

# ENSAYOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DEL BIOPESTICIDA AZADIRACTINA MICROENCAPSULADO

Córdoba Estévez, Mónica; Arata, Juan E.; Pereyro, M. Agustina; Hermida, Laura G.

INTI Química

mcordoba@inti.gov.ar

## Introducción

En un futuro, por cuestiones de regulación ambiental, los pesticidas sintéticos posiblemente sean desplazados por biopesticidas para el control de plagas en el AGRO. La azadiractina (AZA), insecticida ecológico presente en las semillas del árbol de Neem, actúa de modo selectivo sobre más de 200 de especies de insectos siendo de baja toxicidad para el resto de los organismos [1]. El producto comercial empleado habitualmente es una mezcla compleja de sustancias entre las cuales la AZA-A es el componente activo más abundante. El uso de AZA en la agricultura es limitado debido a que es altamente susceptible a la fotodegradación [2,3].

Para sortear esta dificultad se planteó la posibilidad de microencapsular el activo en partículas de etilcelulosa agregando 2-hidroxibenzofenona como estabilizante frente a la luz UV (MP). El agente activo se encuentra formando una estructura matricial junto al polímero, lo que posibilita modular su liberación. De esta manera, se lograría una dispersión homogénea y estable del plaguicida durante su aplicación, se evitarían pérdidas por fotodegradación, se emplearían menores cantidades de activo y se disminuiría el número de aplicaciones [4,5].

## Objetivo

El objetivo de este trabajo fue evaluar durante 20 días la liberación en agua de AZA microencapsulada y comparar su performance frente al activo sin encapsular. Las concentraciones de trabajo en este estudio se encuentran por debajo del límite de detección de detectores convencionales, por ello fue necesario desarrollar el método de análisis cuantitativo mediante HPLC-MS en fase reversa.

## Descripción

Las MP se obtuvieron usando etilcelulosa (EC), un polímero biocompatible que se comercializa en el país. Las partículas se prepararon mediante la técnica de emulsión-evaporación de solvente según lo descrito previamente

(Hermida et al, 2013). En trabajos anteriores se optimizaron algunos parámetros, como el peso molecular de la EC (expresado como viscosidad), la concentración del surfactante empleado, la relación AZA:EC, la concentración de la 2,4 dihidroxibenzofenona (HBF) como estabilizante UV y la relación fase orgánica/fase acuosa de la emulsión (1:3 y 1:5). Las variables de respuesta estudiadas fueron el rendimiento (R%), la eficiencia de encapsulación (EE%), el diámetro medio (Dm) determinado por difracción láser y la morfología, evaluada por microscopía de barrido electrónico (SEM).

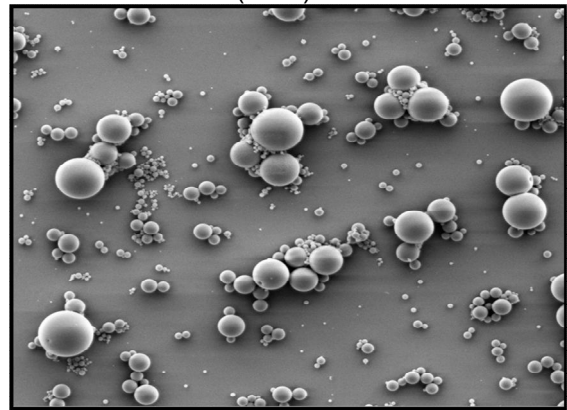


Figura 1: Imagen SEM de micropartículas a 5,000x de AZA+EC+HBF 10%

Sistema	%EE	R%	Dm (µm)
MP-7	73 ± 2	0.037 ± 0.002	0,995

Tabla 1: Eficiencia de Encapsulación (EE%); Rendimiento (R%) y Diámetro medio (Dm) de MP-7

La formulación comercial de Azadiractina es un extracto de semillas de Neem que contiene al menos 30% de AZA A y B.

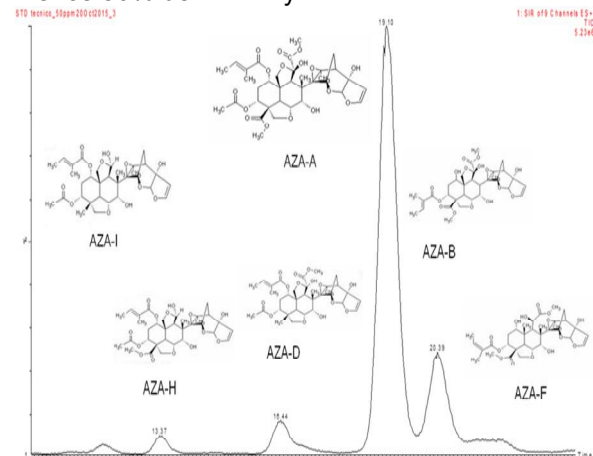


Figura 2: Cromatograma HPLC-MS SIR de los componentes principales de la formulación.

Para la determinación del contenido de AZA-A encapsulado se desarrolló un método por cromatografía líquida de alta performance acoplada a espectrometría de masa (HPLC-MS), con modo de ionización Electrospray positivo (ESI+) operando en el modo "single ion recording (SIR)" y seleccionando el ion del aducto sodiado  $[M+Na]^+$  a 743 m/z correspondiente al componente mayoritario AZA-A.

Se utilizó un equipo Waters Quattro Premier XE equipado con módulo de separación HPLC Alliance (Waters).

La separación por HPLC se llevo a cabo con una columna XTerra RP8, 5 $\mu$ , (4.6x150)mm y fase móvil Agua : Acetonitrilo (65:35) + 0.1% ácido fórmico a un flujo de 0.3mL/min, isocrático.

Para el estudio de liberación se mantuvieron las MP en suspensión en condición *sink* (condiciones de exceso de medio de disolución) en agua con agitación suave protegidas de la luz y a 23°C. De la misma manera se trabajó con una solución de AZA sin microencapsular. Se fueron tomando alícuotas de ambas muestras en el tiempo y se analizaron por duplicado por HPLC-MS SIR .

## Resultados

El porcentaje de liberación de AZA-A se calculó en función del contenido inicial del mismo en las MP. Se presenta en el gráfico el porcentaje de liberación de AZA-A en función del tiempo para las MP-7 y para la solución de AZA sin encapsular.

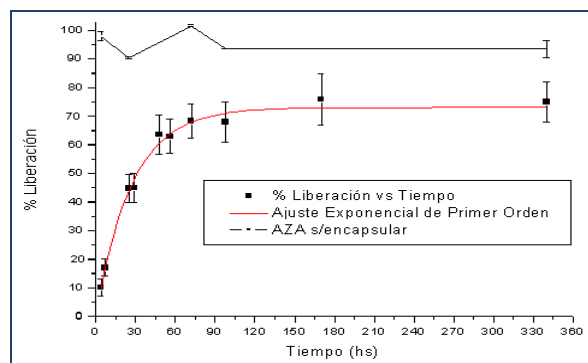


Figura 3: Cinética de liberación de AZA-A en las MP-7 y en la solución de AZA sin microencapsular

En el caso de las MP, se observa un perfil de liberación que se ajusta perfectamente con una curva exponencial de primer orden de fórmula  $Q_t = Q_{\infty} (1 - \exp(-Bt))$  donde  $Q_t$  es el porcentaje de liberación a un cierto tiempo;  $Q_{\infty}$  es el porcentaje de liberación a tiempo infinito y B la constante cinética de liberación.

Sistema	$Q_{\infty}$	B	$R^2$	$t_{1/2}$ (hs)
MP-7	$73 \pm 2$	$0.037 \pm 0.002$	0,995	$19 \pm 1$

Tabla 2.: Tiempo de liberación media y parámetros obtenidos en el ajuste de la curva exponencial de primer orden.

Experimentalmente se observó que al microencapsular el activo se moduló su liberación en el tiempo, obteniéndose un tiempo de liberación media de  $(19 \pm 1)$  hs. A su vez, la liberación del activo no fue completa, ya que se alcanzó un porcentaje de liberación máximo de 73%. Para descartar pérdidas por hidrólisis o degradación del activo en este sistema se cuantificó el contenido remanente en las MP después de las 360hs, dando como resultado un  $(22 \pm 4)\%$ , porcentaje complementario al liberado.

En el caso de la solución de AZA sin microencapsular la concentración del activo se mantuvo constante en el tiempo, lo que indica que no hubo degradación del mismo.

## Conclusiones

El método analítico desarrollado fue apropiado para el estudio de liberación del activo microencapsulado. La alta sensibilidad de la espectrometría de masa permitió cuantificar los bajos niveles de concentración obtenidos en el presente estudio.

Pudo ajustarse el perfil de liberación a un modelo matemático conocido. La cinética de liberación de primer orden tiene como principal característica la dependencia del proceso con la concentración de activo, por ello no es posible llegar a una liberación total del mismo. A futuro sería conveniente evaluar la liberación in vivo de las MP en un sistema que se asemeje aún más a la aplicación en campo.

## Bibliografía

1. Kreutzweiser, T.M. Sutton, R.C., Pangle, Thompson (2004). Aquat. Toxicol.
2. Raizada, R.B.; Srivastava, M.K.; Kaushal, R.A.; Singh, R.P. (2001) Food Chem. Toxicol.
3. Riyajan, S.; Sakdapipanich, J.R. (2009) Chem, Eng. J.
4. Deota, P.T., Upadhy, P.R.; Valodkar, V.B. (2010) Nat. Prod. Res.
5. Rojas, O. (2004) Revista Iberoamericana de Polímeros