

UNIVERSIDAD DE CHILE



3 5601 15480 7891



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica

Laboratorio de Bioelectroquímica

"ESTUDIO ELECTROQUIMICO Y
ESPECTROFOTOMETRICO DE COMPLEJOS DE
INCLUSION BENTAZONA/CICLODEXTRINA"

Director de Memoria

Dra. Claudia Andrea Yáñez Soto

Patrocinante:

Dra. Soledad Viviana Bollo Dragnic

Memoria para optar al Título Profesional de Químico

MAURICIO ANTONIO ARAYA QUIJADA

Santiago, Chile

2008

5e
08



UNIVERSIDAD DE CHILE

**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica
Laboratorio de Bioelectroquímica**

**“ESTUDIO ELECTROQUÍMICO Y
ESPECTROFOTOMÉTRICO DE COMPLEJOS DE
INCLUSIÓN BENTAZONA/CICLODEXTRINA”**

**Profesor Patrocinante y Director de Memoria
Dra. Claudia Andrea Yáñez Soto**

Memoria para optar al Título Profesional de Químico

MAURICIO ANTONIO ARAYA QUIJADA

Santiago, Chile

2008

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primeros términos a mi madre porque gracias al esfuerzo de ella esta vida me ha dado la posibilidad de estar en estas instancias y cumplir mis sueños en todo ámbito, también a mi hermano y mi familia por estar conmigo en todo momento.

No puedo dejar de agradecer a la Dra. Claudia Yáñez, por confiar en mí, por su eterna paciencia, por los conocimientos y los buenos momentos que compartimos siempre.

Me hace mucho agradecimiento al grupo humano del Laboratorio de Farmacología, a los profesores y asistentes. A la Dra. Soledad Boile, al prof. Arturo Squella, al prof. Luis Núñez, al prof. Juan Sturm. A Paola, Ricardo y Sebastián por su ayuda. En particular a Marcia, Magdalena y Claudie que hicieron que mi estadía en el laboratorio fuera demasiado agradable.

A mis amigos Marcos, Juan, Carillos, Carmen, Oscar, Muka, Paul y Gonzalo gracias por la amistad que me brindaron y los inolvidables momentos que hemos vivido y que vendrán.

Con mucho amor para mi mamá y mi hermano, por su apoyo sin condición

Gracias Nety por ser como eres, por entregarme tu amor.

A mis compañeros de Volley que más que un equipo somos un grupo de amigos que por fin logramos resultados.

Y muchas gracias a todos los funcionarios y académicos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, que me apoyaron a lo largo de toda mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primeros términos a mi madre porque gracias al esfuerzo de toda una vida me ha dado la posibilidad de estar en estas instancias y cumplir mis sueños en todo ámbito, también a mi hermano y mi familia por apoyarme en todo momento.

No puedo dejar de agradecer a la Dra. Claudia Yáñez, por confiar en mí, por su eterna paciencia, por los conocimientos y los buenos momentos que compartimos siempre.

Mi más sincero agradecimiento al grupo humano del Laboratorio de Bioelectroquímica: a los profesores y tesistas. A la Dra. Soledad Bollo, al prof Arturo Squella., al prof. Luis Núñez, al prof. Juan Sturm. A Paola, Ricardo y Sebastián por su ayuda. En particular a Marcia, Magdalena y Claudio que hicieron que mi estadía en el laboratorio fuera demasiado agradable.

A mis amigos Marcos, Juan, Carlitos, Carmen, Oscar, Maka, Paul y Gonza, gracias por la amistad que me brindaron y los inolvidables momentos que hemos vivido y que vendrán.

Gracias Naty por ser como eres, por entregarme tu amor.

A mis compañeros de Volley que más que un equipo somos un grupo de amigos que por fin logramos resultados.

Y muchas gracias a todos los funcionarios y académicos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, que me apoyaron a lo largo de toda mi carrera.

RESUMEN

En la presente memoria se informan los resultados del comportamiento electroquímico y espectrofotométrico del complejo de inclusión formado por la interacción de bentazona con β -ciclodextrina (β -CD) y sulfobutileter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD) en solución, y una evaluación espectroscópica (IR) de la formación del complejo en estado sólido. El estudio en solución se efectuó en medio acuoso haciendo uso de técnicas electroquímicas como voltametría de pulso diferencial (VPD) y voltametría cíclica (VC) y técnica espectrofotométrica UV-visible.

Bentazona presentó una respuesta anódica correspondiente a su oxidación electroquímica en medio acuoso (buffer fosfato 0,1M). La intensidad de corriente disminuyó a medida que aumentó la concentración de las ciclodextrinas (CDs) lo que evidenció la formación de un complejo de inclusión. La variación de la corriente asociada a la concentración de las CDs permitió obtener las constantes de formación del complejo de inclusión.

Por espectrofotometría UV-Visible se determinó el aumento de solubilidad de bentazona en presencia de las CDs que resultó ser de 1,8 y 8,6 veces para β -CD y SBE- β -CD, respectivamente.

Por medio de espectroscopía IR se observó una disminución en la intensidad de las señales correspondientes a la bentazona cuando interactúa con las CDs pudiendo evidenciar la formación del complejo de inclusión.

Bentazona mostró una menor afinidad por la β -CD, lo que se refleja en los valores inferiores de constante de formación y solubilidad en comparación con la SBE- β -CD.

Electrochemical and spectrophotometric study of bentazone-cyclodextrin inclusion complexes.

SUMMARY

In the present thesis, the electrochemical and chromatographic behaviour of bentazone-cyclodextrin inclusion complexes was studied. β -cyclodextrin and sulfobutylether- β -cyclodextrin, and a spectroscopic behaviour of the interaction in solid state formed were used. The electrochemical study was carried out in aqueous media using differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV). In addition, spectrophotometric experiment was carried out.

3.1.1 Reactivos y Solventes

The electrochemical oxidation of bentazone on glassy carbon electrode in aqueous media (Phosphate buffer 0.1M) was observed. The addition of CD to the aqueous solution causes changes in the voltammograms. With the increase of the amount of CD, the anodic peak current (I_{pa}) decreased. These results were ascribed to the formation of the inclusion complexes. The decrease of peak currents with the increase of concentrations of CD was used to apply the current titration procedure in order to calculate the formation constants.

3.2.1 Preparación de Soluciones

The increase of bentazone solubility by CDs was measured by UV-Visible. The solubility increase more than 8 times with SBE- β -CD.

C. Solución de Trabajo

A decrease in the intensity of the bentazone signals when the CDs interacting was measured by IR spectroscopy.

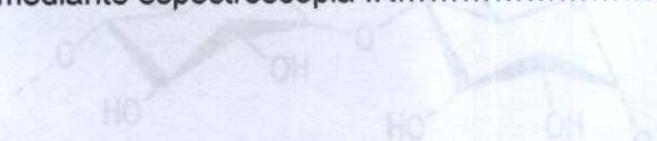
B. Voltametría de Pulso Diferencial

Bentazone showed an affinity to β -cyclodextrin smaller than sulfobutylether- β -cyclodextrin, due to of smaller values of formation constants and solubility were obtained.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS DE LA MEMORIA.....	7
2.1 Objetivo General.....	7
2.2 Objetivos Específicos.....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1 Materiales y Equipos.....	8
3.1.1 Reactivos y Solventes.....	8
3.1.2 Material de Vidrio.....	9
3.1.3 Equipos.....	9
A. Equipos de uso general.....	9
B. Sistema Voltamétrico y Computacional.....	10
C. Sistema espectroscópico UV-vis.....	10
3.2 Métodos.....	11
3.2.1 Preparación de Soluciones.....	11
A. Solución Stock de Bentazona.....	11
B. Solución Tampón.....	11
C. Solución de Trabajo.....	11
3.2.2 Caracterización Electroquímica.....	12
A. Voltametría Cíclica.....	12
B. Voltametría de Pulso Diferencial.....	14
C. Voltametría de Pulso Diferencial con ciclodextrinas en solución.....	15

3.2.3 Caracterización Espectroscópica.....	16
3.2.4 Formación de complejo de inclusión en estado sólido.....	18
A. Método de evaporación al vacío.....	18
B. Método Kneeding.....	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1 Comportamiento electroquímico de Bentazona.....	19
4.1.1 Efecto del pH.....	19
4.1.2 Efecto de la velocidad de barrido sobre la señal.....	20
4.2 Caracterización electroquímica del complejo de inclusión bentazona-CD.....	24
4.3 Estudio Espectrofotométrico.....	29
4.4 Formación del complejo de inclusión en estado sólido Y estudio mediante espectroscopia IR.....	36
5. CONCLUSIONES.....	42
6. REFERENCIAS.....	43



Una de las características de las ciclodextrinas es que poseen una estructura única (figura 1.2.B), con una cavidad interior hidrofóbica compuesta por los oxígenos glucosídicos y los hidrógenos metilénicos, y una superficie hidrofílica debido a los hidroxilos en las posiciones 2, 3 y 6.[1]

1. INTRODUCCIÓN

Las ciclodextrinas (CDs) son un grupo de oligosacáridos cíclicos obtenidos a partir de la degradación enzimática del almidón, formado por distinto número de residuos de D(+) glucopiranososa unidos mediante enlaces α (1-4), como se muestra en la figura 1.1. Las principales CDs naturales poseen 6 (α -CD), 7 (β -CD) u 8 (γ -CD) unidades de glucosa (figura 1.2,A), siendo la β -CD la más estudiada. El derivado sintético sulfobutileter- β -CD (SBE- β -CD) (figura 1.3), presenta una mayor solubilidad en agua, debido a que posee un grupo extra ($R = (\text{CH}_2)_4 \text{SO}_3\text{Na}$) que le confiere una mayor afinidad con las moléculas de agua (figura 1.3).

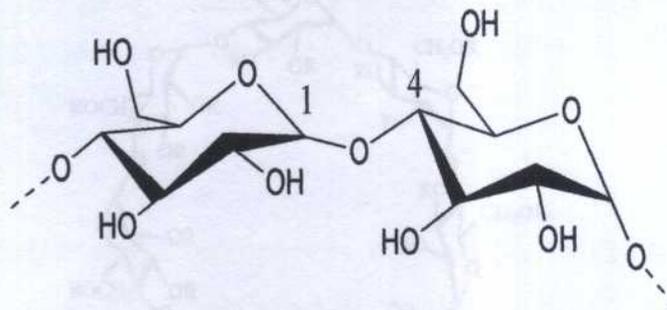


Fig. 1.1 Representación del enlace α (1-4) de la ciclodextrina

Una de las características de las ciclodextrinas es que poseen una estructura toroidal (figura 1.2,B), con una cavidad interior hidrofóbica compuesta por los oxígenos glucosídicos y los hidrógenos metilénicos, y una superficie hidrofílica debido a los hidroxilos en las posiciones 2, 3 y 6.[1]

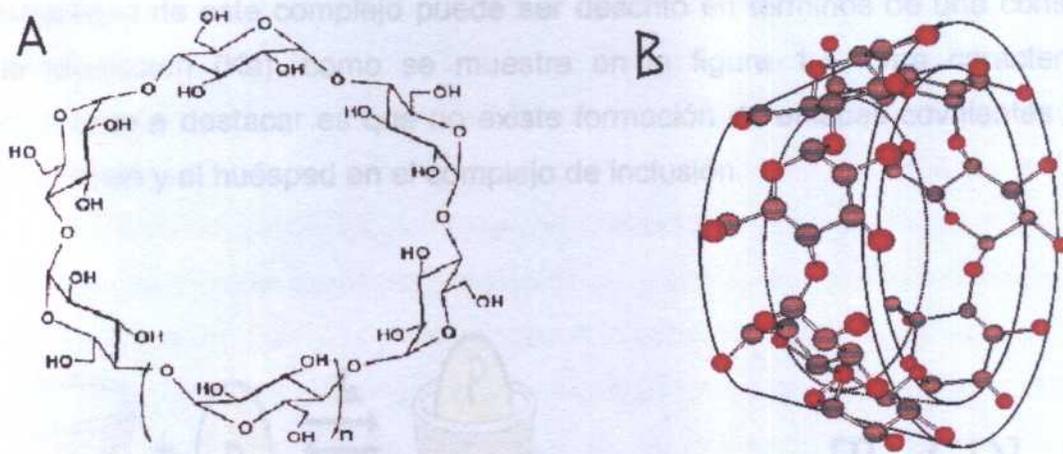


Fig. 1.2 (A) Estructura química de la ciclodextrina (n= 1, 2 o 3, para α-CD, β-CD y γ-CD, respectivamente); (B) Forma toroidal de la molécula β-CD.

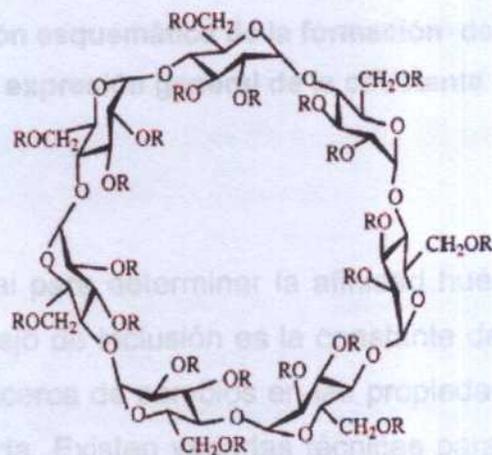


Fig 1.3 Estructura química SBE- β-CD (R= $(\text{CH}_2)_4 \text{SO}_3\text{Na}$)

La característica más importantes de las CDs es su capacidad para formar complejos de inclusión en solución y en estado sólido con una gran variedad de moléculas "huésped" (llámese cualquier molécula orgánica e inorgánica capaz de ingresar a la cavidad que se forma en la CD).

La formación del complejo de inclusión es un proceso de equilibrio dinámico y la estabilidad de este complejo puede ser descrito en términos de una constante de asociación (K_a), como se muestra en la figura 1.4. Otra característica importante a destacar es que no existe formación de enlaces covalentes entre el anfitrión y el huésped en el complejo de inclusión.

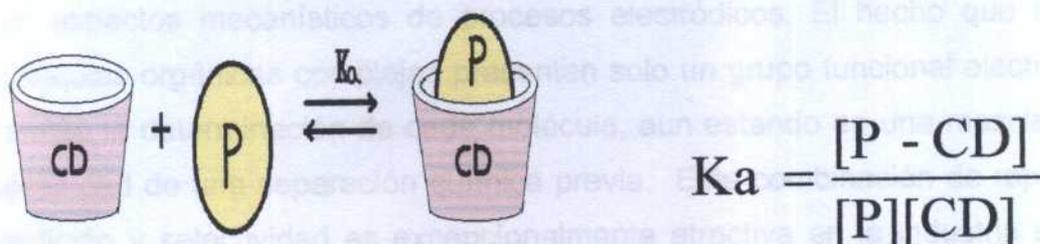


Fig. 1.4 Representación esquemática de la formación del complejo de inclusión pesticida/ β -CD y expresión general de la constante de asociación (K_a).

Un parámetro esencial para determinar la afinidad huésped/ciclodextrina en la generación del complejo de inclusión es la constante de formación (K_f), ya que entrega información acerca de cambios en las propiedades fisicoquímicas de la molécula al ser incluida. Existen variadas técnicas para la determinación de la constante de formación de un amplio número de complejos de inclusión: absorción UV-visible por medio de diagramas de solubilidad de fases [2-4], H-NMR [5], fluorescencia [6], HPLC [7, 8].

Sumada a las técnicas mencionadas anteriormente se han usado métodos electroquímicos [9-11]. Las técnicas electroquímicas han mostrado ser suficientemente sensibles para bajas concentraciones de especie electroactiva, han sido aplicadas gracias al buen desarrollo de la teoría junto con la facilidad de acceder a los datos experimentales, proveen una información útil sobre la naturaleza de las especies oxidadas o reducidas de los compuestos estudiados, también nos permite monitorear cambios muy sutiles del medio molecular junto con aspectos mecanísticos de procesos electródicos. El hecho que muchas moléculas orgánicas complejas presenten solo un grupo funcional electroactivo permite la determinación de cada molécula, aun estando en una mezcla, sin la necesidad de una separación química previa. Esta combinación de rapidez de medición y selectividad es excepcionalmente atractiva en la industria química moderna.

Con respecto a las fuerzas de enlace que rigen la interacción ciclodextrina-huésped, se ha encontrado que las interacciones hidrofóbicas, dipolo-dipolo, fuerzas de Van der Waals y formación de puentes de hidrógeno [12-15] influyen en la formación de los complejos de inclusión.

En la industria farmacéutica, las ciclodextrinas son ampliamente usadas para mejorar la estabilidad química, para aumentar la solubilidad en agua de fármacos no polares, y consecuentemente su biodisponibilidad o para modificar algunas características fisicoquímicas, junto con promover una liberación controlada de algunas drogas [16]. Sin embargo, desde la década pasada las ciclodextrinas han despertado gran interés y atención en otros campos, como en la agricultura, tecnologías en nanocompuestos, cromatografía, biotecnología y también estudios para ser utilizado como suplemento dietético, etc., debido al relativamente bajo costo que conlleva la producción de estos compuestos.

Por otro lado, el uso de pesticidas se hace imprescindible para la industria agrícola, a pesar de poseer problemas con la salud y medio ambiente al ser aplicados en altas dosis, puesto que existe una disminución de la eficiencia debido a mecanismos de pérdida del componente activo como son, por ejemplo evaporación, hidrólisis y degradación en contacto con la luz entre otros. El excesivo uso de pesticidas tiende a reducir la actividad biológica de los suelos, además de provocar un impacto negativo en la biodiversidad de estos. Es por esto que se hace necesario estudiar e implementar aditivos que puedan interactuar con el pesticida con el fin de mejorar su eficiencia, como por ejemplo, es el uso de ciclodextrinas, aunque aún es muy bajo su nivel de aplicación.

Muchos pesticidas sintéticos pueden formar complejos de inclusión con ciclodextrinas [17], a menudo resultan en mejoras en sus propiedades químicas y físicas, tales como solubilidad y biodisponibilidad [18-21], incremento en la estabilidad de pesticidas fotodegradables y/o pesticidas inestables [22, 23], efectos catalíticos sobre la degradación de pesticidas [24], disminución de olor y sabor desagradable y liberación controlada [25], disminución de la toxicidad al contacto para humanos [26], etc. Además, las ciclodextrinas son biodegradables, naturales, compuesto no-tóxicos, inofensivos para microorganismos, y por lo tanto, no perniciosos para el medio ambiente [27, 28].

De esta manera, en este trabajo de memoria se estudiará la interacción, tanto en solución como en estado sólido entre bentazona con β -CD como con su derivado SBE- β -CD

Fig. 1.6 Estructura química de bentazona

2. OBJETIVOS DE LA MEMORIA

Bentazona (figura 1.5) es un herbicida de post-emergencia usado para el control selectivo de malezas de hoja ancha (dicotiledóneas) como yuyo, manzanillón, ortiga, chamico, duraznillo, etc. Esta benzotiadiazina es un inhibidor fotosintético (fotosistema II), es un herbicida de contacto que presenta una lenta absorción foliar, se aplica en cultivos de frejol, arveja, maíz, trigo, arroz y soya entre otros. [29, 30].

Considerando las propiedades de las CDs y el amplio uso de la bentazona resulta interesante estudiar una formulación con β -CD y SBE- β -CD tanto en solución como en estado sólido, con el fin de mejorar por ejemplo la estabilidad química que presenta bentazona debido a la fotodegradación, por medio de una liberación controlada se podría aumentar el contacto de este herbicida con las hojas de maleza, etc.

• Estudiar el efecto de la concentración de ciclodextrinas (β -CD y SBE- β -CD) en el comportamiento electroquímico de bentazona.

• Determinar la constante de asociación (K_a) mediante las electroquímicas.

• Estudiar la formación de un complejo de inclusión entre bentazona y las ciclodextrinas CDs, determinando el aumento de solubilidad debido a la formación de un complejo de inclusión y los cambios de asociación de dicho complejo mediante espectrofotometría UV-visible.

• Obtener un complejo sólido bentazona- β -CD y bentazona- SBE- β -CD mediante evaporación al vacío y mezclado (kneading) y evaluar mediante espectroscopia IR la formación de los complejos en estado sólido.

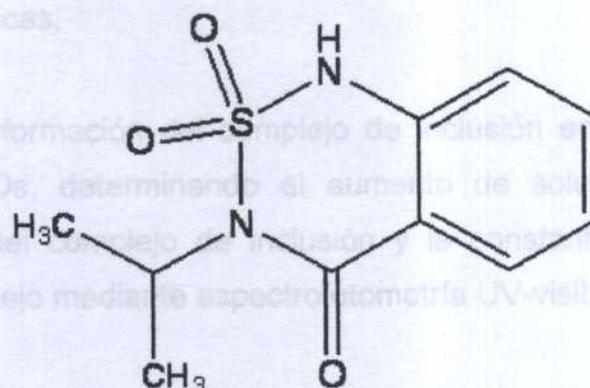


Fig. 1.5 Estructura química de bentazona

2. OBJETIVOS DE LA MEMORIA

2.1 Objetivo General

El objetivo de este trabajo es estudiar la interacción de bentazona con CDs y obtener las constantes de asociación de los complejos de inclusión haciendo uso de técnicas electroquímicas y espectrofotométrica, además de una evaluación del complejo de inclusión en estado sólido. El estudio se llevará a cabo utilizando dos tipos de CDs: betaciclodextrina (β -CD) y sulfobutileter-betaciclodextrina (SBE- β -CD).

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar un estudio electroquímico de bentazona en solución acuosa
- Estudiar el efecto de la concentración de ciclodextrinas (β -CD y SBE- β -CD) en el comportamiento electroquímico de bentazona.
- Determinar la constante de asociación (K_a) mediante técnicas electroquímicas.
- Estudiar la formación del complejo de inclusión entre bentazona y las distintas CDs, determinando el aumento de solubilidad debido a la formación del complejo de inclusión y la constante de asociación de dicho complejo mediante espectrofotometría UV-visible.
- Obtener un complejo sólido bentazona- β -CD y bentazona- SBE- β -CD mediante evaporación al vacío y mezclado (kneeding) y Evaluar mediante espectroscopía IR la formación de los complejos en estado sólido.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y Equipos

3.1.1 Reactivos y Solventes

- Bentazona 99,5%, CHEM SERVICE, P.O. Box 599. West Chester, PA 19381-0599
- β -Ciclodextrina 99.9%, CALBIOCHEM.
- Sulfobutileter- β -Ciclodextrina. SBE β CD, CAPTISOL $\text{\textcircled{C}}$.
- Fosfato de sodio dibásico dodecahidratado, J.T BAKER..
- Agua pureza Milli-Q (18,2M Ω cm).
- Ácido ortofosfórico , p.a. Merck.
- Nitrógeno extra puro (99,9%) AGA Chile S.A.
- Alúminas de 0,3 y 0,05 μm .
- Hidróxido de sodio (pellets) p.a Merck.
- Ácido clorhídrico (36%) p.a. Reutter.
- Etanol absoluto (EtOH) (99,8%) p.a., Merck.

3.1.1 Materiales Electroquímicos y Computacional

3.1.2 Material de Vidrio

- Todo el material de vidrio utilizado fue de clase A

Celda electroquímica BAS (10 mL)

Electrodo de trabajo: Carbón vítreo

Electrodo de Referencia: Ag/AgCl

Electrodo Auxiliar: Alambre de Platino

3.1.3 Equipos

Computador Pentium II Gateway para adquisición y procesamiento de datos

A. Equipos de uso general

- Balanza de precisión, Precisa 40 SM-200, sensibilidad 0,01 mg.
- Balanza granataria PJ Precisa Junior 500C (sensibilidad 1 mg).
- Medidor de pH WTW modelo pMx 3000
- Sistema purificador de agua Milli-Q Ultra-Pure Water System.
- Sonicador Branson Branson 2210, modelo UV-2.
- Agitador Magnético para control del instrumento.

II Sistema Electroquímico y Computacional

3.1.2 Material de Vidrio

- Todo el material de vidrio utilizado fue de clase A

- Celda electroquímica BAS (10 mL)
- Electrodo de trabajo: Carbón vítreo
- Electrodo de Referencia: Ag/AgCl
- Electrodo Auxiliar: Alambre de Platino

3.1.3 Equipos

- Sistema Computacional Pentium II 32 away para adquisición y almacenamiento de datos.

A. Equipos de uso general

- Balanza de precisión, Precisa 40 SM-200, sensibilidad 0,01 mg.
- Balanza granataria PJ Precisa Junior 500C (sensibilidad 1 mg).
- Medidor de pH WTW modelo pMx 3000
- Sistema purificador de agua Milli-Q Ultra-Pure Water System.
- Sonicador Bransonic Branson 2210, modelo UV-2.
- Agitador Magnético 1 para control del instrumento

B. Sistema Electroquímico y Computacional

- Analizador voltamétrico BAS CV-50W
- Celda electroquímica:
 - Celda electroquímica BAS (10 mL)
 - Electrodo de trabajo: Carbón vítreo
 - Electrodo de Referencia: Ag/AgCl
 - Electrodo Auxiliar: Alambre de Platino
- Sistema Computacional Pentium II Gateway para adquisición y tratamiento de datos.

C. Sistema Espectroscópico UV-vis

- Celda de cuarzo 1 cm de paso óptico
- Espectrofotómetro UV-vis UNICAM modelo UV-2.
- Software VISION 2,1, para control del instrumento.

Métodos

3.2.1 Preparación de Soluciones

A. Solución Stock de Bentazona

Se preparan soluciones stock de bentazona de una concentración de $1,0 \times 10^{-2}$ M en buffer fosfato 0,1 M. Esta solución se mantiene refrigerada.

B. Solución Tampón

En un matraz de 500 mL se agregó 17,907g de fosfato de sodio dibásico dodecahidratado, para luego aforar con agua Milli-Q. El pH se ajustó adicionando pequeñas alícuotas de ácido ortofosfórico.

C. Solución de Trabajo

Se toma una alícuota de solución stock de bentazona, se adicionan en un matraz de 100 mL y se agrega buffer fosfato 0,1M hasta su aforo.

3.2.2 Caracterización Electroquímica

A. Voltametría Cíclica

Para el desarrollo de este estudio se prepararon soluciones de trabajo de concentración $1,0 \times 10^{-3}$ M de bentazona en buffer Fosfato 0,1M (10 mL).

Se analizó el comportamiento del pico voltamétrico variando las velocidades de barrido a distintos pH. Antes de cada medición se burbujeó con N_2 extra puro por cinco minutos. Con los valores obtenidos de la corriente de pico anódico a distintas velocidades de barrido es posible determinar si el proceso está controlado por difusión o bien por adsorción.

Si el proceso tiene una conducta reversible:

Para procesos controlados por difusión se cumple la siguiente relación,

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad \text{Ec. 3.1}$$

Y para los procesos controlados por adsorción, se tiene

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v \quad \text{Ec. 3.2}$$

En donde,

C = concentración, [mol / cm³]

A = área del electrodo, [cm²]

D₀ = coeficiente de difusión, [cm² / s]

v = velocidad de barrido, [V / s]

n = número de electrones

i_p = Intensidad de pico, [A]

Para casos cuyo comportamiento es irreversible, se tienen las siguientes ecuaciones, en donde las ecuaciones 3.3 y 3.4 representan los procesos controlados por difusión y adsorción, respectivamente:

$$i_p = 2,99 \times 10^5 \cdot n \cdot (\alpha \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot C^0 \cdot D_0^{1/2} \cdot \nu^{1/2} \quad \text{Ec. 3.3}$$

$$i_p = 2,99 \times 10^5 \cdot n \cdot (\alpha \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot C^0 \cdot D_0^{1/2} \cdot \nu \quad \text{Ec. 3.4}$$

En donde

n = número de electrones transferidos finales

n_a = número de electrones transferidos antes de la etapa determinante.

Al hacer una relación logarítmica y seguidamente aplicando el diferencial a las ecuaciones con respecto a la velocidad de barrido, es posible encontrar el valor de la pendiente para el proceso en estudio. A modo de ejemplo para el proceso controlado por difusión estaría dado por:

$$\log I_p = \log k + \frac{1}{2} \log \nu \quad \text{Ec. 3.5}$$

$$\frac{\partial \log I_p}{\partial \log \nu} = 0,5 \quad \text{Ec. 3.6}$$

De este modo, un valor de pendiente 0,5 de la ecuación 3.6, indica que el proceso es controlado por difusión.

Por otro parte, haciendo el mismo desarrollo anteriormente descrito para la ecuación 3.4 obtendremos una pendiente igual a 1, lo que indica que el proceso está controlado por adsorción.

B. Voltametría de Pulso Diferencial

Se desarrolló el estudio mediante voltametría de pulso diferencial (VPD) con una solución de trabajo de concentración $5,0 \times 10^{-4} \text{M}$ de bentazona en buffer fosfato $0,1 \text{M}$. La celda electroquímica está formada por un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo, un electrodo $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar. Antes de cada medición, la solución de trabajo se burbujeó con N_2 extra puro durante cinco minutos. El electrodo de trabajo fue limpiado y pulido con alúminas de $0,3$ y $0,05 \mu\text{m}$, respectivamente.

Para determinar las condiciones de trabajo en VPD, se midió y evaluó la señal de oxidación de la bentazona a distintos pHs modificando los parámetros generales y específicos con el fin de obtener una señal bien definida y reproducible. El ajuste de pH se efectuó adicionando pequeñas cantidades de ácido ortofosfórico.

C. Voltametría de pulso diferencial con ciclodextrinas en solución

Para realizar el estudio del efecto de la concentración de las ciclodextrinas (β -CD y SBE- β -CD) sobre la corriente de pico anódico (I_{pa}), se preparó, a partir de la solución stock, 250 mL de una solución de trabajo de concentración $5,0 \times 10^{-4}$ M de bentazona en buffer fosfato 0,1M a pH 6. Se toman alícuotas de 10 mL de esta solución y se pesan cantidades crecientes de CDs hasta obtener una concentración de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 mM tanto de β -CD como de SBE- β -CD en distintos viales. Para estandarizar el procedimiento se agita cada solución por 15 minutos a temperatura ambiente, luego se almacena por 24 horas a una temperatura de 4 °C, una vez transcurrido este tiempo se deja que las soluciones alcancen la temperatura ambiente para poder ser medidas mediante VPD burbujeando con N_2 extra puro antes de cada medición.

A partir de los valores de corriente en función de la concentración de las CDs es posible obtener las constantes de formación de los complejos de inclusión CD-bentazona, mediante la siguiente relación [31, 32]

$$\frac{1}{[CD]} = K_a \frac{(1-A)}{1-i/i_0} - K_a \quad \text{Ec. 3.7}$$

Donde,

K_a = constante de asociación.

i_0 = corriente de pico en ausencia de CD.

i = corriente de pico en presencia de CD.

A = constante

$[CD]$ = concentración molar de CDs.

3.2.3 Caracterización Espectrofotométrica

El estudio por UV-visible tiene como objetivo determinar el aumento de solubilidad debido a la formación del complejo de inclusión y la constante de formación.

Se preparó una curva de calibración a partir de una solución stock de concentración $1,586 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ de Bentazona en agua, se observa dos señales características en el espectro de absorción, una señal de menor intensidad a una longitud de onda de 330 nm y otra señal más intensa a una longitud de onda igual a 224 nm. A esta longitud de onda se obtiene la curva de calibración y el efecto de la adición de CDs.

A partir de la curva de calibración se puede obtener la concentración de bentazona usando la adsortividad molar $\epsilon = 27423 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para estas condiciones experimentales mediante la relación de Lamber Beer [33]:

$$A = \epsilon bc \quad \text{Ec. 3.8}$$

Donde,

A= Absorbancia.

ϵ = Absortividad molar.

b = Paso óptico (1 cm).

c = Concentración de la especie.

Se realiza un estudio de solubilidad de fase en el cual se pesa 12,5 mg de bentazona y se agrega 2,5 mL de agua conteniendo distintas concentraciones de CDs. En el caso de β -CD las concentraciones varían entre 0 a 6 mM; para SBE- β -CD las concentraciones varían desde 0 a 30 mM.

Las muestras fueron agitadas por 24 horas a 20°C. Las muestras se almacenaron por 4 horas a 4°C y luego fueron filtradas a través de un filtro de membrana de 0,45 μ m. La concentración de bentazona fue obtenida del espectro de absorción a una longitud de onda de 224 nm.

La constante de asociación, es calculada a partir de los diagramas de solubilidad de fase [34, 35].

Estos diagramas consisten en gráficas de concentración de bentazona versus la concentración de ciclodextrinas. El valor de la pendiente obtenida en la gráfica se utiliza para obtener la constante de asociación mediante la siguiente relación:

$$K_a = \frac{\text{pendiente}}{S_0(1 - \text{pendiente})} \quad \text{Ec.3.9}$$

Donde,

K_a = Constante de asociación.

S_0 = Solubilidad de bentazona en ausencia de CDs.

3.2.4 Formación de complejo de inclusión en estado sólido

Se evaluó la formación de un complejo de inclusión bentazona-CD en estado sólido a través de espectroscopía IR, como referencia se utilizó una mezcla física entre bentazona y las CDs (β -CD y SBE- β -CD), la razón estequiométrica que se utilizó es la obtenida mediante el estudio de solubilidad de fases en la evaluación espectrofotométrica (UV-visible).

A. Método de evaporación al vacío

Se mezclaron β -CD y SBE- β -CD con bentazona con una razón estequiométrica de 1:1 (según estudio de solubilidad de fases UV-vis) en una solución hidroalcohólica. Donde 50 mg de bentazona se disolvieron en 88 mL de etanol (solución 1), y 236,18 mg de β -CD en 6 mL de agua milli-Q (solución 2), para el caso de la SBE- β -CD se pesaron 433,056 mg en 6 mL de agua milli-Q (solución 2'). Las soluciones 1 y 2 como las soluciones 1 y 2' fueron mezcladas durante 20 minutos en el sonicador hasta obtener una solución clara, luego las soluciones se hacen pasar por el rotavapor hasta que se evapore el solvente, el producto es almacenado por 48 horas a 36 °C, finalmente es molido hasta obtener un fino polvo.

B. Método de mezclado (Kneeding)

Se mezclaron β -CD y SBE- β -CD con bentazona con una razón estequiométrica de 1:1, tanto la mezcla β -CD-bentazona como SBE- β -CD-bentazona se mezclaron y amasaron en un mortero por 45 minutos, durante este proceso, se agregaron 3 mL de etanol con el fin de mantener una consistencia aceptable, el producto fue secado a 36°C por 48 horas, pasado este tiempo el producto fue molido hasta obtener un fino polvo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Comportamiento electroquímico de bentazona en buffer fosfato 0,1M.

El estudio de la señal de oxidación electroquímica de bentazona sobre el electrodo de carbón vítreo fue realizado en medio buffer fosfato 0,1M a distintos pHs, junto con modificar los parámetros generales y específicos del método de medición con el objeto de definir las condiciones adecuadas para realizar el estudio en presencia de β -ciclodextrina (β -CD) y sulfobutileter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD).

4.1.1 Efecto de pH.

Mediante voltametría de pulso diferencial (VPD) se realizó el estudio de la oxidación de bentazona a diferentes pHs. En la figura 4.1.1 se observan los voltamogramas de pulso diferencial obtenidos para una concentración de bentazona de $5,0 \times 10^{-4}$ M en buffer fosfato 0,1M a temperatura ambiente, se observa que la señal del pico voltamétrico tiene un leve desplazamiento hacia potenciales más altos junto con una disminución en la intensidad, a medida que el pH de trabajo aumenta.

De acuerdo a lo informado por Oliveira y compañía [36] la oxidación de bentazona es dependiente del pH en medio ácido, sobre un pH de 3.5 la oxidación de bentazona se hace independiente del pH de trabajo.

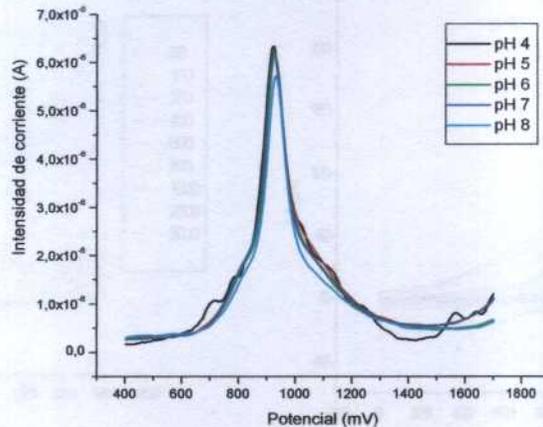


Fig. 4.1.1 Voltametría de Pulso Diferencial a pH 4, 5, 6, 7 y 8 de una solución de concentración $5,0 \times 10^{-4} \text{M}$ de Bentazona en buffer fosfato 0,1M.

4.1.2 Efecto de la velocidad de barrido sobre la señal

Mediante Voltametría Cíclica (VC), se evaluó una solución de trabajo de concentración $1,0 \times 10^{-3} \text{M}$ de bentazona en buffer Fosfato 0,1M modificando su pH (pH 5, 6, 7 y 8) para observar su comportamiento frente a la variación de la velocidad de barrido. La figura 4.1.2 muestra los voltamogramas cíclicos a diferentes velocidades de barrido.

El efecto de la velocidad de barrido sobre el potencial de pico a cada pH se observa en la figura 4.1.3. En general, el potencial de pico se hace más positivo a medida que aumenta la velocidad de barrido

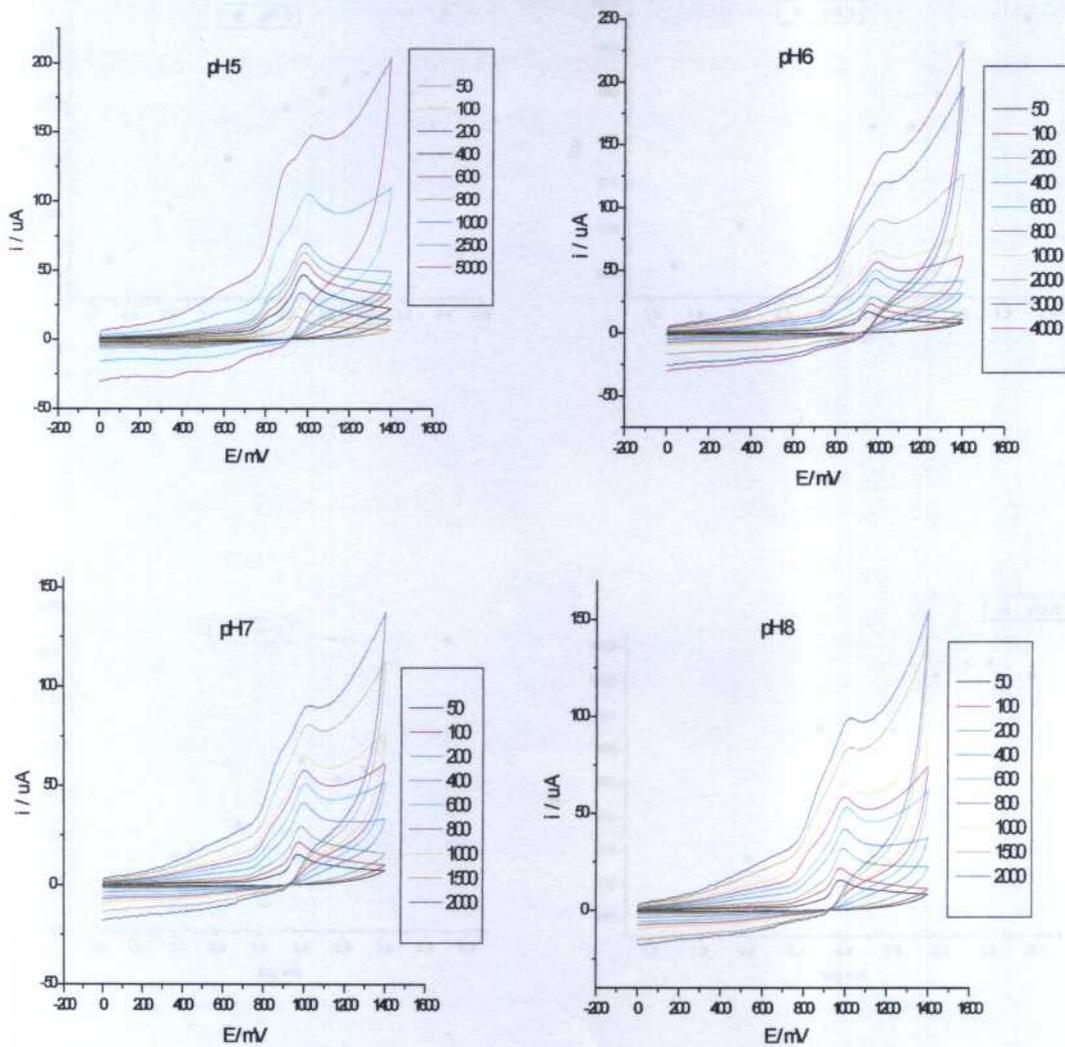


Fig. 4.1.2 Voltametría cíclica a distintas velocidades de barrido (mV/s) a pH 5, 6, 7 y 8 de una solución de concentración $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ de bentazona en buffer fosfato $0,1 \text{ M}$.

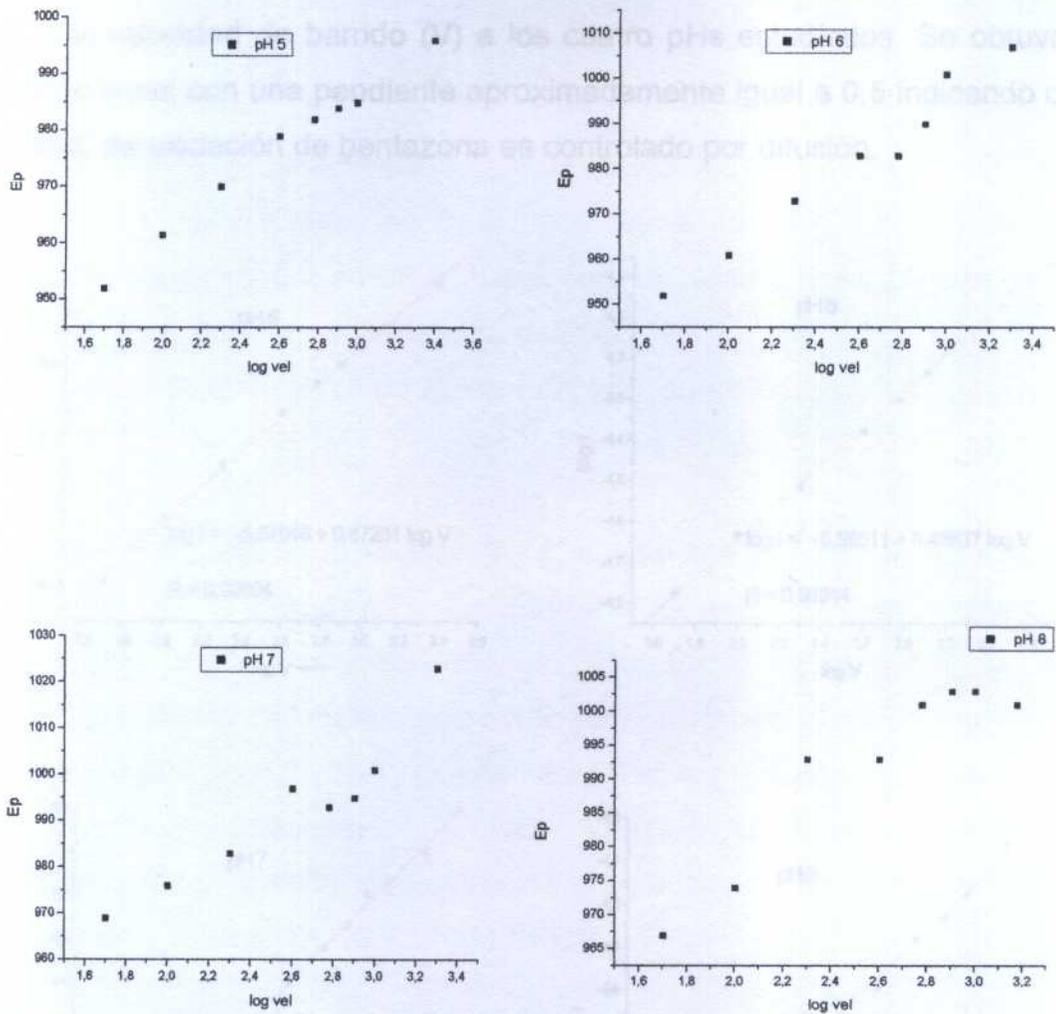


Fig. 4.1.3 Dependencia del potencial de pico (E_p) con respecto a la velocidad de barrido a pH 5, 6, 7 y 8 de una solución de concentración $1,0 \times 10^{-3} M$ de bentazona en buffer fosfato 0,1M.

En la figura 4.1.4 se observa la relación logarítmica entre la corriente de pico (i_p) y la velocidad de barrido (V) a los cuatro pHs estudiados. Se obtuvo una relación lineal con una pendiente aproximadamente igual a 0,5 indicando que el proceso de oxidación de bentazona es controlado por difusión.

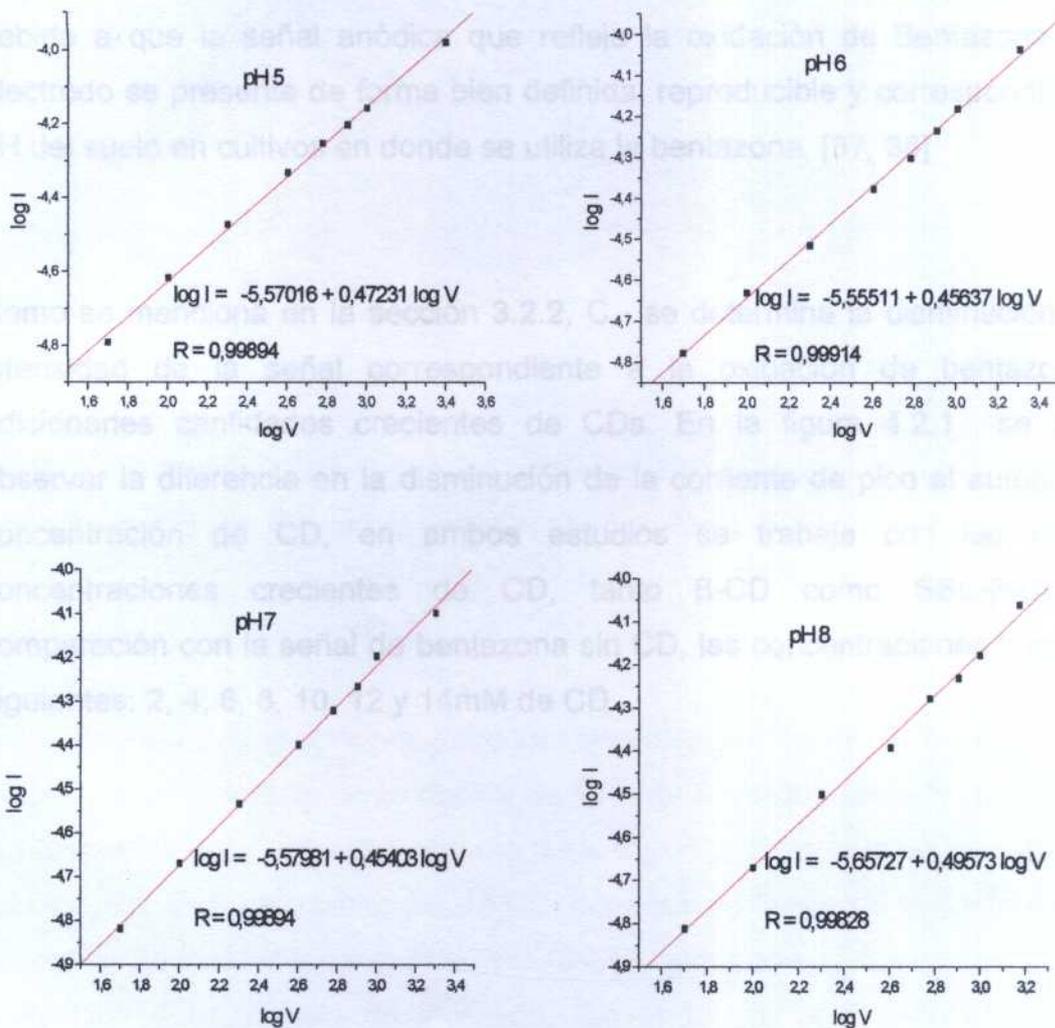


Fig. 4.1.4 Relación logarítmica entre i_p y la velocidad de barrido para una solución de concentración $1,0 \times 10^{-3} \text{M}$ de bentazona en buffer fosfato $0,1 \text{M}$ a pH 5, 6, 7 y 8

4.2 Caracterización electroquímica del complejo de inclusión bentazona-CD.

El estudio de la interacción entre bentazona y ciclodextrina (β -CD y SBE- β -CD) se realizó a pH 6.0. Se determinó hacer los estudios a este pH de trabajo debido a que la señal anódica que refleja la oxidación de Bentazona en el electrodo se presenta de forma bien definida, reproducible y correspondiente al pH del suelo en cultivos en donde se utiliza la bentazona. [37, 38]

Como se menciona en la sección 3.2.2, C, se determina la disminución de la intensidad de la señal correspondiente a la oxidación de bentazona al adicionarles cantidades crecientes de CDs. En la figura 4.2.1 se puede observar la diferencia en la disminución de la corriente de pico al aumentar la concentración de CD, en ambos estudios se trabaja con las mismas concentraciones crecientes de CD, tanto β -CD como SBE- β -CD, en comparación con la señal de bentazona sin CD, las concentraciones fueron las siguientes: 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14mM de CD.

En la figura 4.2.1 se observa, junto con una disminución de la corriente de pico anódico a un potencial de oxidación de 930 mV aproximadamente, la presencia de una señal a un potencial cercano a los 800 mV, señal que se presenta en el complejo de inclusión bentazona/ β -CD, pero que se define de mejor forma en el complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD, señal que podría ser indicio de la formación del complejo de inclusión. Sin embargo, esta varía poco con el aumento de concentración de SBE- β -CD.

4.2 Caracterización electroquímica del complejo de inclusión bentazona-CD.

El estudio de la interacción entre bentazona y ciclodextrina (β -CD y SBE- β -CD) se realizó a pH 6.0. Se determinó hacer los estudios a este pH de trabajo debido a que la señal anódica que refleja la oxidación de Bentazona en el electrodo se presenta de forma bien definida, reproducible y correspondiente al pH del suelo en cultivos en donde se utiliza la bentazona. [37, 38]

Como se menciona en la sección 3.2.2, C, se determina la disminución de la intensidad de la señal correspondiente a la oxidación de bentazona al adicionarles cantidades crecientes de CDs. En la figura 4.2.1 se puede observar la diferencia en la disminución de la corriente de pico al aumentar la concentración de CD, en ambos estudios se trabaja con las mismas concentraciones crecientes de CD, tanto β -CD como SBE- β -CD, en comparación con la señal de bentazona sin CD, las concentraciones fueron las siguientes: 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14mM de CD.

En la figura 4.2.1 se observa, junto con una disminución de la corriente de pico anódico a un potencial de oxidación de 930 mV aproximadamente, la presencia de una señal a un potencial cercano a los 800 mV, señal que se presenta en el complejo de inclusión bentazona/ β -CD, pero que se define de mejor forma en el complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD, señal que podría ser indicio de la formación del complejo de inclusión. Sin embargo, esta varía poco con el aumento de concentración de SBE- β -CD.

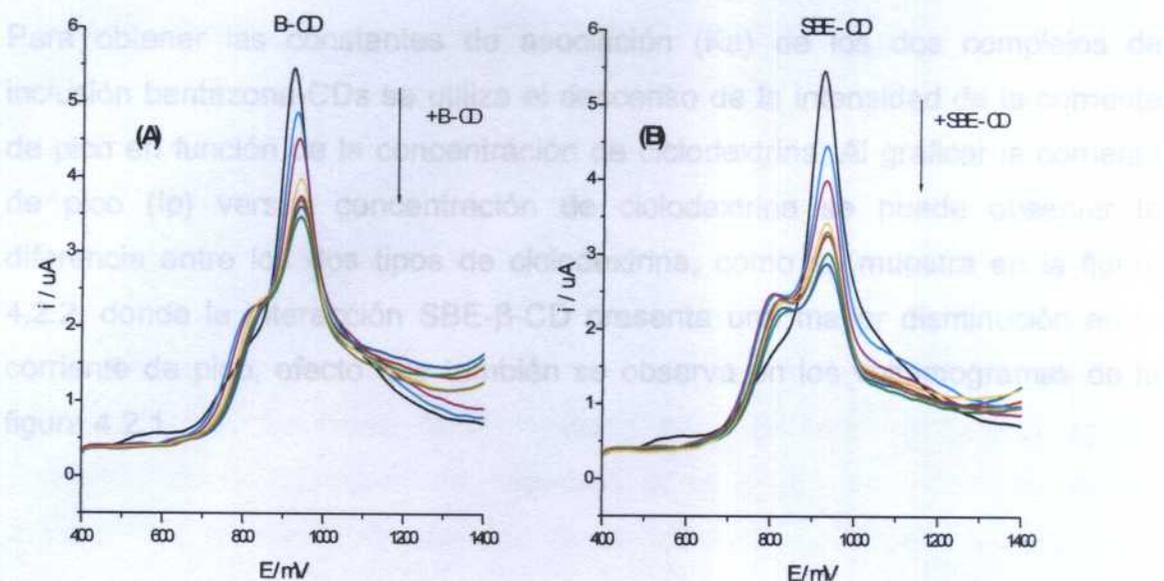


Fig 4.2.1 Voltamogramas de pulso diferencial de bupropion $5,0 \times 10^{-4}$ en buffer fosfato 0,1 M con diferentes concentraciones de (A) β -CD y (B) SBE- β -CD a pH 6,0

En la figura 4.2.1 se observa, junto con una disminución de la corriente de pico anódico a un potencial de oxidación de 930 mV aproximadamente, la presencia de una señal a un potencial cercano a los 800 mV, señal que se presenta en el complejo de inclusión bupropion/ β -CD, pero que se define de mejor forma en el complejo de inclusión bupropion/SBE- β -CD, señal que podría ser indicio de la formación del complejo de inclusión. Sin embargo, esta varía poco con el aumento de concentración de SBE- β -CD.

Para obtener las constantes de asociación (K_a) de los dos complejos de inclusión bentazona-CDs se utiliza el descenso de la intensidad de la corriente de pico en función de la concentración de ciclodextrina. Al graficar la corriente de pico (i_p) versus concentración de ciclodextrina se puede observar la diferencia entre los dos tipos de ciclodextrina, como se muestra en la figura 4.2.2, donde la interacción SBE- β -CD presenta una mayor disminución en la corriente de pico, efecto que también se observa en los voltamogramas de la figura 4.2.1.

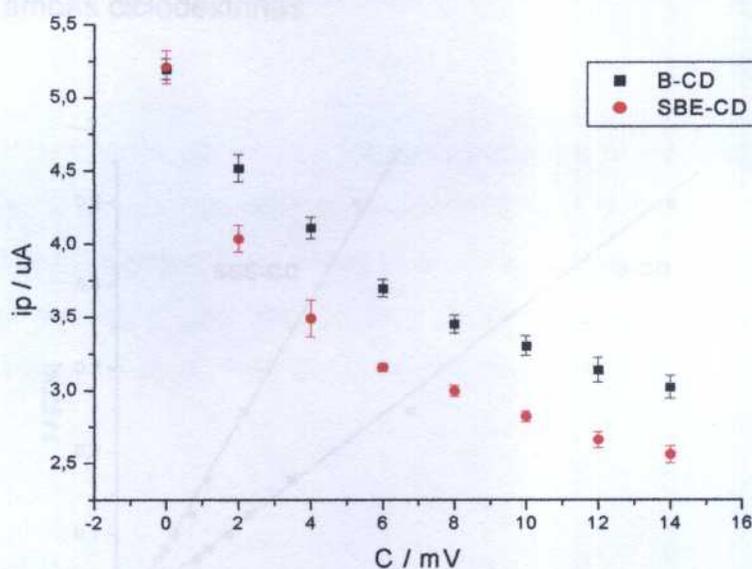


Fig 4.2.2 Efecto de la concentración de ciclodextrinas sobre la corriente de pico de bentazona en buffer fosfato 0,1 M a pH 6,0

Fig 4.2.3 Gráfico de $1/[CD]_e$ versus $(1/i - i_0/i)$ de bentazona 6×10^{-5} M en mezcla buffer fosfato (0,1M) a pH 6,0 para las distintas CDs a 20°C.

La disminución de la corriente de oxidación podría evidenciar la formación de un complejo de inclusión entre bentazona y las CDs, ya que el complejo de inclusión presenta un coeficiente de difusión menor comparado con la molécula libre. La disminución de los valores de coeficiente de difusión en presencia de CDs se puede determinar mediante mediciones de cronocoulombimetría. [39]

Para obtener las constantes de asociación para los complejos de inclusión bentazona/CDs, se utiliza la disminución de corriente en función de la concentración de CD agregada, usando la ecuación 3.7 descrita en la sección 3.2.2,C. El resultado se muestra en la figura 4.7, en donde se grafica la influencia de ambas ciclodextrinas.

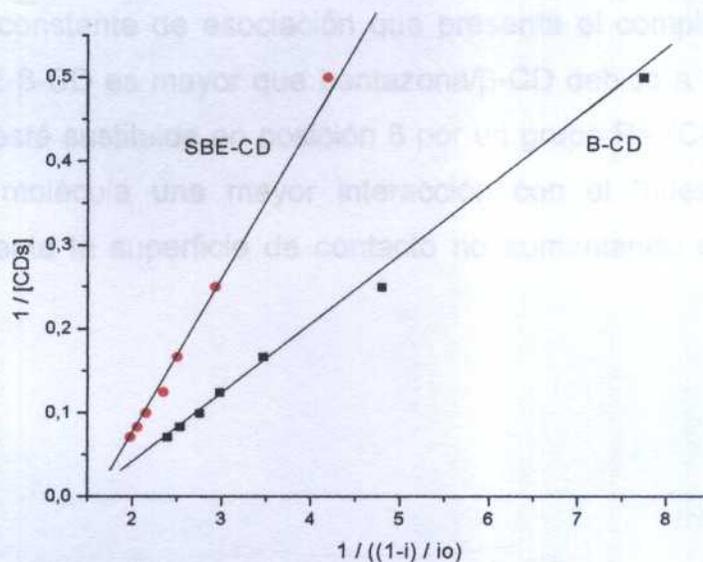


Fig 4.2.3 Grafico de $1/[CDs]$ versus $(1/1-i/i)$ de bentazona $5 \cdot 10^{-4}$ M en mezcla buffer fosfato (0,1M) a pH 6,0 para las distintas CDs a 20°C .

4.3 Estudios Espectrofotométricos

En la tabla 4.2.1 se resumen los valores de las constantes de asociación para los complejos de inclusión obtenidas con las respectivas ciclodextrinas.

Complejo Bentazona-CDs	K_a / M^{-1}
β -CD	118 ± 29
SBE- β -CD	317 ± 20

Tabla 4.2.1 Constantes de asociación para los complejos de inclusión de bentazona/CD en buffer fosfato 0,1M a pH 6,0 a 20°C.

El valor de la constante de asociación que presenta el complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD es mayor que bentazona/ β -CD debido a que la molécula de SBE- β -CD está sustituida en posición 6 por un grupo R= (CH₂)₄ SO₃Na que confiere a la molécula una mayor interacción con el “huesped”, en otras palabras, aumenta la superficie de contacto no aumentando el tamaño de la cavidad.

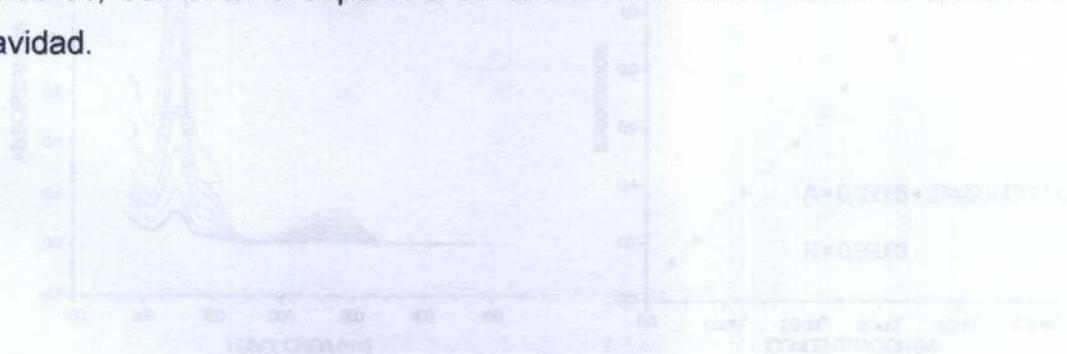


Fig 4.3.1 Curva de calibración de bentazona en agua como solvente evaluada a una longitud de onda fija a 224 nm, las concentraciones en las que se evaluó esta curva fluctuaron entre $3,17 \times 10^{-6}$ y $4,76 \times 10^{-6}$ M.

4.3 Estudios Espectrofotométricos

El estudio por espectrofotometría UV-visible tiene como objetivo determinar el aumento de solubilidad debido a la formación del complejo de inclusión y la constante de formación.

Se preparó una curva de calibración a partir de una solución stock de bentazona en agua, se observa dos señales características en el espectro de absorción, una señal de menor intensidad a una longitud de onda de 330 nm y otra señal más intensa a una longitud de onda igual a 224 nm y es con respecto a esta última señal mencionada con la cual se va a evaluar tanto la curva de calibración como en el estudio al adicionar CDs. A partir de la curva de calibración se puede obtener la concentración de bentazona usando la adsorividad molar $\epsilon = 27423 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para estas condiciones experimentales mediante la relación de Lamber Beer (ec. 3.8).

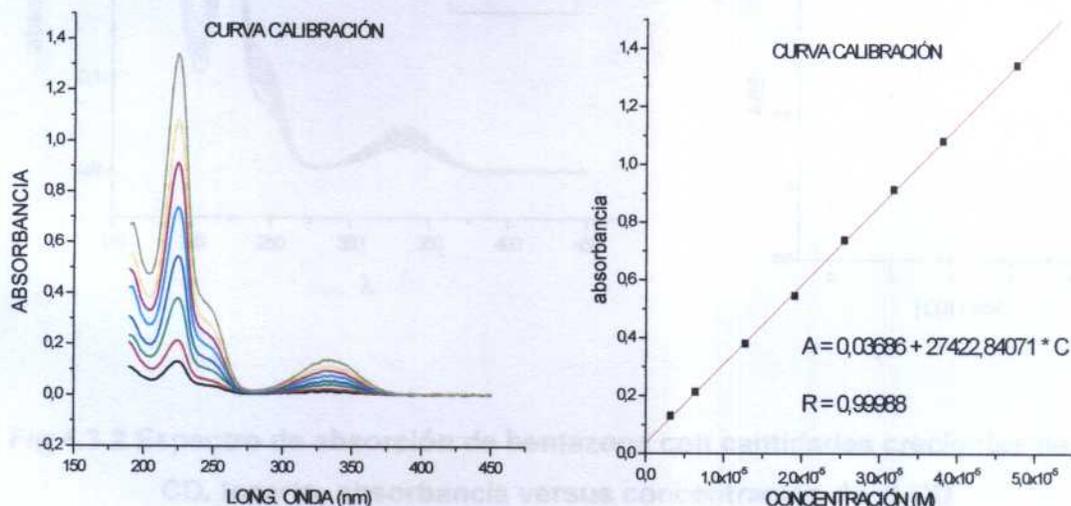


Fig 4.3.1 Curva de calibración de bentazona en agua como solvente evaluada a una longitud de onda fija a 224 nm, las concentraciones en las que se evaluó esta curva fluctuaron entre $3,17 \times 10^{-6}$ y $4,76 \times 10^{-5} \text{ M}$

Se realizó un estudio de solubilidad de fase como se explica en la sección 3.2.3 con el fin de obtener la cantidad de veces que aumenta la solubilidad, estequiometría del complejo de inclusión formado y la constante de asociación de éste.

Se observa en la figura 4.3.2 que la intensidad aumenta junto con el aumento de la concentración de β -CD hasta 5 mM, superada esta concentración se observa una disminución del máximo de absorbancia como se aprecia en el inserto.

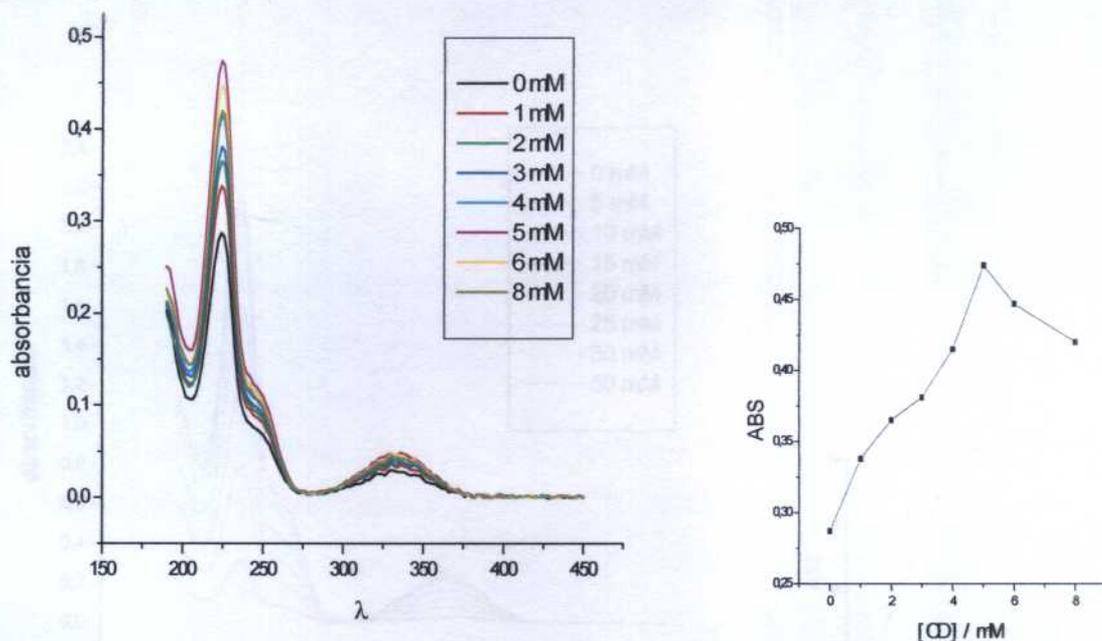


Fig 4.3.2 Espectro de absorción de bentazona con cantidades crecientes de β -CD. Inserto, absorbancia versus concentración de β -CD

La solubilidad de bentazona en solución sin agregar β -CD es de $547 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, al adicionarle a la bentazona una cantidad de β -CD equivalente a 5 mM se observa un aumento en su solubilidad a $958 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aproximadamente.

En la figura 4.3.3 se puede observar, del mismo modo que la interacción con β -CD, al aumentar la concentración de SBE-CD aumenta conjuntamente el máximo de absorbancia a una longitud de onda fija de 224 nm , este aumento llega a un límite de 30 mM de SBE-CD en este caso superior a lo ocurrido con β -CD, a concentraciones superiores se observa una disminución de la intensidad (50 mM).

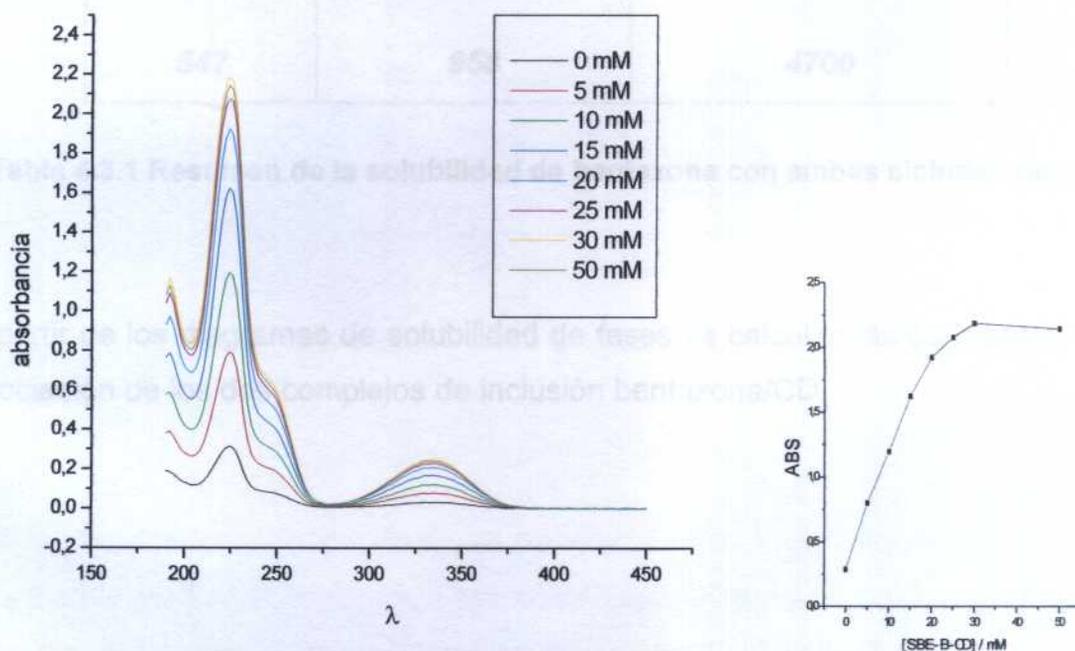


Fig 4.3.3 Espectro de absorción de bentazona con cantidades crecientes de SBE- β -CD. Inserto, absorbancia versus concentración de SBE- β -CD

La solubilidad de bentazona en solución sin agregar SBE-CD es de $547 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, al adicionarle a la bentazona una cantidad de SBE-CD equivalente a 30 mM se observa un aumento en su solubilidad a $4,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, aumentando la solubilidad de la bentazona 8,6 veces aproximadamente. Un valor muy superior a lo calculado para β -CD con una solubilidad de 958 mg/L , aumentando 1,8 veces la solubilidad de bentazona.

<i>Bentazona</i> <i>mg / L</i>	<i>Bentazona / β-CD</i> <i>mg / L</i>	<i>Bentazona / SBE-β-CD</i> <i>mg / L</i>
547	958	4700

Tabla 4.3.1 Resumen de la solubilidad de bentazona con ambas ciclodextrinas

A partir de los diagramas de solubilidad de fases se calculan las constantes de asociación de los dos complejos de inclusión bentazona/CD.

Las curvas A indican la formación de complejos de inclusión solubles, mientras que las curvas tipo B sugieren la formación de complejos de inclusión de poca solubilidad. Los tipo B₁ responden a complejos de solubilidad límite y curvas B₂ indican complejos no solubles. Las curvas tipo A se subdividen en A₁ (aumento lineal de la solubilidad de la especie estudiada en función de la concentración de ciclodextrina), A₂ (curva de desviación positiva) y A₃ (isotermia de desviación negativa).

La figura 4.3.5 muestra los diagramas de fase de los dos complejos de inclusión. Existen dos tipos de diagrama de fase como se observa en la figura 4.3.4. El tipo de inclusión β -CD mostraría una pequeña desviación negativa (A_N), en embargo ambos complejos de inclusión tienen estequiometría 1:1 en su formación.

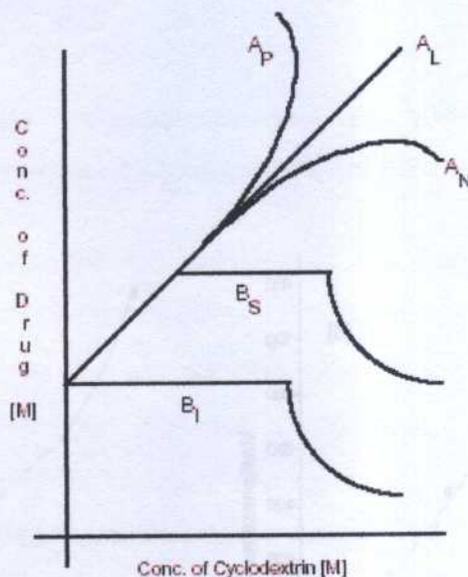


Figura 4.3.4 Tipos de diagramas de solubilidad de fase

Las curvas A indican la formación de complejos de inclusión solubles, mientras que las curvas tipo B sugieren la formación de complejos de inclusión de poca solubilidad. Los tipo B_S responden a complejos de solubilidad límite y curvas B_I indican complejos insolubles. Las curvas tipo A se subdividen en A_L (aumento lineal de la solubilidad de la especie estudiada en función de la concentración de ciclodextrinas), A_P (isoterma de desviación positiva) y A_N (isoterma de desviación negativa).

La figura 4.3.5 muestra los diagramas de fase de los complejos de inclusión. Existen dos tipos de diagrama de fase como se observa en la figura 4.3.4. El diagrama de inclusión benzona/S β -CD mostraría una pequeña desviación negativa pero, en embargo ambos complejos de inclusión tienen estequiometría 1:1 en su formación.

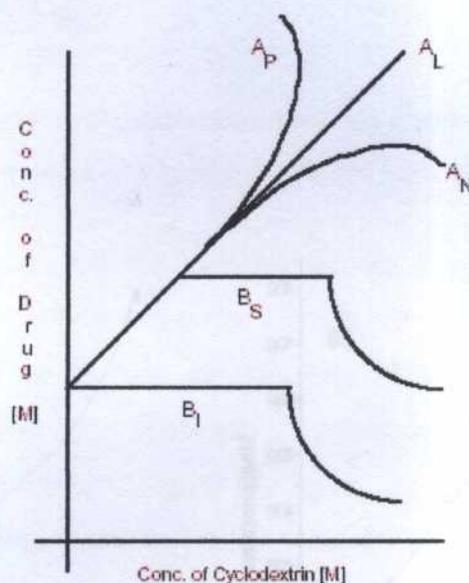


Figura 4.3.4 Tipos de diagramas de solubilidad de fase

Las curvas A indican la formación de complejos de inclusión solubles, mientras que las curvas tipo B sugieren la formación de complejos de inclusión de poca solubilidad. Los tipo B_s responden a complejos de solubilidad límite y curvas B_i indican complejos insolubles. Las curvas tipo A se subdividen en A_L (aumento lineal de la solubilidad de la especie estudiada en función de la concentración de ciclodextrinas), A_P (isoterma de desviación positiva) y A_N (isoterma de desviación negativa).

La figura 4.3.5 muestra los diagramas de fase de los dos complejos de inclusión formados, los cuales muestran una tendencia lineal, tipo A. El complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD mostraría una pequeña desviación negativa (A_N), sin embargo ambos complejos de inclusión tienen estequiometría 1:1 en su formación.

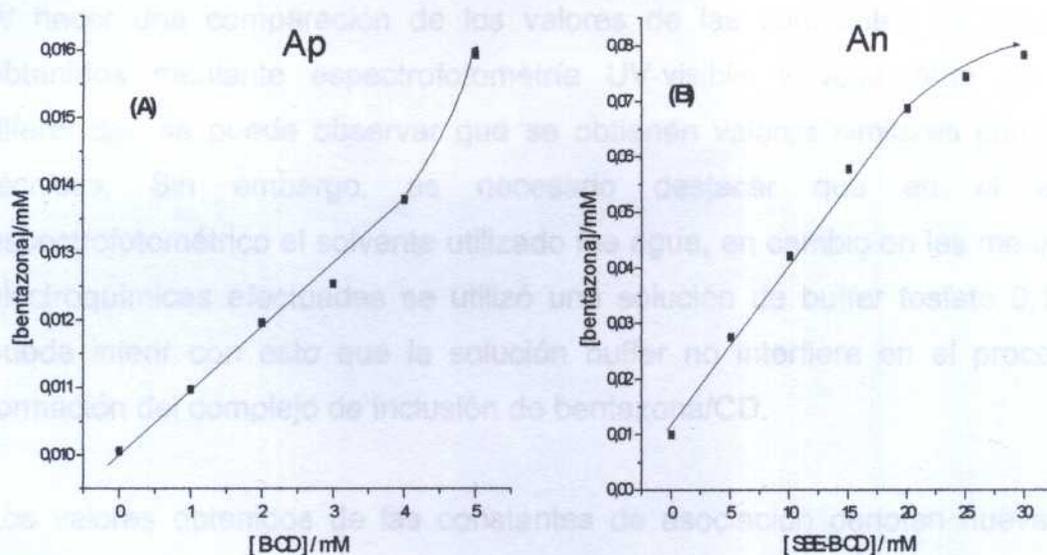


Fig 4.3.5 Diagramas de solubilidad de fase de bentazona en agua con β -CD (A) y SBE- β -CD (B)

Como los complejos de inclusión formados tienen estequiometría 1:1, por ser del tipo A, las constantes de asociación para los complejos de inclusión bentazona-CDs se calculan por medio de la ecuación 3.9, de la sección 3.2.3.

La tabla 4.3.2 entrega los valores de constantes de asociación obtenidos para los complejos de inclusión bentazona-CDs.

Complejo Bentazona-CDs	K_a / M^{-1}
β -CD	109
SBE- β -CD	294

Tabla 4.3.2 Constantes de asociación para los complejos de inclusión bentazona/CD en agua calculada mediante solubilidad de fases.

Al hacer una comparación de los valores de las constantes de asociación obtenidos mediante espectrofotometría UV-visible y voltametría de pulso diferencial, se puede observar que se obtienen valores similares con ambas técnicas. Sin embargo, es necesario destacar que en el estudio espectrofotométrico el solvente utilizado fue agua, en cambio en las mediciones electroquímicas efectuadas se utilizó una solución de buffer fosfato 0,1M, se puede inferir con esto que la solución buffer no interfiere en el proceso de formación del complejo de inclusión de bentazona/CD.

Los valores obtenidos de las constantes de asociación denotan nuevamente que el complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD presenta resultados concordantes con su estructura en comparación con lo que sucede con el complejo formado con β -CD.

4.4 Estudios de la formación del complejo de inclusión en estado sólido mediante espectroscopia IR

Se evaluó la formación del complejo de inclusión en estado sólido mediante una comparación de los espectros infrarrojos, de esta manera se puede determinar, de forma somera e introductoria, la formación del complejo de inclusión en estado sólido bentazona/CD, junto con relacionar si la totalidad o solo una parte de la molécula de bentazona esta incluida en la cavidad.

En la figura 4.4.1 se muestra el espectro IR de la molécula de bentazona, a partir de este espectro se asignan los grupos funcionales. Sin embargo, hay que tener presente que, con sólo la información entregada por el espectro IR, no es posible asignar en forma concluyente todas las señales.

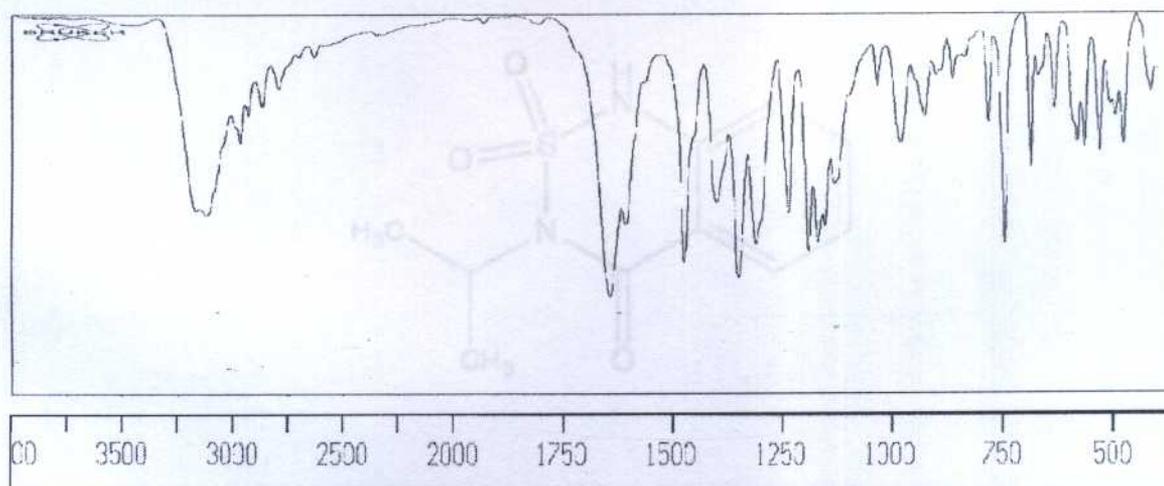


Fig 4.4.1 Espectro infrarrojo de la molécula de bentazona.

Teniendo presente la molécula de bentazona, figura 4.4.2, se puede atribuir una banda a 3200 cm^{-1} aproximadamente correspondiente al estiramiento del enlace N-H. El carbonilo se presenta con una señal intensa a 1630 cm^{-1} aproximadamente. En relación al segmento aromático, se observan vibraciones de estiramiento del enlace $C_{sp^2}-H$ manifestándose a los 3000 cm^{-1} aproximadamente, vibraciones de estiramiento C-C del esqueleto anular se observa 1500 cm^{-1} . Una banda característica a 750 cm^{-1} correspondiente al benceno disustituido en posición orto.

La amida terciaria se manifiesta a 1625 cm^{-1} aproximadamente que corresponde a la vibración de estiramiento del carbonilo. El grupo sulfonamida se puede identificar en las bandas de estiramiento a 1370 y 1173 cm^{-1} y finalmente el grupo isopropilo se identifica por dos señales a 1375 y 1170 cm^{-1} .

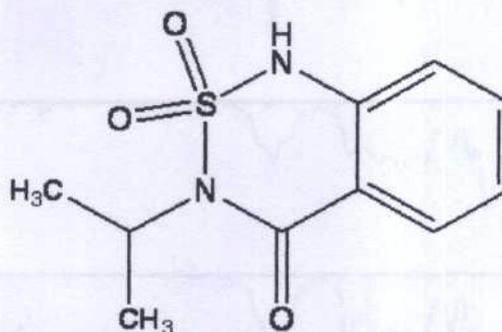


Fig 4.4.2 Molécula de bentazona

Fig 4.4.3 Espectros infrarrojos: A) bentazona; B) β-CD; C) metilxantina; D) β-CD/Kneading (estequiometría 1:1); E) Kneading (1:1) (solvente 20:4); Evaporación (1:1); G) Evaporación (3:1)

En la siguiente figura se muestra una comparación de los espectros IR con respecto a la formación del complejo de inclusión bentazona/ β -CD.

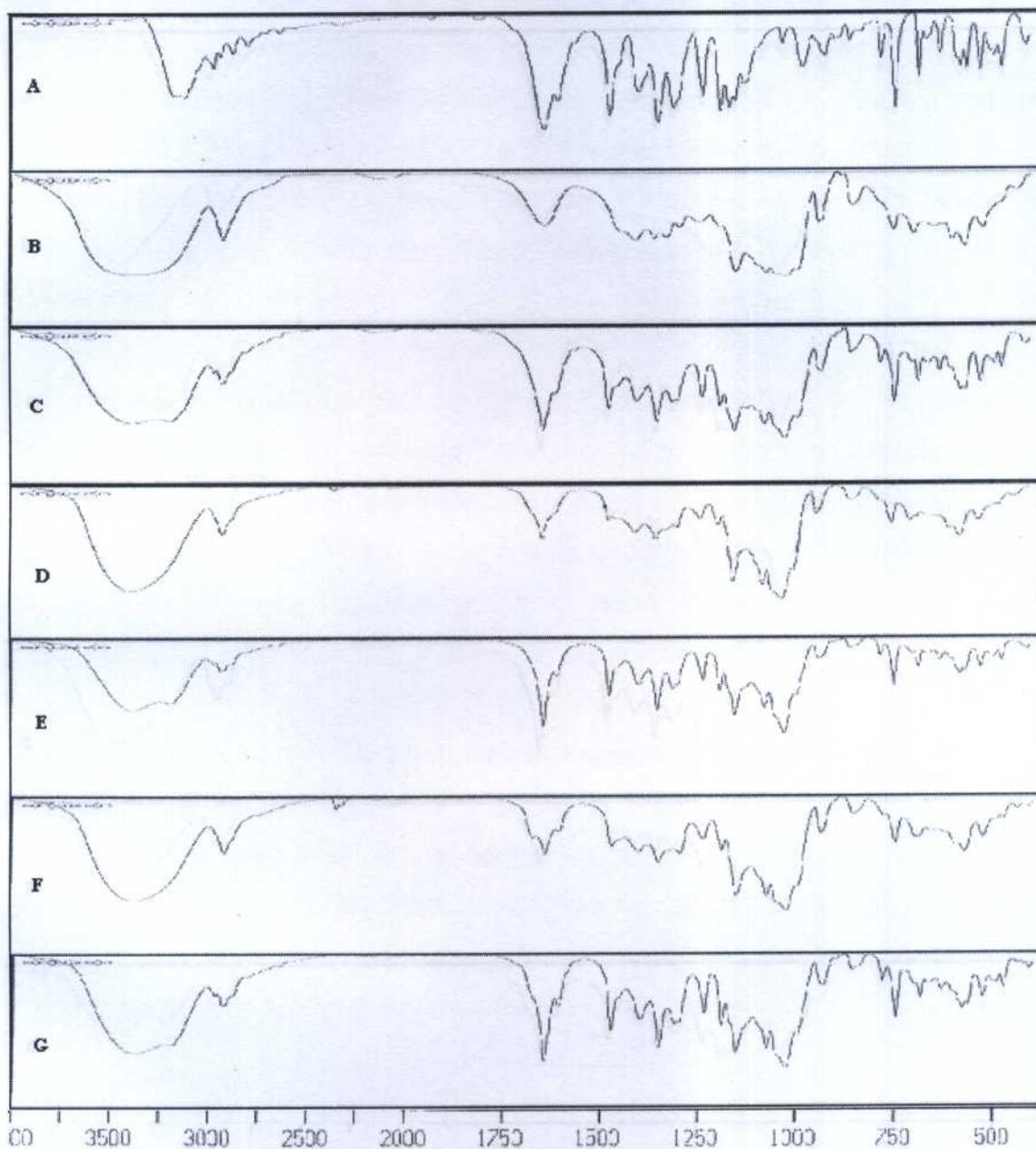


Fig 4.4.3 Espectros infrarrojos: A) bentazona; B) β -CD; C) mezcla física A-B; D) Kneading (estequiometría 1:1); E) Kneading (3:1, bentazona: β -CD); F) Evaporación (1:1); G) Evaporación (3:1)

En la siguiente figura se muestra una comparación de los espectros IR con respecto a la formación del complejo de inclusión bentazona/SBE- β -CD.

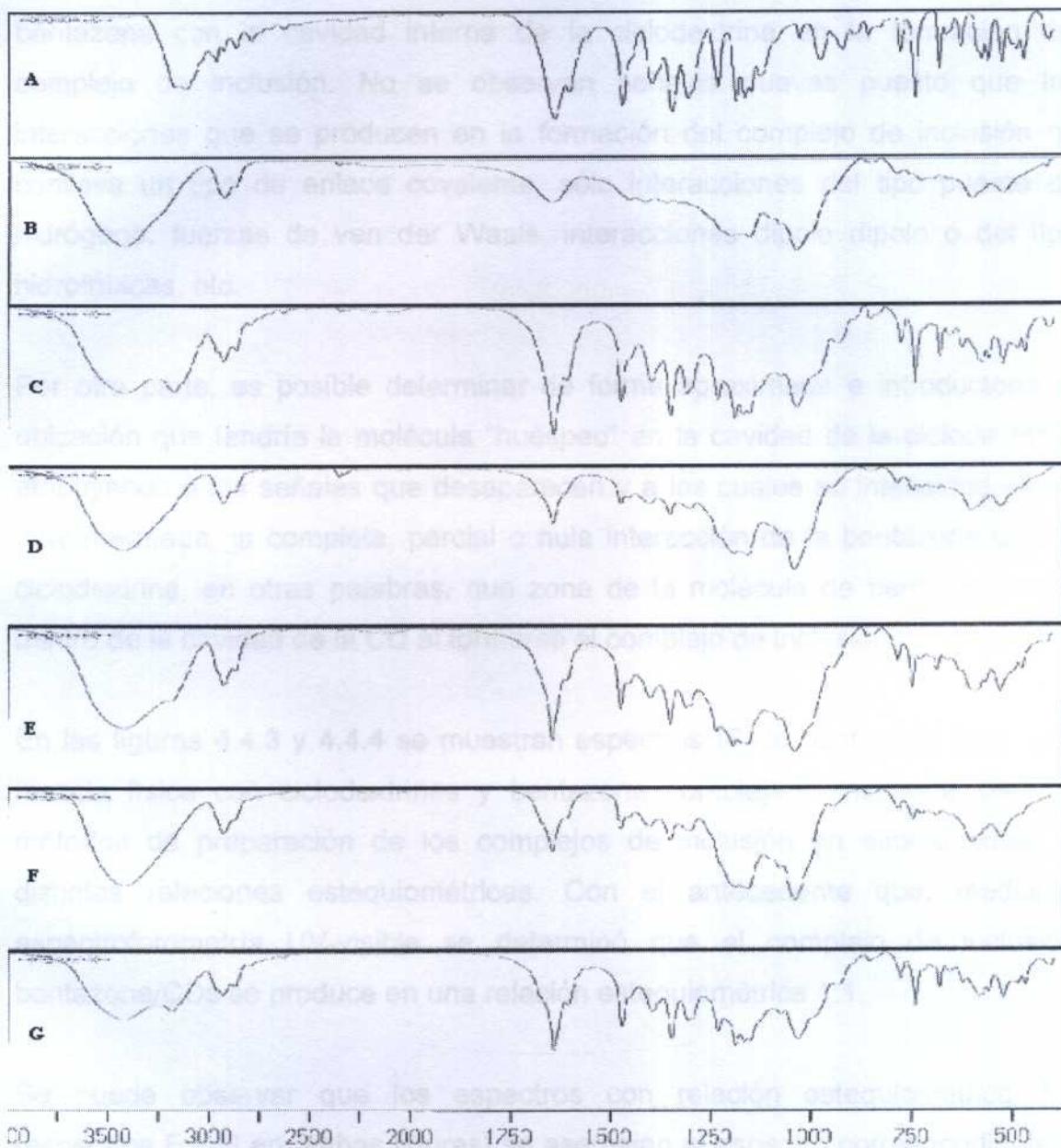


Fig 4.4.4 Espectros infrarrojos: A) bentazona; B) SBE- β -CD; C) mezcla física A-B; D) Kneading (estequiometría 1:1); E) Kneading (3:1, bentazona:SBE- β -CD); F) Evaporación (1:1); G) Evaporación (3:1)

Se puede atribuir que las señales que disminuyen su intensidad poseen menor grado de movimiento característico (vibración y estiramiento entre otras) producto del impedimento que se produce al interaccionar la molécula de bentazona con la cavidad interna de la ciclodextrina en la formación del complejo de inclusión. No se observan señales nuevas puesto que las interacciones que se producen en la formación del complejo de inclusión no conlleva un tipo de enlace covalente, sólo interacciones del tipo puente de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones dipolo dipolo o del tipo hidrofóbicas, etc.

Por otra parte, es posible determinar de forma aproximada e introductoria la ubicación que tendría la molécula "huésped" en la cavidad de la ciclodextrina, atribuyendo a las señales que desaparecen y a las cuales su intensidad se ve muy mermada, la completa, parcial o nula interacción de la bentazona con la ciclodextrina, en otras palabras, que zona de la molécula de bentazona está dentro de la cavidad de la CD al formarse el complejo de inclusión.

En las figuras 4.4.3 y 4.4.4 se muestran espectros IR de bentazona libre, una mezcla física con ciclodextrinas y bentazona complejada mediante los dos métodos de preparación de los complejos de inclusión en estado sólido a distintas relaciones estequiométricas. Con el antecedente que, mediante espectrofotometría UV-visible se determinó que el complejo de inclusión bentazona/CDs se produce en una relación estequiométrica 1:1.

Se puede observar que los espectros con relación estequiométrica 3:1 (espectros E y G en ambas figuras) se asemejan al espectro correspondiente a la mezcla física (C) en relación a las señales presentes e intensidad de estas. En cambio los espectros que se prepararon mediante estequiometría 1:1 (D y F)

presentaron una disminución y pérdida de señales al ser comparadas con el espectro de la mezcla física.

Se observa también que los espectros de los complejos de inclusión entre bentazona con β -CD y con SBE- β con estequiometría 1:1 no presentan mayores diferencias. Si bien todas las señales espectrales correspondientes a la bentazona disminuyen su intensidad, existen señales que desaparecen y pueden atribuirse a la interacción bentazona/CD como por ejemplo la señal de estiramiento y deformación del enlace N-H, así como también la señal del carbonilo y del segmento aromático de la molécula de bentazona.

Hay que recalcar que este estudio no es concluyente y que debe corroborarse mediante diferentes técnicas espectrales como $^1\text{H-NMR}$, obtención de constantes de acoplamiento así como también estudios de calorimetría, estudios de estabilidad por medio de modelamiento molecular con el fin de predecir computacionalmente de que manera la bentazona ingresa a la cavidad de la ciclodextrina calculando el menor gasto energético.

5. CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron valores de constantes de asociación mayor para el complejo bentazona/SBE- β -CD, debido al grupo funcional $(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3\text{Na}$ presente en SBE- β -CD, que le confiere una mayor interacción con la bentazona, aumentando la superficie de contacto entre las dos especies.
2. A pesar de que existen diferencias entre las técnicas (VPD y UV-vis) en relación a las condiciones experimentales en la preparación de las muestras, no existen mayores diferencias en los valores de las constantes de asociación observadas.
3. La solubilidad de la bentazona aumenta con la formación del complejo de inclusión, al interactuar con SBE- β -CD aumenta 8,6 veces y con β CD 1,8 veces.
4. Con la información obtenida de los espectros IR es posible evaluar, en forma superficial, el ingreso de la molécula de bentazona a la cavidad hidrofóbica de la ciclodextrina.

6. REFERENCIAS

- 1.- Szejtli, J. Cyclodextrins and their inclusion complex; Akadémiai Kiadó: Budapest, 1982
- 2.- F. Cramer, W. Saenger, H. Spatz, JACS, 89 (1967) 14
- 3.- J. Villaverde, J. I. Pérez-Martínez, C. Maqueda, J. M. Ginés and E. Morillo, Chemosphere 60 (2005) 656-664
- 4.- R. Saikosin, T. Limpaseni and P. Pongsawasdi, J. of inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 44 (2002) 191-196
- 5.- E. Bednarek, W. Bocian, J. Poznanski, J. Sitkowski, N. Sosnowska, L. Kozerski, Perkin Trans. 2, 5 (2002) 999
- 6.- N. Sosnowska, J. of Fluorescence, 7 (1997) 195
- 7.- K. Flood, E.Reynolds, N.Snow, J. Chromatogr. A, 903 (2000) 49
- 8.- C. Ravelet, A. Geze, A. Villet, C. Grosset, A. Ravel, D. Wouessidjewe, E.Peyrin, J. Pharm. Biomed Anal., 29 (2002) 425
- 9.- E. M. Garrido, J. L. Costa Lima, C. M. Delerue-Matos, A. M. Oliveira Brett, Talanta 46 (1998) 1131-1135
- 10.- X. Dang, M. Nie, J. Tong, H Li, J. Electroanal. Chem., 448 (1998) 61

- 11.- C. Yáñez, L. Núñez-Vergara, J.A. Squella, *Electroanalysis*, 15 (2003) 1771
- 12.- B.V. Müller, E. Albers, *Int. J. Pharm.*, 79 (1992) 273
- 13.- M. Suzuki, M. Kajtar, J. Szejtli, M. Vikman, E. Fenyvesi, L. Szente, *Carbohydr. Res.*, 214 (1991) 25
- 14.- J.H. Park, M.D. Jang, M.J. Sain, *J. Chromatogr.*, 595 (1992) 45
- 15.- Y. Inoue, Y. Liu, L. -H. Tong, B. -J. Shen, D.-S. Jin, *JACS* 115 (1993)
- 16.- Duchêne, D. ;Wouessidjewe, D. *Pharmaceuticals uses of cyclodextrins and derivates. Drug Dev. Pharm.* **1990**, 16, 175-182.
- 17.- Szejtli, J. *Cyclodextrins in pesticides. Starch-Stärke* **1985**, 37, 382-386
- 18.- O. Dailey, J. Bland, B. Trask-Morrel. *J. Agric. Food Chem.* 41 (1993) 1767-1771
- 19.- J. I. Pérez-Martínez, M. J. Arias, J. M. Ginés, J. R. Moyano, E. Morillo, P. J. Sanchez-Soto and C. Novák. *Chemosphere* 51 (1998) 965-972
- 20.- M. Lezcano, W. Al-Soufi, M. Novo, E. Rodríguez-Núñez, J. Vázquez. *J. Agric. Food Chem* 50 (2002) 108-112
- 21.- J. M. Ginés, J. I. Pérez-Martínez, M. J. Arias, , J. R. Moyano, E. Morillo, A. Ruiz-Conde, P. J. Sanchez-Soto. *Chemosphere* 33 (1996) 321-334
- 22.- M. Kamiya, K. Nakamura. *Environ. Int.* 21 (1995) 299-304

- 23.- M. Kamiya, K. Nakamura, C. Sasaki. Chemosphere 28 (1994) 1961-1967
- 24.- S. Ishiwata, M. Kamiya. Chemosphere 39 (1999) 1595-1600
- 25.- L. Szente. J. Therm. Anal. 51 (1998) 957-963
- 26.- Y. Loukas, E. Antoniadou-Vyza, A. Papadaki-Valiraki, K. Machera. J. Agric. Food Chem 42 (1994) 944-948
- 27.- C. Jiradecha. Nat. Sci. 34 (2000) 171-178
- 28.- L. Bardi, A. Mattei, S. Steffan, M. Marzona. Enzimol. Micr. Technol. 27 (2000) 709-713
- 29.- R.S. Macedo, A.T. Lombardi, C.Y. Omachi, L.R. Rörig. Toxicology in Vitro 22 (2008) 716-722.
- 30.- AFIPA, IMPAA, 2005. Manual fitosanitario:2006-2007. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 31.- G. C. Zhao, J. J. Zhu, J. J. Zhang, H. Y. Chen, Anal. Chim. Acta 394 (1999) 337
- 32.- M. S. Ibrahim, I. S. Shehatta, A. A. Al-Nayeli, J. Pharm. Biomed. Anal. 28 (2002) 217
- 33.- Cigliano et al, Reproduction, Fertility and Devepolment, 14 (2002) 15.

- 34.- J. Mielcarek, E. Daczowska, J. Pharm. Biomed.Anal.,21 (1999) 393.
- 35.- T. Higuchi, K. A. Connors, Anal. Chem. Instrum.,4 (1965) 117.
- 36.- E. M. Garrido, J. L. Costa Lima, C. M. Delerue-Matos, A. M. Oliveira Brett. Talanta 46 (1998) 1131-1135.
- 37.- Rodríguez, J., D. Pinochet y F. Matus. 2001. Fertilización de los Cultivos. LOM Ediciones. Santiago, Chile. 117 p.
- 38.- Honorato, R. 2000. Manual de edafología. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 69 p.
- 39.- C. Yañez, R. Salazar, L.J. Nuñez-Vergara, J. A. Squella, J. Pharm. And Biomedical Analisis, 35 (2004) 51.