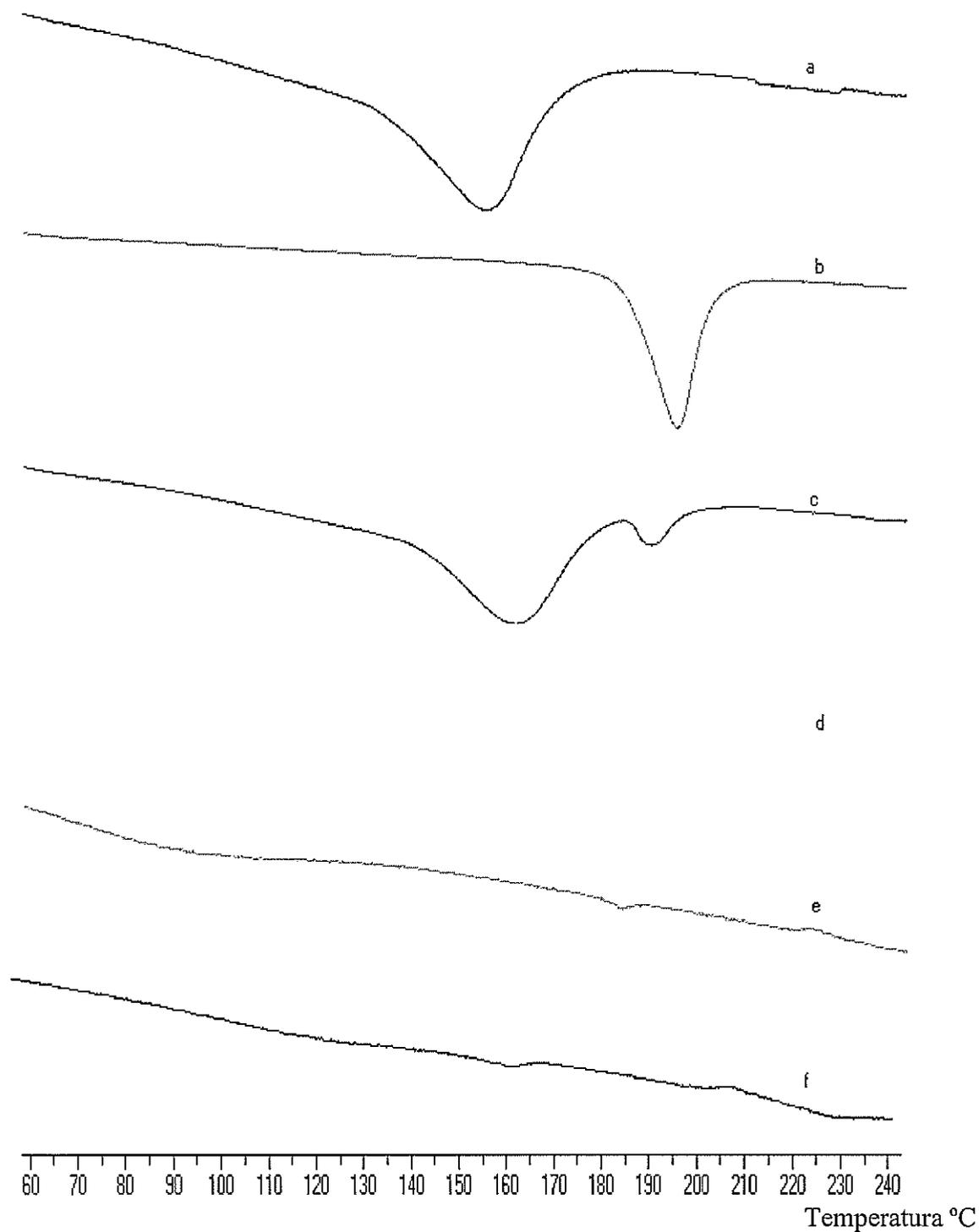
*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

210 °C, pero con los datos suministrados por esta técnica, es imposible determinar su naturaleza, así que debemos recurrir a otras técnicas como la termomicroscopía o DRX. Además existe una disminución en la entalpía de deshidratación de la CD, por todo ello podemos concluir que existe una complejación parcial del sistema.

*Tabla 5. Entalpías de fusión de los sistemas*

	$\Delta H_{f(\text{endo})}(\text{J/g})$	$\Delta H_{f(\text{exo})}(\text{J/g})$
<b>Norflurazon</b>	68.7	
<b>Mezcla física</b>	4.54	
<b>Amasado</b>	3.98	5.23
<b>Atomizado</b>	1.48	1.17
<b>Rotavapor</b>	1.7	1.47

Por último los termogramas de los sistemas obtenidos por atomizado y rotavapor presentan la práctica desaparición de la endoterma de fusión del norflurazon. Este hecho puede ser indicativo de una complejación total del plaguicida en la cavidad de la CD, si bien, también puede ser atribuible a una amorfización de la muestra. Es necesario recurrir a técnicas como DRX para discernir entre ambas posibilidades.



*Figura 4. Termogramas por DSC correspondientes al sistema norflurazon- $\beta$ -CD: a)  $\beta$ -CD, b) Norflurazon, c) Mezcla física, d) Amasado, e) Atomizado y f) Rotavapor.*

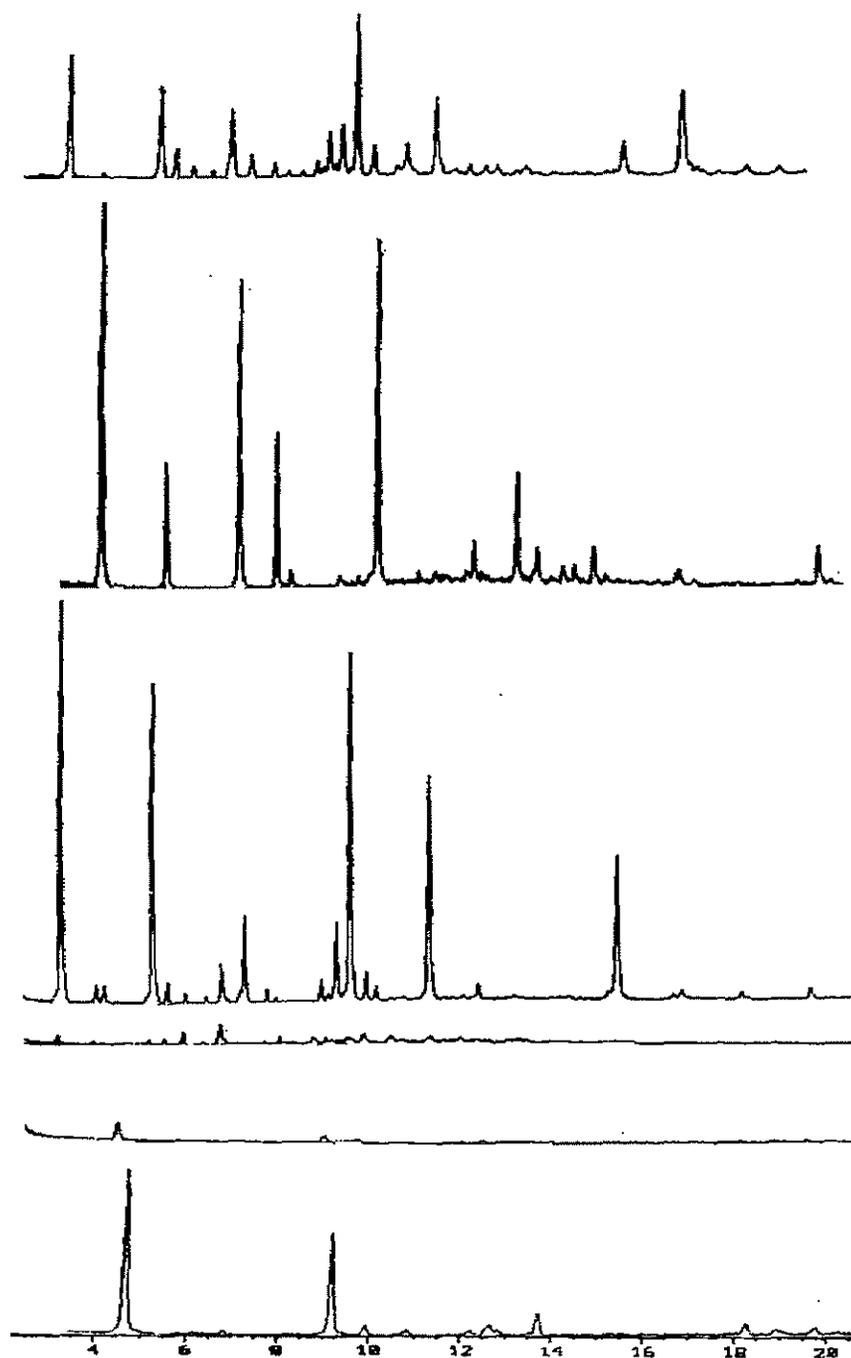
#### **4.2.2. Estudios por difracción de rayos X**

Los resultados obtenidos por difracción de rayos X pusieron de evidencia que la norflurazona presenta un carácter marcadamente cristalino, puesto de manifiesto por los numerosos picos de difracción que aparecen en su espectro de difracción. De igual manera los diagramas de DRX de la  $\beta$ -CD nos indican, también, un carácter cristalino por la aparición de numerosos picos de difracción.

Al analizar el espectro de la mezcla física donde podemos observar la aparición de los picos de difracción más intensos de ambos componentes, plaguicida y CD permaneciendo el marcado carácter cristalino de ambas sustancias. Esto nos indicaría la ausencia de interacción en estado sólido de ambos componentes.

Al analizar los difractogramas de los sistemas obtenidos por amasado, atomizado y rotavapor (figura 5.d, e y f), podemos observar como existe una fuerte disminución de la cristalinidad de la muestra, en especial para los sistemas obtenidos por amasado y atomizado. De igual manera en el sistema obtenido por amasado aparecen algunos picos correspondientes a la CD y al plaguicida, lo que podría ser indicativo de una complejación parcial del plaguicida en la cavidad de la CD.

Por el contrario en el sistema obtenido por rotavapor aparecen algunos picos de difracción que no aparecen en la mezcla física, lo que si podría considerarse como un nuevo complejo de estructura cristalina diferente, corroborando así los resultados obtenidos por DSC.



*Figura 5. Difractogramas correspondientes al sistema norflurazon- $\beta$ -CD: a)  $\beta$ -CD, b) Norflurazon, c) Mezcla física, d) Amasado, e) Atomizado y f) Rotavapor.*

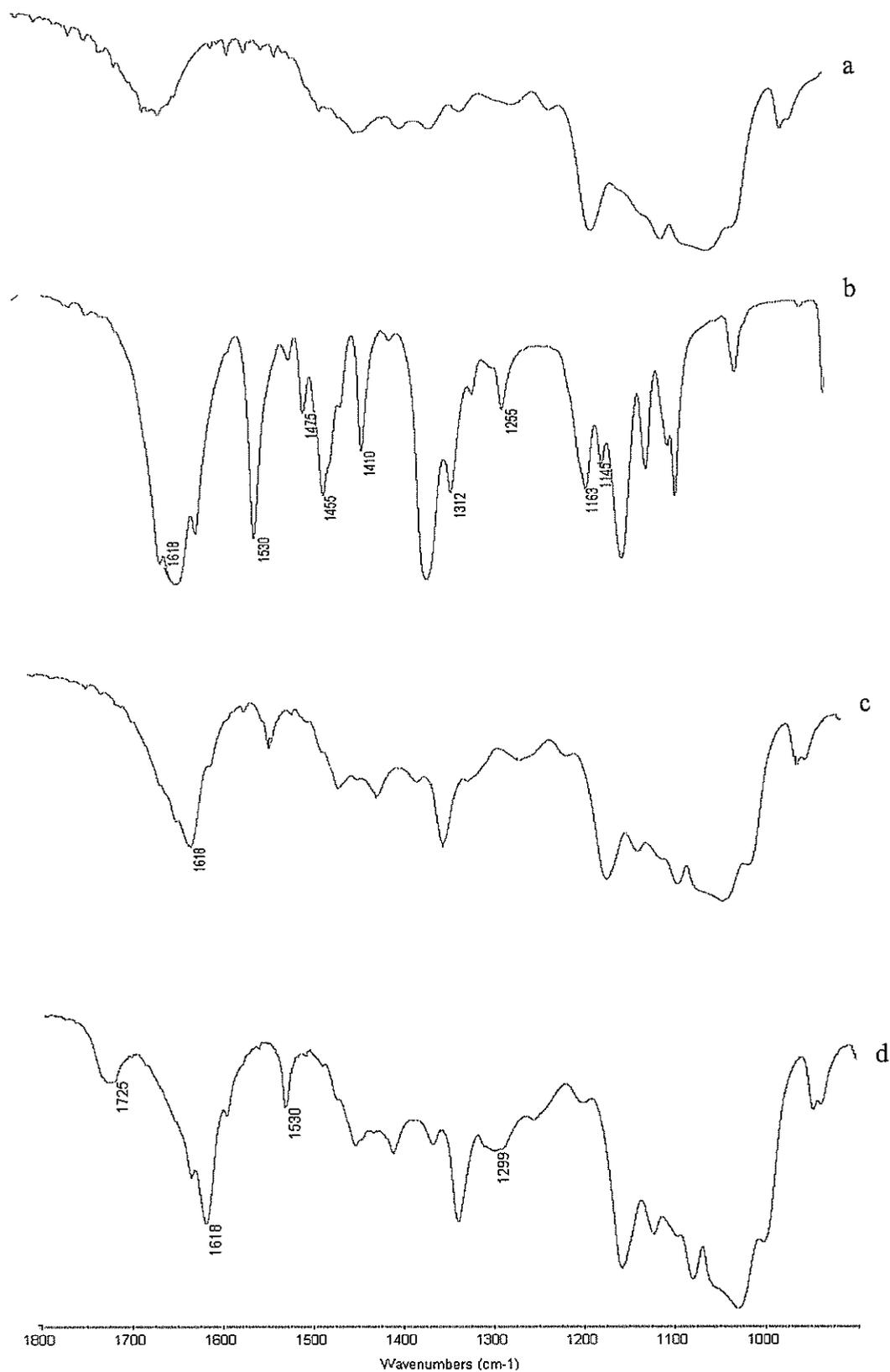
#### **4.2.3. Espectroscopía de infrarrojos**

La formación de complejos de inclusión plaguicida-CD, puede demostrarse en algunos casos mediante este tipo de espectroscopía, a partir del estudio y seguimiento de las bandas características de la molécula huésped, debido a que la parte incluida producirá un desplazamiento de sus frecuencias e intensidades, apareciendo por ello, alteradas.

El espectro de la norflurazona (figura 6), muestra bandas de absorción debidas a los modos de vibración del anillo de piridazinona a 1410 y 1530  $\text{cm}^{-1}$ , la frecuencia de elongación del Caromático-N aparece a 1255  $\text{cm}^{-1}$  y la del C-F a 1312, 1163 y 1145  $\text{cm}^{-1}$  (Undabeytia et al. 2000). Las bandas 1475 y 1455  $\text{cm}^{-1}$  pueden atribuirse a modos de respiración del esqueleto del anillo. Aunque el grupo carbonilo en cetonas exhibe una fuerte banda sobre 1725-1705  $\text{cm}^{-1}$  (Bellamy, 1975), en  $\alpha$ ,  $\beta$ - insaturadas p-amino cetonas, como es el caso del norflurazon, se ha descrito un efecto quelatante que da lugar a un desplazamiento considerable de la frecuencia del grupo carbonilo. En su lugar, una banda muy ancha, aproximadamente cien veces más fuerte que la vibración del carbonilo se observa en el rango 1639-1538  $\text{cm}^{-1}$ , que en el caso de la norflurazona es de 1618  $\text{cm}^{-1}$ . Esta absorción surge de un grupo carbonilo que ha reducido su carácter de doble enlace por resonancia entre los grupos amino y cetona, en los cuales el N y O pueden actuar como donadores y aceptores de electrones. Las bandas producidas son mucho más fuertes que los enlaces de H normales, por esta razón, la frecuencia de elongación NH (3335  $\text{cm}^{-1}$ ) es inferior a lo normal para aminas secundarias. La vibración de deformación del grupo metilo unido al N se observa a 1412  $\text{cm}^{-1}$ .

En cuanto al espectro de IR de la  $\beta$ -CD, se observan algunas algunas bandas intensas y agudas en la región 1030-1160  $\text{cm}^{-1}$  que pueden asociarse con las vibraciones extendidas de los grupos C-OH primarios o secundarios.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*



*Figura 6. Espectros correspondientes al sistema norflurazon- $\beta$ -CD:  $\beta$ -CD, b) Norflurazon, c) Mezcla física y d) Rotavapor*

## *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

En el estudio de los diferentes sistemas binarios, hay que tener en cuenta que el porcentaje de principio activo es de aprox. el 20% del total del producto, lo que dará lugar a que numerosas bandas de la norflurazona se encuentren enmascaradas por el espectro de la CD, componente mayoritario de los sistemas. Así el estudio se basará en la observación de los posibles cambios presentes en las bandas de absorción características y visibles del norflurazon.

Dentro de las técnicas utilizadas para la obtención del complejo, en el caso del rotavapor encontramos las más claras evidencias de la formación del complejo con  $\beta$ -CD, el cual pasamos ahora a analizar.

En el espectro de infrarojos correspondiente a la técnica del *rotavapor* se observa claramente la aparición de una nueva banda de absorción a  $1725\text{ cm}^{-1}$ , esta nueva banda podría corresponder a la formación del complejo de inclusión, pues su presencia indica que la quelación entre los grupos carbonilos y amino no se está produciendo debido a que posiblemente el grupo amino secundario está envuelto en la formación de un complejo con CD, con lo que la frecuencia de vibración del grupo carbonilo revierte a su valor normal de  $1725\text{ cm}^{-1}$ .

Debido a que la banda a  $1618\text{ cm}^{-1}$  no desaparece completamente, indicaría una inclusión parcial de la molécula huésped en la cavidad de la CD. También una nueva banda a  $1299\text{ cm}^{-1}$  que indicaría de nuevo una formación de complejo de inclusión, ya sea a través del grupo  $\text{CH}_3\text{-N-}$  ó a través del grupo  $\text{CF}_3$ , ya que en ambos casos las bandas correspondientes a los mismos ( $1255$  y  $1312\text{ cm}^{-1}$ ) han desaparecido con el rotavapor, apareciendo una nueva banda

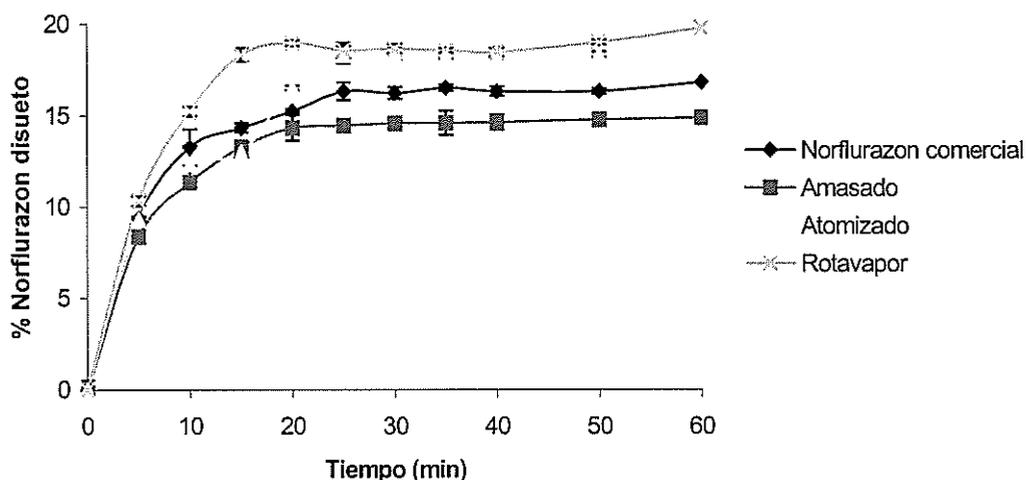
a  $1299\text{ cm}^{-1}$ .

### **4.3. ESTUDIOS DE VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN**

Con el objetivo de poner de evidencia si las diferentes técnicas de procesado ejercen algún tipo de influencia sobre la velocidad de disolución del propio plaguicida, se compararon los ensayos de disolución de la norflurazona tras ser sometido a los mismos tratamientos que se han utilizado para la obtención de los complejos de inclusión.

Así en la figura 7 se recogen los perfiles de velocidad de disolución del plaguicida comercial y del procesado por las distintas técnicas.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*



*Figura 7. Perfiles de velocidad de disolución correspondientes al norflurazon*

Los resultados de la eficacia de disolución y de plaguicida disuelto, calculados a partir de los perfiles de disolución (figura 7) se exponen en la tabla 5.

*Tabla 6. Eficacia de disolución (ED<sub>30</sub>) y porcentaje de plaguicida disuelto durante los primeros 30 minutos (DP<sub>30</sub>) para la norflurazona comercial y sometido a distintos tratamientos*

Método de elaboración	DE <sub>30</sub>	DP <sub>30</sub>
Norflurazonacomercial	0.011	16.24
Amasado	0.010	14.56
Atomizado	0.012	18.36
Rotavapor	0.013	26.35

Dichos resultados nos hacen ver que se consiguió una importante mejora en la velocidad de disolución con el atomizado y más importante con el rotavapor. Esto se debe al aumento de la superficie de contacto que producen estas técnicas debido a una disminución en el tamaño de la partícula. Por el contrario, el amasado nos ofrece un perfil de velocidad de disolución similar al de la norflurazonacomercial, pudiendo ser explicable debido al proceso de agregación y aglomeración que dichas técnicas producen sobre el plaguicida.

**Sistemas binarios**

La figura 8 recoge los perfiles de disolución de la norflurazona procesado por las distintas técnicas en combinación con las diferentes CDs. Asimismo, los parámetros  $DE_{30}$  y  $DP_{30}$ , calculados a partir de los diagramas de velocidad de disolución anteriores se muestra en la tabla 6.

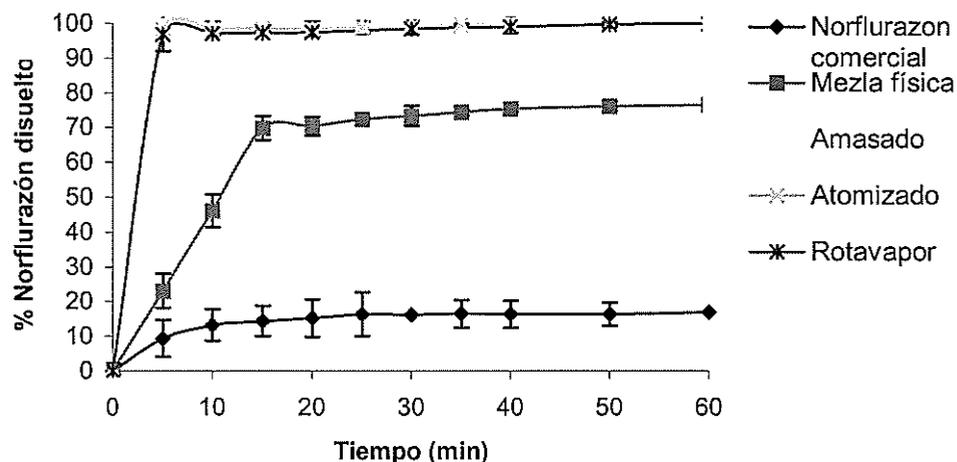


Figura 8. Perfiles de velocidad de disolución correspondientes al sistema Norflurazon- $\beta$ -CD

Tabla 7.- Eficacia de disolución ( $DE_{30}$ ) y porcentaje de plaguicida disuelto durante los primeros 30 minutos ( $DP_{30}$ ) para el sistema  $\beta$ -CD-Norflurazon.

Método de elaboración	$DE_{30}$	$DP_{30}$
Mezcla física	0.048	73.36
Amasado	0.080	99.52
Atomizado	0.082	98.85
Rotavapor	0.081	99.63

La tabla 7 nos ofrece los valores de la eficacia de disolución y de la disolución del plaguicida durante los primeros 30 minutos, con los distintos sistemas de complejación utilizados, además de las distintas figuras donde se muestra el perfil de velocidad de disolución para los distintos sistemas.

## *Aplicación del complejo de inclusión $\beta$ -CD-norflurazona para la descontaminación de suelos.*

En el caso de la mezcla física obtenemos una mejora importante en el perfil de velocidad de disolución, resultado de la formación in situ del complejo de inclusión en medio líquido.

Los resultados obtenidos mediante las diferentes técnicas de procesado muestran que ciertamente se ha conseguido mejorar el perfil de velocidad de disolución, consiguiéndose un aumento del perfil de disolución hasta el 100% casi de manera instantánea, en apenas cinco minutos de disolución, hecho que se corrobora con los resultados obtenidos mediante las distintas técnicas analíticas.

Si observamos la eficacia de disolución ( $DE_{30}$ ) en las distintas técnicas de procesado, podremos observar, en general, que además de aumentar el porcentaje de plaguicida disuelto se consigue un aumento del  $DE_{30}$  para todos los casos, lo cual nos termina por confirmar esa mejora en el perfil de velocidad de disolución, siendo estos aumentos proporcionales a la mejora del porcentaje de disolución.

## **5. ESTUDIO DE LA INTERACCION DEL PLAGUICIDA CON SUELOS**

Una vez que se ha puesto de manifiesto la formación de un complejo de inclusión del herbicida con las distintas CDs sometidas a estudio, se va a proceder al estudio de las ventajas e inconvenientes de la aplicación de dicho complejo al suelo. Las experiencias se han realizado con cinco tipos distintos de suelos. La selección de estos suelos se ha llevado a cabo en función de los porcentajes en que se encuentran los distintos componentes que podrían llegar a influir en la adsorción de la norflurazona como son: la materia orgánica, arcilla, carbonatos, pH y otros componentes como los óxidos de hierro, los cuales son abundantes especialmente en el suelo AL.

Se han llevado a cabo experiencias de adsorción-desorción del herbicida en sistemas cerrados (batch), así como experiencias de transporte y movilidad de la norflurazona en columnas de suelo. Los experimentos de adsorción-desorción y de columnas de suelos se realizaron fundamentalmente con la  $\beta$ -CD, que tanto por sus características fisico-químicas y mayor asequibilidad como por los resultados obtenidos en los análisis previos de caracterización del complejo de inclusión, nos lleva a pensar en que exista una mayor posibilidad para su uso en el futuro. Con un solo suelo (Coria) se emplearon las otras dos CDs naturales, para dejar constancia del efecto que produce la formación del complejo con todas las CDs empleadas en este trabajo.

### **5.1. EXPERIENCIAS DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN EN SISTEMAS CERRADOS**

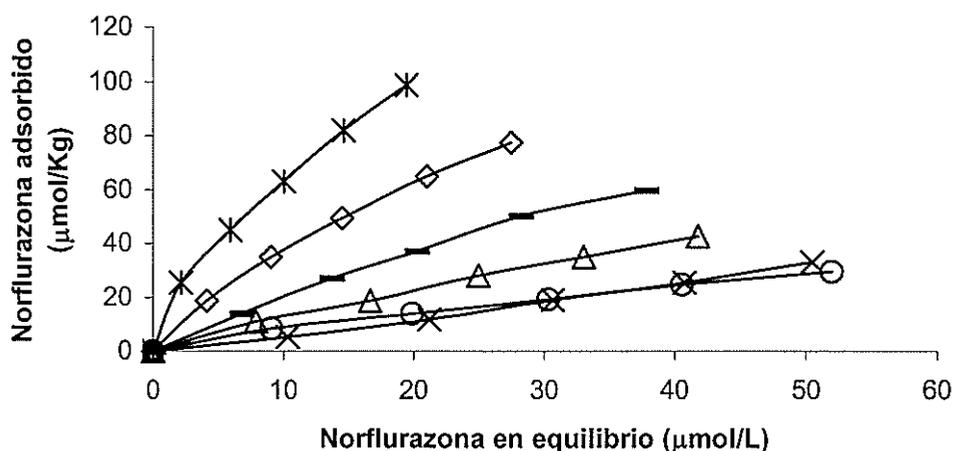
#### **5.1.1. Cinéticas de adsorción**

Antes de proceder al estudio de la adsorción de norflurazona en los suelos SR, CO, ST, P-27, TM, AL, se realizaron los estudios cinéticos para conocer el tiempo mínimo de contacto entre el adsorbato y los suelos para alcanzar el equilibrio.

Las curvas de cinética de adsorción se obtuvieron representando la cantidad total adsorbida por el suelo frente al tiempo de agitación. De los resultados obtenidos se dedujo que la concentración de equilibrio se alcanza en todos los casos a las 24 horas de tratamiento.

### 5.1.2. Isotermas de adsorción

En la figura 9 se presentan las isotermas de adsorción del herbicida norflurazona sobre los distintos suelos empleados. En orden creciente, la adsorción para los distintos suelos quedó como sigue:  $SR \leq CO < ST < P-27 < TM < AL$



*Figura 9. Isotermas de adsorción correspondientes a los suelos: \* AL, ◇ TM, - P-27, Δ ST, O CO y x SR.*

Se observó que en todos los casos la isoterma de adsorción se ajustó a la ecuación de Freundlich, ya definida en el apartado de materiales y métodos de esta memoria, como confirman los coeficientes de correlación (tabla 8) obtenidos después de aplicarla.

Asimismo se calcularon los valores de  $K_f$  (constante relacionada con la capacidad de adsorción) para las correspondientes isotermas de adsorción, los cuales aparecen recogidos, junto a “n” (constante relacionada con la intensidad de enlace), en la tabla 10. Si  $K_f$  es una medida de la capacidad de adsorción del herbicida, observando los valores obtenidos, se puede decir que estos son más altos a medida que aumenta la adsorción para los distintos suelos. Si se tiene en cuenta que para la adsorción de herbicidas no iónicos uno de los factores más importantes a la hora de predecir su adsorción podría ser la cantidad de materia orgánica que posea el suelo, observando los

porcentajes de materia orgánica para los distintos suelos se observan discrepancias con respecto a la adsorción para los mismos. Este hecho nos lleva a pensar que no solo la materia orgánica será la responsable única de la adsorción de la norflurazona sobre el suelo. En el caso del suelo ST, el cual posee la mayor cantidad de materia orgánica, la adsorción no es la más alta y sin embargo para el suelo TM que posee menor cantidad en materia orgánica la adsorción es bastante mayor.

Otros componentes del suelo como las arcillas son responsables en gran medida de los procesos de adsorción de plaguicidas en el suelo. El suelo TM posee el contenido en arcilla más alto, siendo éste mucho más bajo para el suelo ST. También otro factor importante que justificaría este hecho, es que dentro de la materia orgánica que pudiera poseer un determinado suelo existen distintos componentes que podrían actuar de distinta forma a la hora de producirse la interacción entre el adsorbente y el adsorbato, unido a la dispar composición que dicha materia orgánica pudiese poseer. Todo esto podría llegar a explicar el hecho de que para el suelo TM se observe una mayor adsorción que para el ST, aunque éste posea el mayor contenido en materia orgánica.

Otro hecho relevante para poder buscar una explicación en el comportamiento del herbicida a la hora de adsorberse sobre un determinado suelo es que siendo el suelo AL un suelo que no posee ni valores altos de materia orgánica (1.6%) ni demasiado elevados en cuanto a su fracción arcilla (22.6%), sin embargo es en el que se da la mayor adsorción para el herbicida. Para explicar esto deberemos recurrir a otro componente del suelo que pudiera influir en esa adsorción y que a la misma vez lo diferencie del resto, y observando los elementos mayoritarios para este caso, los óxidos de hierro y de aluminio se encuentran en un elevado porcentaje, pudiéndose concluir que para este suelo su adsorción va a estar más directamente relacionada con el porcentaje de ese elemento mayoritario.

Un parámetro muy útil para medir la afinidad entre adsorbente y adsorbato es el coeficiente de distribución,  $K_d$ , que puede ser definido como:

$$K_d = [M]_a / [M]_s$$

Donde  $[M]_a$  es la concentración del sorbato M (norflurazona en este caso) adsorbido sobre el suelo (expresado en  $\mu\text{mol/Kg}$ ), y  $[M]_s$  la concentración de sorbato M en la solución de equilibrio (expresado en  $\mu\text{mol/L}$ ).

*Tabla 8. Valores de ajuste a la ecuación de Freundlich,  $K_d$  y  $K_{oc}$ , correspondientes a las curvas de adsorción, obtenidas empleando soluciones de nitrato cálcico 0.01 M, de norflurazona sobre los distintos suelos bajo estudio.*

	$K_F$	n	$r^2$	$K_d$	$K_{oc}$
SR	0.35±0.021	1.15±0.018	0.999	0.49	166
P-27	2.80±0.2602	0.85±0.030	0.999	1.98	247
AL	15.54±0.542	0.61±0.015	0.998	6.33	682
ST	2.00±0.211	0.81±0.032	0.995	1.29	42
CO	1.70±0.156	0.72±0.026	0.995	0.89	167
TM	6.56±0.252	0.75±0.014	0.998	3.69	361

Los valores de  $K_d$  vienen recogidos en la tabla 8. Para la adsorción de la norflurazona sobre los distintos suelos bajo estudio el rango de valores que se encontró fue de entre 0.49 para SR y 6.33 para AL. El rango obtenido para los valores de  $K_d$  sugieren, de una moderada a una alta capacidad de unión de estos suelos con el norflurazon.

Los valores obtenidos en este estudio fueron similares a aquellos publicados por otros autores. Reddy et al. (1992) encontraron valores para  $K_d$  entre 0.63 y 2.2. Resultados similares fueron obtenidos por Hubbs y Lavy (1990), con valores para  $K_d$  desde 0.54 hasta 2.75. Alva y Singh (1990) observaron una  $K_d$  con un valor de 16 en el caso de la adsorción de la norflurazona sobre un suelo con un contenido en materia orgánica de 3.4%, sin embargo,  $K_d$  presentó valores entre 0.4 y 2.3 para suelos con un contenido en

materia orgánica del 1.4%. Suba y Essington (1999) obtuvieron valores de  $K_d$  entre 2.04 y 12.15.

Otro parámetro muy útil para comprobar el papel de la materia orgánica a la hora de adsorberse el herbicida es  $K_{oc}$  (tabla 8) que se obtiene a partir del cálculo de  $K_d$  y del porcentaje de carbono orgánico del suelo bajo estudio mediante la siguiente expresión:

$$K_{oc} = K_d / \% \text{ Carbono orgánico}$$

Mientras más hidrofóbica sea una molécula más alta será la probabilidad para que se reparta desde la fase acuosa a la orgánica.  $K_{oc}$  puede ser utilizado como una medida de esta propiedad de los suelos y es independiente de otras. Cuando las uniones hidrofóbicas son las responsables de la adsorción del herbicida,  $K_{oc}$  debe tomar valores más o menos constantes para los distintos suelos bajo estudio, es decir, se trata de un factor que nos sirve como herramienta para determinar si es la materia orgánica el factor que más influye en la adsorción de un plaguicida.

Aunque el valor medio de  $K_{oc}$  dado para la norflurazona fue de  $248 \text{ LKg}^{-1}$  (Alva and Singh, 1991), los valores obtenidos en este estudio para los distintos suelos van desde 42 hasta  $682 \text{ LKg}^{-1}$ . Valores más bajos fueron observados por Reddy et al. (1992) ( $K_{oc}$  desde 144 a 122). Suba y Essington publicaron valores más altos de  $K_{oc}$  (desde 456 a 551) los cuales no variaron mucho con la cantidad de carbono orgánico en el suelo, mostrando la influencia de este parámetro sobre la adsorción del norflurazon. En nuestro caso, los valores obtenidos para  $K_{oc}$  no fueron muy similares entre ellos, indicando que el mecanismo de adsorción esté quizás relacionado con otras propiedades del suelo además del contenido de carbono orgánico.

El suelo AL presenta el valor más alto de  $K_{oc}$  (691), siendo incluso más alto que los encontrados en la literatura. Como se indicó anteriormente este suelo presenta un alto contenido de óxidos de hierro y, aunque su cantidad de óxidos cristalinos es mayor que la de óxidos amorfos, el área superficial es mayor para los óxidos amorfos. También existe un alto contenido en óxidos amorfos de Al y Mn (0.943% y 0.981%, respectivamente), en comparación con los otros suelos, los cuales pueden ser también superficies de adsorción adecuadas para el norflurazon.

En relación con la distribución del tamaño de partícula, los suelos AL y TM, presentan un alto porcentaje de las fracciones limo-arcilla (83.8 y 97.4%, respectivamente), aportando éstas las mayores superficies para la adsorción del herbicida. Además, el suelo TM presenta un alto contenido en minerales de la arcilla, incluyendo ilita, kaolinita, y una mayor proporción de esmectita, y, de acuerdo con Reddy et al. (1992) y Hubbs y Lavy (1990), el contenido en minerales de la arcilla estaba también correlacionado con la adsorción de la norflurazona en el suelo.

Para el suelo ST la fracción fina es del 38.8%, valor claramente inferior a los que se observan para los suelos TM y AL, y sin embargo bastante superior a los observados para CO y SR (12.4% y 6.9% respectivamente). Estos datos muestran que la distribución del tamaño de partícula es un factor determinante a la hora de comprender la mayor o menor adsorción del norflurazon, de hecho estos valores concuerdan perfectamente con los valores obtenidos en las isotermas de adsorción, donde además se aprecian valores parecidos entre el suelo ST y el P-27 (43.3%).

Para terminar de dilucidar que parámetros son más relevantes a la hora de la adsorción del herbicida, se realizaron estudios de aproximación estadística. Para la realización de estos estudios fueron necesarias isotermas de adsorción de un total de 17 suelos con propiedades diversas, estando incluidas las isotermas de los otros 5 suelos entre ellas. Las variables estadísticamente significativas fueron el contenido en materia orgánica y el contenido en óxidos de hierro y de aluminio. Entre estas propiedades del suelo la más significativa fue la cantidad de materia orgánica que contribuye un 85% a la adsorción. Pero si se incluían los óxidos de hierro y de aluminio, la ecuación de regresión múltiple dio un 11% de incremento (en total 96%) comparado con la evaluación de la materia orgánica sola.

### **5.1.3. Isotermas de adsorción-desorción**

En las figuras 10 y 11 se presentan las isotermas de adsorción-desorción obtenidas empleando soluciones de nitrato cálcico 0.01 M y soluciones de  $\beta$ -CD. Las isotermas de desorción obtenidas empleando solución de nitrato cálcico, fueron también descritas mediante la ecuación de Freundlich y los coeficientes de histéresis (H) fueron calculados usando "n" (Tabla 9), constante de Freundlich. En la tabla 12 se muestran los

porcentajes de desorción (%D) a las concentraciones de equilibrio de 4, 12 y 20 ppm, cuando se emplean ambos tipos de soluciones.

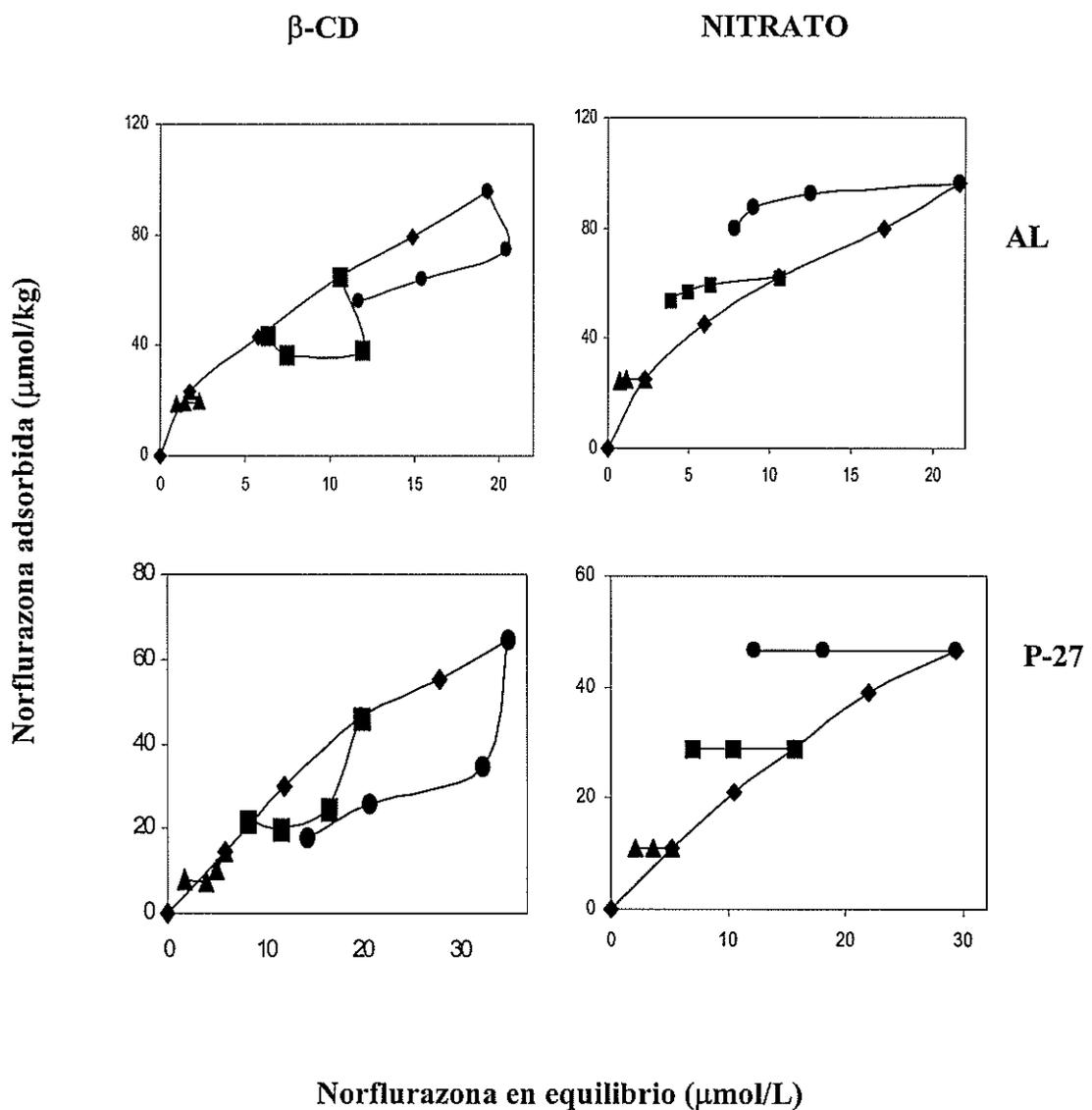
En todos los casos donde se emplearon las soluciones de nitrato cálcico 0.01M para llevar a cabo la desorción, se observó histéresis, siendo especialmente marcada en el suelo TM, el cual presenta el valor más alto de H (tabla 11).

Si la isoterma de adsorción coincidiera completamente con la de desorción, se consideraría un proceso totalmente reversible, hecho que no se aprecia cuando se emplea la solución de nitrato cálcico para la desorción.

*Tabla 9. Valores de porcentajes desorbidos (%D) y de histéresis calculadas (H) para la desorción de norflurazona de los distintos suelos empleados con soluciones de nitrato cálcico 0.01 M.*

	%D			H		
	4	12	20	4	12	20
<b>SR</b>	12.3	34.0	48.5	17.3	5.3	2.8
<b>P-27</b>	34.1	36.6	58.1	2.45	2.39	1.85
<b>AL</b>	2.0	11.7	13.7	18.9	3.3	2.2
<b>ST</b>	41.8	44.4	53.0	1.86	1.83	1.39
<b>CO</b>	31.9	54.3	72.3	2.52	1.51	0.96
<b>TM</b>	2.0	11.7	13.7	18.9	3.3	2.2

En general se puede observar que los valores de %D no están relacionados directamente con la afinidad de la molécula de herbicida por el suelo ( $K_d$ ), como ocurre en el suelo P-27 donde se da una alta adsorción pero también un elevado %D (58.1%) en relación con el resto de los suelos estudiados. Esto sería debido a que la desorción solo estaría en función de la fuerza de enlace mediante la cual el herbicida permanece adsorbido al suelo y la adsorción se da en función de los diversos factores anteriormente comentados (contenido de la fracción fina, materia orgánica, óxidos, minerales de la arcilla, etc.....).



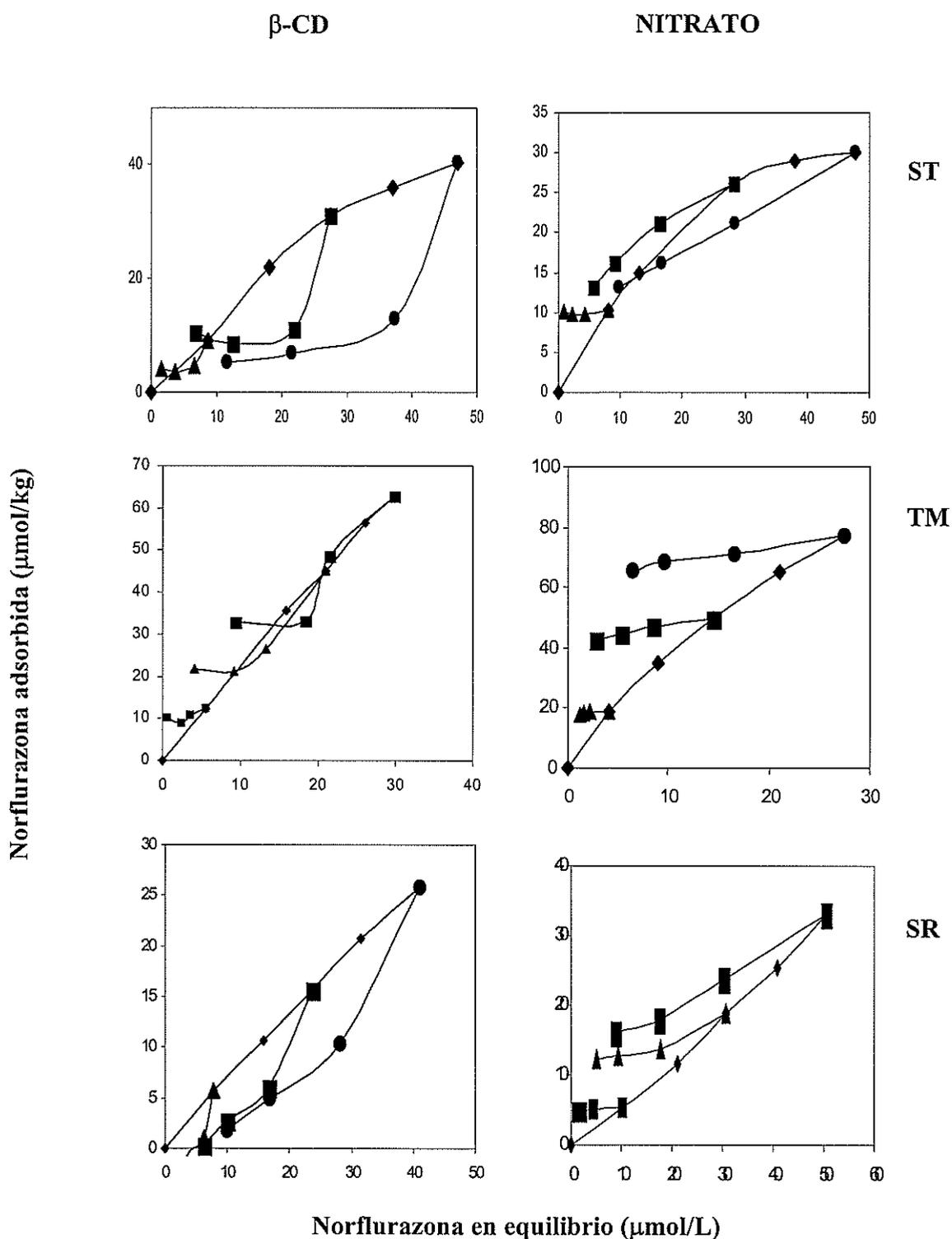


Figura 10. Isothermas de adsorción-desorción obtenidas mediante el empleo de soluciones de nitrato cálcico y de  $\beta$ -CD 0.01 M.

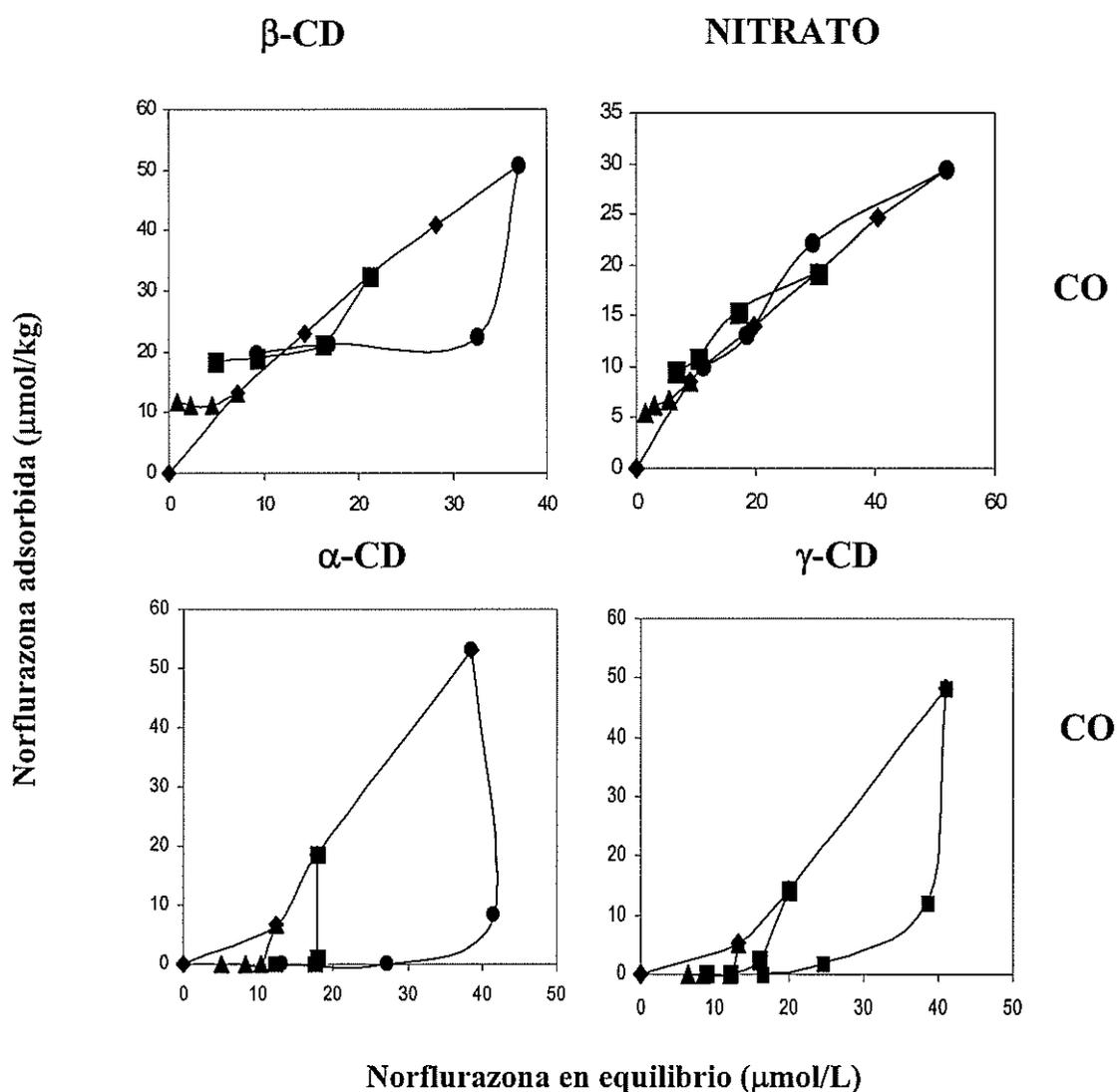


Figura 11. Isothermas de adsorción-desorción para el suelo CO, obtenidas mediante el empleo de soluciones de nitrato cálcico y de  $\alpha$  y  $\gamma$ -CD 0.01 M.

La adsorción de la norflurazona es más irreversible (más bajos %D) a menores concentraciones iniciales empleadas, debido a que prácticamente todos los puntos de adsorción del adsorbato se encuentran más disponibles. Esto queda reflejado en la tabla 9 donde los %D se incrementan a medida que se emplean mayores concentraciones iniciales.

Cuando la desorción se realiza empleando solución de  $\beta$ -CD, se observa que en la totalidad de los casos la histéresis es inferior a cuando se emplea la solución de nitrato cálcico, incluso observándose en todos los casos una histéresis negativa. Se pudo observar que para las desorciones correspondientes al suelo de AL (Fig. 11) la

concentración en equilibrio obtenida se encuentra desplazada hacia valores más elevados respecto a la correspondiente a la adsorción, siendo debido a que se produce un fuerte proceso de desorción, aunque para este suelo se hayan obtenido los valores más altos de adsorción por parte del herbicida. Es también destacable que en el suelo de TM, donde las adsorciones fueron muy altas y los %D bajos, se consiguiera también una histéresis negativa, comprobándose de nuevo el importante poder desorvente de la CD.

En la tabla 10 se muestran los valores de %D cuando se emplearon soluciones de  $\beta$ -CD para la desorción, pero no se muestran ni los valores de H ni los parámetros que se obtienen mediante la ecuación de freundlich ya que estas isothermas de desorción no se ajustaron a dicha ecuación.

*Tabla 10. Valores del porcentaje desorbido (%D) para la desorción de norflurazona de los distintos suelos con las soluciones de  $\beta$ -CD.*

	SR	P-27	AL	ST	TM
4	100	44	17.49	56.27	14.32
%D 12	97.95	52	32.88	66.72	54.98
20	93.12	72	41.48	87.12	45.20

En todos los casos los %D fueron mucho más elevados que cuando se emplearon las soluciones de nitrato cálcico, siendo destacable la desorción para el suelo de TM (100% para la concentración de equilibrio de 4 ppm). Debido a que la MO de este suelo podría ser cualitativamente distinta a la de los otros suelos pudiendo generar distintos tipos de enlaces entre el herbicida y el suelo lo que a su vez podría ser responsable de ese elevado %D observado. Todo esto pone de manifiesto que hay una mayor facilidad para la desorción de la norflurazona de los suelos empleados en presencia de  $\beta$ -CD.

En conclusión, el hecho de que la desorción de la norflurazona del suelo sea mayor al desorber con  $\beta$ -CD se debe a que este herbicida tiende a formar un complejo de

inclusión con dicha CD en solución, por lo que esta puede estar actuando como un extractante hacia la norflurazona adsorbida.

Con respecto a la influencia de la concentración inicial de norflurazona en la desorción, en general, tanto con nitrato cálcico como con  $\beta$ -CD, la desorción es mucho más fácil cuanto menor es la concentración inicial de norflurazona empleada, o sea, cuanto menor es la cantidad de norflurazona adsorbida.

Por último, se realizaron experimentos empleando las otras dos CDs naturales a las que se les realizó, en la primera parte de este trabajo, un estudio de caracterización y análisis de la formación de un complejo de inclusión en el cual se obtuvieron resultados satisfactorios respecto a la formación de dicho complejo en solución.

Para este ensayo se empleó el suelo CO, obteniéndose unos resultados similares a los obtenidos para la  $\beta$ -CD, es decir, incrementándose claramente el %D (100% con ambas CDs).

***CONCLUSIONES***

## **6. CONCLUSIONES**

1. Los estudios de interacción acuosa plaguicida-CD han mostrado que las ciclodextrinas de origen natural,  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -, conducen a diagramas de solubilidad del tipo  $A_L$  de Higuchi, es decir los complejos formados entre el plaguicida y estas CDs no poseen un límite de solubilidad definido, por lo que queda descartada la posibilidad de obtención de complejos en estado sólido por coprecipitación para las mismas.
2. El cálculo de las constantes de estabilidad en medio líquido ha puesto de manifiesto la siguiente secuencia  $\beta$ -CD >  $\gamma$ -CD >  $\alpha$ -CD. Estos resultados confirman la importancia de la dimensión de la cavidad de la ciclodextrina en el proceso de complejación del plaguicida.
3. Los estudios térmicos (DSC) pusieron de manifiesto que los sistemas elaborados mediante las técnicas de atomizado, y rotavapor nos conducen a una complejación total del plaguicida dentro de la cavidad de la CD, deducida a partir de la desaparición de la endoterma de fusión del plaguicida en los termogramas de dichos sistemas y por el contrario el sistema elaborado por amasado conduce a una complejación parcial debido a la presencia de la endoterma de fusión del plaguicida aunque de menor intensidad que en la mezcla física.
4. XRD ha puesto de manifiesto que los tres sistemas conducen a modificaciones en sus espectros respecto a la correspondiente mezcla física. En el caso de los sistemas elaborados por amasado y atomizado se registra la práctica desaparición de los picos que se pueden atribuir a la complejación y/o amorfización de los sistemas. Por el contrario el producto obtenido por evaporación conduce a un nuevo compuesto cristalino totalmente diferente a los productos de partida.
5. Mediante espectroscopía de IR, para la técnica de rotavapor, se ha confirmado que el proceso de complejación del plaguicida en la cavidad de la  $\beta$ -CD produce un desplazamiento parcial de la banda situada a  $1618\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo carboxílico de la molécula del plaguicida lo que indicaría una complejación parcial, además de la aparición de una nueva banda a  $1299\text{ cm}^{-1}$ .

6. Los estudios de velocidad de disolución muestran que la presencia de la  $\beta$ -CD en las formulaciones conduce, en todos los casos, a un aumento de la velocidad de disolución del plaguicida, cercanos al 100% lo que indica una disolución casi instantánea de los mismos, independientemente de la técnica utilizada para su elaboración.
7. En orden creciente, la adsorción para los distintos suelos quedó como sigue:  
 $SR \leq CO < ST < P-27 < TM < AL$ .
8. Se observó que en todos los casos la isoterma de adsorción se ajustó a la ecuación de Freundlich para los tipos distintos de suelos.
9. Las variables estadísticamente significativas fueron el contenido en materia orgánica y el contenido en óxidos de hierro y de aluminio. Entre estas propiedades del suelo la más significativa fue la cantidad de materia orgánica, que contribuye un 85% a la adsorción.
10. Las isotermas de desorción obtenidas empleando solución de nitrato cálcico, fueron también descritas mediante la ecuación de Freundlich. Sin embargo, cuando la solución de  $\beta$ -CD fue empleada, la isoterma de desorción no se ajustó a dicha ecuación.
11. En todos los casos donde se emplearon las soluciones de nitrato cálcico 0.01M para llevar a cabo la desorción, se observó histéresis, siendo especialmente marcada en el suelo TM. Cuando la desorción se realizó empleando solución de  $\beta$ -CD, se observa que en la totalidad de los casos la histéresis es inferior a cuando se emplea la solución de nitrato cálcico, llegando incluso a ser negativa.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

## 6. BIBLIOGRAFÍA

ALBERS, E. y MULLER, B.W., "Complexation of steroid hormones with cyclodextrin derivatives: substituent effect of the guest molecule on solubility and stability in aqueous solution". *J. Pharm. Sci.*, **81**, (8) (1992) 756-761.

AMATO, M.E., DJEDAINI, F., PAPPALARDO, G.C., PERLY, B. y SCARLATA, G., "Molecular modeling of  $\beta$ -cyclodextrin complexes with nootropic drugs". *J. Pharm. Sci.*, **81**, (12) (1992) 1157-1161.

ANGUIANO-IGEA S., OTERO-ESPINAR F.J., VILA-JATO J.L., BLANCO-MENDEZ J., "Evaluation of sealed heating method for the obtention of a clofibrate- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex", *S.T.P. Pharma Sciences*, **2**, (4) (1992) 325-331.

ASHTON, F. M. Y CRAFTS, A. S.: Mode of action of herbicides. John Wiley and Sons, Inc., New York. 1981.

BACKENSFELD T., MULLER B.W., KOLTER K., "Interaction of NSA with cyclodextrins and hydroxypropyl cyclodextrin derivatives", *Int. J. Pharm.*, **74**, (1991) 85-93.

BEKERS O., UIJTENDAAL E.V., BEIJNEN J.H., BULT A., UNDERBERG W.J.M., "Cyclodextrins in the pharmaceutical field", *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17**, (11) (1991) 1503-1549.

BEKERS, O., UIJTENDAAL, E.V., BEIJNEN, J.H., BULT, A. y UNDERBERG W.J.M., "Cyclodextrins in the pharmaceutical field". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17**, (11) (1991) 1503-1549.

BELLAMY, 1975

BETTINETTI, G., GAZZANIGA, A., GIORDANO, F. y SANGALLI, M.E., "Thermal properties and mechanical stress of  $\beta$ -cyclodextrin". *Eur. J. Pharm Biopharm.*, **40**, (4) (1994) 209-212.

BETTINETTI, G., MURA, P., LIGUORI, A., BRAMANTI, G. y GIORDANO, F., "Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state". *Il Farmaco Ed. Sci.*, **44**, (2) (1989) 195-213.

BORGGGAARD, O.K. Y STREIBIG, J.C.: "Chlorsulfuron adsorption by humic acid, iron oxides, and montmorillonite." *Weed Sci.*, **36**, (1988) 530-34.

BUHLER, D.D., KOSKINEN, W.C., SCHREIBER, M.M: y GAN, J. "Dissipation of alachlor, metolachlor and atrazine from starch-encapsulated formulations in a sandy loam soil". *Weed Sci.* **42**, (1994) 411-417.

BLANCO J., VILA-JATO, J.L., OTERO F., ANGUIANO S. "Influence of method of preparation on inclusion complexes of naproxen with different cyclodextrins", *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17**, (7) (1991) 943-957.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

BROWN N.D., BUTLER D.L., CHIANG P.K., "Stabilization of thymopentin and preservation of its pharmacological properties by 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin", *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, (3) (1993) 666-667.

CALVET, R.: "Adsorption of organic chemicals in soils." *Environmental Health Perspectives*, **88**, (1989) 145-177.

ÇELEBI, N. y NAGAI, T., "Enhancement of dissolution properties of nalidixic acid from ground mixtures with  $\gamma$ -cyclodextrin". *S.T.P. Pharma Sciences*, **3**, (11) (1987) 868-871.

CLAUDY, P., LETOFFE, J.M., GERMAIN, P., BASTIDE, J.P., BAYOL, A., BLASQUEZ, S., RAO, R.C. y GONZALEZ, B., "Physicochemical characterisation of cholesterol-beta cyclodextrin complexes". *J. Therm. Anal.*, **37**, (1991) 2497-2506.

CLAUDY, P., LETOFFE, J.M., GERMAIN, P., BASTIDE, J.P., BAYOL, A., BLASQUEZ, S., RAO, R.C. y GONZALEZ, B., "Physicochemical characterisation of cholesterol-beta cyclodextrin complexes". *J. Therm. Anal.*, **37**, (1991) 2497-2506.

CONNORS, K.A. y ROSANSKE, T.W. , "Trans-cinnamic acid- $\alpha$ -cyclodextrin system as studied by solubility, spectral and potentiometric techniques". *J. Pharm. Sci.*, **69**, (2) (1980) 173-179.

CORRIGAN, O.I. y STANLEY, C.T., "Mechanism of drug dissolution rate enhancement from  $\beta$ -cyclodextrin-drug systems". *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, (10) (1982) 621-626.

COTTERILL, J.V. Y WILKINS, R.M. "Controlled release of phenylurea herbicides from a lignin matrix: release kinetics and modification with urea". *J. Agric. Food Chem.* **44**, (1996) 2908-2912.

COTTERILL, J.V., WILKINS, R.M. Y SILVA, F.T. "Controlled release of diuron from granules based on a lignin matrix system". *J. Control Rel.* **40**: (1996) 133-142.

CROMMELIN, D.J.A., SCHREIER, H. "Liposomes. En: Kreuter", *J. Ed. Colloidal Drug Delivery System. Marcel Dekker, New York*: (1994) 73-190.

CHOUDHURY S., NELSON K.F., "Improvement of oral bioavailability of carbamazepine by inclusion in 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin", *Int. J. Pharm.*, **85**, (1992) 175-180.

CHOW, D.D. y KARARA, A.H. , "Characterisation, dissolution and bioavailability in rats of ibuprofen- $\beta$ -cyclodextrin complex system". *Int. J. Pharm.*, **28**, (1986) 95-101.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

DAILEY, O.D., BLAND, J.M. Y TRASK-MORRELL, B.J.. "Preparation and characterization of cyclodextrin complexes of the insecticides aldicarb and sulprofos". *J. Agric. Food Chem.* **41**, (1993) 1767-1772.

DARVARI, R. Y HASIRCI, V.. "Pesticide and model drug release from carboxymethylcellulose microspheres". *J. Microencaps.* **13**, (1996) 9-24.

DJEDAINI, F. y PERLY, B., "Nuclear magnetic resonance investigation of the stoichiometries in  $\beta$ -cyclodextrin: steroid inclusion complexes". *J. Pharm. Sci.*, **80**, (12) (1991) 1157-1161.

DJEDAINI, F., LIN, S.Z., PERLY, B. y WOUESSIDJEW, D., "High-field nuclear magnetic resonance techniques for the investigation of a  $\beta$ -cyclodextrin: indomethacin inclusion complex". *J. Pharm. Sci.*, **79**, (7) (1990) 643-646.

EL-NAHHAL, Y., NIR, S., POLUBESOVA, T., MARGULIES, L. Y RUBIN, B. "Leaching phytotoxicity and weed control of new formulations of alachlor". *J. Agric. Food Chem.* **46**, (1998) 3305-3313.

EL-NAHHAL, Y., NIR, S., POLUBESOVA, T., MARGULIES, L. y RUBIN, B.. "Movement of metolachlor in soil: Effect of new organoclay formulations". *Pest. Sci.* **55**, (1999B) 1-8.

EL-NAHHAL, Y., NIR, S., MARGULIES, L. y RUBIN, B.. "Reduction of photodegradation and volatilization of herbicides in organo-clay formulations". *Appl. Clay Sci.* **14**, (1999<sup>a</sup>) 105-149.

ERDEN, N. y ÇELEBI, N., A "Study of the inclusion complex of naproxen with  $\beta$ -cyclodextrin". *Int. J. Pharm.*, **48**, (1988) 83-89.

ERDEN, N. y ÇELEBI, N., A "Study of the inclusion complex of naproxen with  $\beta$ -cyclodextrin". *Int. J. Pharm.*, **48**, (1988) 83-89.

FERNÁNDEZ-URRUSUNO, R. GINÉS, J.M. y MORILLO, E.. "Development of controlled release formulations of alachlor in ethylcellulose". *J. Microencapsul.* (en prensa), (2000).

FERRAZ, A., SOUZA, J.A., SILVA, F.T., GONCALVES, A.R., BRUNS, R.E., COTRIM, A.R. Y WILKINS, R.M. "Controlled release of 2,4-D from granule matrix formulations based on six lignins". *J. Agric. Food Chem.* **45**, (1997) 1001-1005.

FRANCI, M., FUSI, P. Y RISTORI, G. G.: "The influence of structural characteristics of two smectites on linuron adsorption." *Agrochemical*, **34**, (1990) 405-410.

FRIJLINK, H.W., SCHOONEN, A.J.M. y LERK, C.F., "The effects of cyclodextrins on drug absorption. I. *In vitro* observations". *Int. J. Pharm.*, **49**, (1989) 91-102.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

FRONZA, G., MELE, A., REDENTI, E. y VENTURA, P., "Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of the inclusion complex of piroxicam with  $\beta$ -cyclodextrin". *J. Pharm. Sci.*, **81**, (12) (1992) 1162-1165.

FUJIOKA, K., KUROSAKI, Y., SATO, S., NOGUCHI, T., NOGUCHI, T. y YAMAHIRA, Y., "Biopharmaceutical study of inclusion complexes. I. Pharmaceutical advantages of cyclodextrin complexes of bencyclane fumarate". *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, (7) (1983) 2416-2423.

GELB, R.I., SCHWARTZ, L.M., MURRAY, C.T. y LAUFER, D.A., "Complexation of 4-biphenylcarboxilate by cyclohexaamyloses. A conductimetric and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectrometric analysis". *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, (1978) 3553-3559.

GERSTL, Z., NASSER, A. y MINGELGRIN, U. "Controlled release of pesticides into soils from clay-polimer formulations". *J. Agric. Food Chem.* **46**, (1998) 3797-3802.

GILES, C. H., MACEWAN, T. H., NEKHWA, S. N. Y SMITH, D.: "Studies in adsorption. Part: XI. A system of classification of solution adsorption isotherm, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and measurement of specific surface area of solids." *J. Chem. Soc.*, (1960) 3973-3993.

GINÉS, J.M., ARIAS, M.J., PÉREZ-MARTÍNEZ, J.I., MOYANO, J.R., MORILLO, E. y SÁNCHEZ-SOTO, P.J. "Determination of the stoichiometry of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid- $\beta$ -cyclodextrin complexes in solution and in solid state". *Thermochim. Acta*, **321**, (1998) 53-58.

GIORDANO F., LA MANNA A., "Molecular inclusion complexes with  $\beta$ -cyclodextrin", *J. Drug Dev.*, **4**, (Supl. 1) (1991) 13-15.

GIORDANO, F., PAVAN, M., LA MANNA, A., BETTINETTI, G.P., PAVESI, L. y BOVIS, G., "Complexation behaviour of vinburnine with  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state". *Il Farmaco ed. pr.*, **43**, (11) (1988) 345-355.

GLOMOT, F., BENKERROUR, L., DUCHENE, D. y POELMAN, M.C., "Improvement in availability and stability of a dermocorticoid by inclusion in  $\beta$ -cyclodextrin". *Int. J. Pharm.*, **46**, (1988) 49-55.

GREEN, A.R., MILLER, E.S. y GUILLORY, J.K., "Physical properties of the complexes formed between heptakis (2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin and chlorambucil". *J. Pharm. Sci.*, **80**, (2) (1991) 186-189.

HARTLEY, G. S. Y GRAHAM-BRYCE, I. J.: Physical principles of pesticides behaviour. Academic Press, London (2 Vols.), 1980.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

HICKMAN, M.V., VAIL, G.D. y SCHREIBER, M.M. "Controlled release formulations reduce atrazine leaching". *Weed Technol.* **28**, (1999) 73-79.

HIGUCHI T., CONNORS K.A., "Phase-solubility techniques", *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **4**, (1965) 117-212.

HIRAYAMA, F., UTSUKI, T., UEKAMA, K., YAMASAKI, M. y HARATA, K., "Prominent inclusion effect of dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin on photoisomerization of the thromboxane synthetase inhibitor (E)-4(1-imidazolylmethyl)cinnamic acid". *J. Pharm. Sci.*, **81**, (8) (1992) 817-822.

ISMAIL, S., "Interaction of anticonvulsivant drugs with alpha- and beta-cyclodextrins I. Methsuximide". *S.T.P. Pharma Sciences*, **1**, (5) (1991) 321-325.

ISMAIL, S., "Interaction of anticonvulsivant drugs with alpha- and beta-cyclodextrins II. Phensuximide". *S.T.P. Pharma Sciences*, **2**, (2) (1992) 181-185.

JOHNSON, R.M. Y PEPPERMAN, A.B. "Soil Column mobility of metribuzin from alginate-encapsulated controlled release formulations". *J. Agric. Food Chem.* **43** (1995) 241-246.

KANAZAWA, J.: "Relationship between the soil sorption constants for pesticide adsorption and their physico-chemical properties." *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**, (1989) 477-484.

JACOBSON, M., "Pesticides of the future, Dekker, New York", 1975.

JOB, P., "Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution et sur leur stabilité". *Ann. Chim.*, **10**, (1928) 113-203.

KAMIYA, M. NAKAMURA, K. y SASAKI, C. "Inclusion effect of CDs on photodegradation rate of parathion and paraoxon in aquatic medium. *Chemosphere*", **28**: (1994) 1961-1966.

KAWAHARA, K., UEDA, H., TOMONO, K. y NAGAI, T., "Effect of diethyl  $\beta$ -cyclodextrin on the release and absorption behaviour of indomethacin from ointment bases". *S.T.P. Pharma Sciences*, **2**, (6) (1992) 506-513.

KITAMURA, S., SHIGETAKA, K. y YASUDA, T., "Moisture adsorption-desorption effect on the structure of inclusion complex of 6-chloro-2-pyridylmethyl nitrate and  $\beta$ -cyclodextrin". *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**, (9) (1990) 611-614.

KRENN, M., GAMCSIK, M.P., VOGELSANG, G.B. y COLVING, O.M., "Improvements in solubility and stability of thalidomide upon complexation with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin". *J. Pharm. Sci.*, **81**, (7) (1992) 685-689.

LEROY-LECHAT, F., WOUESSIDJEW, D., HERRENKNECHT, C. y DUCHENE, D., "Preparation and stability of iodine/ $\alpha$ -ciclodextrin inclusion complex". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **18**, (17) (1992) 1853-1863.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

- LOHMANN, D.G. "Biodegradable polymers and additives in agricultural controlled release systems". *Proceed. Int. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.*, **19** (1992) 170-171.
- LIN, S.Y., "Effect of humidity on the formation and stability of acetaminophen- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16**, (15) (1990) 2221-2241.
- LIN, S.Y., KAO, Y.H. y YANG, J.C., "Grinding effect on some pharmaceutical properties of drugs by adding  $\beta$ -cyclodextrin". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14**, (1) (1988) 99-118.
- LIVERI, V.T., CAVALLARO, G., GIAMMONA, G., PITARRESI, G., PUGLISI, G. y VENTURA, C., "Calorimetric investigation of the complex formation between surfactants and  $\alpha$ - and  $\beta$ -cyclodextrins". *Thermochim. Acta*, **199**, (1992) 125-132.
- LOUX, M.M.; LIEBL, R.A Y SLIFE, F.W.: "Adsorption of imazaquin and imazathapyr on soils, sediments, an selected adsorbents." *Weed Sci.*, **37**, (1989) 712-18.
- MADRID, L. Y DÍAZ-BARRIENTOS, E.: "Effect of phosphate on the adsorption of 2,4-D on lepidocrocite." *Aust. J. Soil Res.*, **29**, (1991) 15-23.
- MAQUEDA, C., MORILLO, E. Y PÉREZ-RODRÍGUEZ, J. L.: "Interaction in aqueous solution of certain pesticides with fulvic acids from a podsol soil." *Soil Sci.*, **148**, (1989) 336-345.
- MAQUEDA, C., MORILLO, E., MARTÍN, F. Y UNDABEYTIA, T.: "Interaction of pesticides with the soluble fraction of natural and artificial humic substances." *J. Environ. Sci. Health*, **B28**, (1993) 655-670.
- MAQUEDA, C., MORILLO, E., PÉREZ-RODRÍGUEZ, J. L. Y JUSTO, A.: "Adsorption of chlordimeform by humic substances from different soils." *Soil Sci.*, **150**, (1990) 431-437.
- MARGULIES, L., STERN, T., RUBIN, B. y RUZO, L.O. "Photostabilisation of trifluralin adsorbed on a clay matrix". *J. Agric. Food Chem.* **40**, (1992) 152-155.
- MARGULIES, L., ROZEN, H., STERN, T., RYTWO, G., RUBIN, B., RUZO, L.O., NIR, S. y COHEN, E. "Photostabilization of pesticides by clays and chromophores". *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **22**, (1993) 467-486.
- MARGULIES, L., ROZEN, H. y COHEN, E. "Energy transfer at the surface of clays and protection of pesticides from photodegradation". *Nature*, **315**, (1985) 658-659.

MARSHALL, M., WELLINGHOFF, S., BRAZEL, C., ALEXANDER, M., AKATAGAWA, S. (1999). "Controlled delivery of pesticides through synthetic biodegradable polymer compositions. En: Controlled Release Delivery Systems for Pesticides (Scher, Ed.) Marcel Dekker, New York.: 263-294,4, 117-212 (1965).

MATSUDA, H., ITO, K., TANAKA, M., TAKI, A. y SUMIYOSHI, H., "Inclusion complexes of various fragrance materials with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin". *S.T.P. Pharma. Sciences*, 1, (3) (1991) 211-215.

MATSUYAMA, K., EL-GIZAWY, S. y PERRIN, J.H., "Thermodynamics of binding of aromatics aminoacids to  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrin". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 13, (15) (1987) 2687- 2691.

MAZZI, G., VINCIERI, F.F., FORNI, F., MULINACCI, N. y CELLI, S., "Formation of inclusion complex between the non-steroidal anti-inflammatory drug (RS)-2-(4-isobutylphenyl)-propiohydroxamic acid and  $\beta$ -cyclodextrin". *Acta Pharm. Technol.*, 34, (1) (1988) 17 -21.

MICHOT, L.J., PINNAVAIA, T.J. "Adsorption of chlorinated phenols from aqueous solution by surfactant modified pillared montmorillonites". *Clays Clay Miner.* 39, (1991) 634-641.

MILLS, M.S. y THURMAN, E.M. "Reduction of nonpoint-source contamination of surface and groundwater by starch encapsulated atrazine". *Environ. Sci. Technol.* 28: (1994) 73-79.

MISHAEL, G.Y., RYTWO, G., NIR, S., CRESPI, M., ANNABI-BERGAYA, F. VAN DAMME, H. "Interactions of monovalent organic cations with pillared clays". *J. Colloid. Interface Sci.* 209, (1999) 123-129.

MORILLO, E., FERNÁNDEZ-URRUSUNO, R., ARIAS, M.J., PÉREZ-MARTÍNEZ, J.I. y GINÉS, J.M. "Study of complexation between the pesticide chlorpyrifos and  $\beta$ - and HP- $\beta$ -cyclodextrins". : *Proc. 9th Int. Symp. on Cyclodextrins. Torres Labandeira and Vila Jato (eds.). Kluwer Academic Publishers:* (1998) 595-599.

MORILLO, E., PÉREZ-RODRÍGUEZ, J. L. Y MAQUEDA, C.: "Mechanisms of interaction between montmorillonite and 3-aminotriazole." *Clay Miner.*, 26, (1991) 269-279.

MORTLAND, M.M. "Pyridinium montmorillonite complexes with ethyl N,N-di-n-propylthiocarbamate (EPTC)". *J. Agric. Food Chem.* 16, (1968) 706-707.

MOYANO J.R., ARIAS-BLANCO M.J., GINÉS J.M., GIORDANO F., "Study of complexation behaviour of gliclazide with partially methylated  $\beta$ -cyclodextrin in solution and solid state", *Int. J. Pharm.* 157, (1997) 239-243.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K. y EL-GENDY, G.A., "Effects of solid dispersion with Heptakis-(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin on the dissolution and sublimation of naphthalene". *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, (10) (1988) 4039-4044.

NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K. y WATANABE, D., "New methods for preparing cyclodextrin inclusion compounds I. Heating in a sealed container". *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, (11) (1987) 4609-4615.

NIR, S., BENTZ, J., WILSCHUT, J., DUZGUNES, N. "Aggregation and fusion of phospholipid vesicles". *Progress in Surface Science, Vol 13. Pergamon Press*: (1983) 1-124.

NIR, S. UNDABEYTIA, T., YARON-MARCOVICH, D., EL-NAHHAL, Y., POLUBESOVA, T., SERBAN, C., RYTWO, G., LAGALY, G. Y RUBIN, B "Optimization of adsorption of hydrophobic herbicides on montmorillonite preadsorbed by monovalent organic cations: Interaction between phenyl rings". *Environ. Sci. Technol.* (en prensa), (2000).

NOVAK, C., ARIAS, M.J., GINES, J.M., IZVEKOV, V. y POKOL, G., "Investigation of the cyclodextrin complexes of mandelic acid derivatives". *Proceedings 7<sup>th</sup> International Cyclodextrins Symposium*, Tokyo, Abril, (1994), pp. 206-209.

ORR, G.L. y HOGAN, M.E. "UV-A photooxidation of b-carotene in Triton X-100 micelles by nitrodiphenyl ether herbicides". *J. Agric. Food Chem.* **33**, (1985) 968-972.

PEREZ-MARTINEZ J.I., GINES J.M., ARIAS M.J., MOYANO J.R., RABASCO A.M., MORILLO E., "Preparation and characterization of 2,4-D complexes with beta-cyclodextrin", *Proceedings of 14<sup>th</sup> Pharmaceutical Technology Conference, Barcelona, Abril, 1995*, pp. 235-251.

PEPPERMAN, A.B. y KUAN, J.W. "Slow release formulations of metribuzin based on alginate-kaolin-linseed oil". *J. Control Rel.* **26**, (1993), 21-30.

PETER, C.J., WEBER, J.B. "Adsorption, mobility and efficacy of alachlor and metolachlor as influenced by soil properties". *Weed Sci.* **33**, (1985) 874-881.

PICCOLO, A., CELANO, G. Y CONTE, P.: "Interactions between herbicides and humic substances." *Pestic. Outlook*, **7**, (1996) 21-24.

PITHA, J., ANAISSIE, E.J. y UEKAMA, K., " $\gamma$ -cyclodextrin: testosterone complex suitable for sublingual administration", *J. Pharm. Sci.*, **76**, (10) (1987) 788-790.

POLUBESOVA, T., UNDABEYTIA, T., NIR, S., CHERTKOVA, L. VAN DAMME, H. y ANNABI-BERGAYA, F. "Adsorption of sulfometuron and other anions on pillared clay". *J. Environ. Qual.* (en prensa) (2000).

PRASAD, M.P. y KALYANASUNDARAM, M. "Effect of the incorporation of gelatin, an interactive polymer, on the matrix stability and release of fenthion from crosslinked matrices of carboxymethylcellulose". *J. Control Rel.* **27**, (1993) 219-225.

PUGLISI, G., SANTAGATI, N.A., PIGNATELLO, R., VENTURA, C., BOTTINO, F.A., MANGIAFICO, S. y MAZZONE, G., "Inclusion complexation of 4-biphenylacetic acid with  $\beta$ -cyclodextrin". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16**, (3) (1990) 395-413.

PUSINO, A., MICERA, G. Y GESSA, C.: "Interaction of herbicide acifluorfen with montmorillonite: formation of insoluble Fe (III), Al (III) and Ca (II) complexes." *Clays and Clay Miner.*, **39**, (1991) 50-53.

ROLDÁN, I., HERMOSÍN, M. C. Y CORNEJO, J.: "Interaction of a pyridazine herbicide with montmorillonite and lepidocrocite." II. Workshop Pesticides-soils. Alicante. (1991).

ROLDÁN, I.; HERMOSÍN, M.C. Y CORNEJO, J.: "Interaction of pyridazine herbicide with montmorillonite and lepidocrocite." II. Work shop Pesticides soils. Alicante, (1991).

ROOF, A.A.M. "Basic principles of environmental photochemistry". The handbook of Environmental Chemistry. Vol. 2 Part. B.

SÁNCHEZ-MARTÍN, M. J. Y SÁNCHEZ-CAMAZANO, M.: "Adsorption of chloridazon by montmorillonite." *Chemosphere*, **16**, (1987) 937-944.

SCOTT, R.L., "Some comments on the Benesi-Hildebrand equation". *Rec. Trav. Chim.*, **75**, (1956) 787-789.

SEKIKAWA, H., FUKUDA, N., TAKADA, M., OHTANI, K. ARITA, T. y NAKANO, M., "Dissolution behaviour and gastrointestinal absorption of dicumarol from solid dispersion system of dicumarol-polivynilpirrolidone and dicumarol- $\beta$ -cyclodextrin". *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, (4) (1983) 1350-1356.

SHANGRAW, R.F., PANDE, G.S. y GALA, P., "Characterisation of the tableting properties of  $\beta$ -cyclodextrin and the effects of processing variables on inclusion complex formation, compactibility and dissolution". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **18**, (17) (1992) 1831-1851.

SCHER, H.B. (ED.) "Controlled-Release Delivery Systems for Pesticides. Marcel Dekker, New York" . (1999).

STEFFAN, B., FISCHER, W., CORDES, G., HABON, I. y MÜLLER, R., "<sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance (NMR) studies on the inclusion complex of

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) with  $\alpha$ -cyclodextrin". *Pharm. Res.*, **9**, (4) (1992) 575-577.

SZEJTLI, J. "Cyclodextrins and their Inclusion Complexes". Akadémiai Kiadó, Budapest. (1982).

SZENTE, L. "Stable controlled-release organophosphorous pesticides entrapped in  $\beta$ -cyclodextrin". *J. Thermal Anal.* **51**, (1998) 957-963.

SI-NANG, L., BOBIER-RIVAL, C., SEJALON, C. y POURRAT, A., "Use of  $\beta$ -cyclodextrin to enhance solubility of CERM 11884: potential value in preformulation". *Pharm. Acta Helv.*, **64**, (7) (1989) 188-191.

SI-NANG, L., CHAPERON, F., LEINOT, M. y POURRAT, A., "Enhancement of pharmacological activity of CERM 3276 with a ground mixture of  $\beta$ -cyclodextrin in mice". *Pharm. Acta Helv.*, **62**, (12) (1987) 335-336.

SRINIVASAN, K.R. y FOGLER, H.SU "Use of inorgano-organoclay in the removal of priority pollutants from industrial waste waters". *Clays Clay Miner.* **38**, (1990) 277-293.

SUENAGA, A., BEKERS, O., BEIJNEN, J.H., UNDENBERG, W.J.M., TANIMOTO, T., KOIZUMI, K. y OTAGIRI, M., "Stabilisation of daunorubicin and 4-demethoxydaunorubicin on complexation with octakis(2,6-di-O-methyl)- $\gamma$ -cyclodextrin in acidic aqueous solution". *Int. J. Pharm.*, **82**, (1992) 29-37.

SZAFRANEK, A. y SZAFRANEK, J., "Thermogravimetric properties of inclusion complexes of  $\beta$ -cyclodextrin with benzene, acetylsalicylic acid and methyl salicylate". *J. Incl.. Phenome.*, **15**, (1993) 351-358.

SZEJTLI, J. "Cyclodextrins in pesticides". En: *Cyclodextrin Technology*". Reidel, Dordrecht. (1988).

TABOADA, E. R., DEKKER, A., VAN KAMMEN-POLMAN, A., SMELT, J. H., BOESTEN, J. Y LEISTRA, M.: "Adsorption, degradation and leaching of pirimicarb in orchard soils". *Sci. Total Environ.*, **153**, (1994) 253-260,.

TAN, X. y LINDENBAUM, S., "Studies on complexation between  $\beta$ -cyclodextrin and bile salts". *Int. J. Pharm.*, **74**, (1991) 127-135.

TOUS, S.S., "Availability of nitrofurantoin/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex". *S.T.P. Pharma Sciences*, **6**, (9) (1990) 635-643.

UEKAMA, K. y OTAGIRI, M., "Comparative study on inclusion complexation of  $\beta$ -cyclodextrin and tri-O-methyl- $\beta$ -cyclodextrin". *Acta Pharm. Suec.*, **6**, (21), (1984) 357-365.

UEKAMA, K. y OTAGIRI, M., "Comparative study on inclusion complexation of  $\beta$ -cyclodextrin and tri-O-methyl- $\beta$ -cyclodextrin". *Acta Pharm. Suec.*, **6**, (21), (1984) 357-365.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

UEKAMA, K., IKEGAMI, K., WANG, Z., HORIUCHI, Y. y HIRAYAMA, F., "Inibitory effect of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on chrystal growth of nifedipine during storage: superior dissolution and oral bioavailability compared with polyvinylpyrrolidone K-30". *J.Pharm. Pharmacol.*, **44**, (1992) 73-78.

UEKAMA, K., OH, K., OTAGIRI, M., SEO, H. y TSURUOKA, M., "Improvement of some pharmaceutical properties of clofibrate by cyclodextrin complexation". *Pharm Acta Helv.*, **58**, (1983) 12338-342.

UKRAINCZYK, L. Y AJWA, H.A.: "Pimisulfuron adsorption on minerals and soils." *Soil Sci. Am. J.*, **60**, (1996) 460-67.

VAN DOORNE, H. y BOSCH, E.H., "Stability and in vitro activity of nystatin and its  $\gamma$ -cyclodextrin complex against *Candida albicans*". *Int. J. Pharm.*, **73**, (1991) 43-49.

VASILAKOGLU, I.B., ELEFTHEROHORINOS, I.G., Dhima, K.B. "Activity, adsorption and mobility of three acetanilide and two new amide herbicides". *Weed Res.* **41**, (2001), 535-543.

VIKMON, M., STADLER-SZÖKE, A. y SZEJTLI, J., "Solubilization of amphotericin-B with  $\gamma$ -cyclodextrin." *J. Antibiotics*, **38**, (12) (1985) 1822-1823.

VILLEDIEU, J.C., SAVIGNAC, A. y CALMON, J.P "Kinetics and mechanisms of hydrolisis of dicarboximide fungicides in micellar media". *J. Agric. Food Chem.* **43**, (1995) 1948-1953.

WANG, X. y BRUSSEAU, M.L "Solubilization of some low polarity organic compounds by HP- $\beta$ -CD". *Environ. Sci. Technol.* **27**, (1993) 2821-2825.

WEBER, J. B. Y SWAIN, L. R.: "Sorpton of diniconazole and metolachlor by four soils, calcium-organic matter and calcium-montmorillonite." *Soil Sci.*, **156**, (1993) 171-177.

WHITE, R. E., DYSON, J. S., GERSTL, Z. Y YARON, B.: "Leaching of herbicides through undisturbed cores of a structured clay soil." *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **50**, (1986) 277-283.

WIETERSEN, R. C., DANIEL, T. C., FERMANICH, K. J., LOWERY, B. Y MCSWEENEY, K.: "Irrigation and polymer effects on herbicide transport through the unsaturated zone of Sparta." *Sand. J. Environ. Qual.*, **22**, (1993) 819-824.

WILKINS, R.M "Lignins as formulating agents for controlled release in agriculture". *Brit. Polymer. J.* (1983) 177-178.

ZEPP, R.G. " Experimental approaches to environmental photochemistry".The handbook of Environmental Chemistry. Vol. 2 Part. B.

*Aplicación del complejo de inclusión  $\beta$ -cd-norflurazon para la descontaminación de suelos.*

ZIELKE, R.C. y PINNAVAIA, T.J." Modified clay for the adsorption of environmental toxications: binding of chlorophenols to pillared, delaminated and hydroxyinterlayered smectites". *Clays Clay Miner.* **36**, (1988) 403-406.