PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PASTILLAS CERÁMICAS POROSAS PARA LA UTILIZACIÓN COMO EMISOR DE FEROMONA DE Triatoma infestans

SILVIA MARÍA AQUINO QUIÑÓNEZ

Tesis presentada a la Facultad de Politécnica, Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del título del Grado de Máster en Ciencias de la Computación

> SAN LORENZO – PARAGUAY Julio – 2012

PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PASTILLAS CERÁMICAS POROSAS PARA LA UTILIZACIÓN COMO EMISOR DE FEROMONA DE Triatoma infestans

SILVIA MARÍA AQUINO QUIÑÓNEZ

Orientadora: MAGNA MARIA MONTEIRO SCHAERER, D.SC. Co-tutora: MARÍA CELESTE VEGA GÓMEZ, PHD.

Tesis presentada a la Facultad de Politécnica, Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del título del Grado de Máster en Ciencias de la Computación

> SAN LORENZO – PARAGUAY Julio – 2012

"En la vida las metas nunca se acabarán"

Nunca habremos llegado a la meta, jamás habremos cruzado la línea de la victoria,

pues cada que alcanzas una, tan rápido como una piedra se hunde en el mar, llega una nueva cosa que quieres obtener,

> un nuevo rival que quieres vencer, una felicidad que quieres conseguir, mejor salario, en fin, la vida no tiene una meta, todos luchan por la suya,

pero tarde o temprano estarán compitiendo, incluso luchando por obtener otra victoria, por concluir otra carrera, hasta que otra meta ha de llegar.

Octavio Augusto Aldrete Marquez

PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PASTILLAS CERÁMICAS POROSAS PARA LA UTILIZACIÓN COMO EMISOR DE FEROMONA DE Triatoma infestans

SILVIA MARÍA AQUINO QUIÑÓNEZ

Aprobado el 7 de agosto del 2012

Prof. Marize Varella de Oliveira, D.Sc.

Prof. María Celeste Vega Gómez, PhD.

Prof. Magna Maria Monteiro Schaerer, D.Sc.

A mis padres. A mis hermanos. A mi abuelo que en paz descansa. A mi ahijada.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado salud y fortaleza para la realización de éste trabajo de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), programa 1698OC/PR-CONACYT/Paraguay, por la posibilidad de realizar la maestría gracias a la adjudicación de una beca completa.

A mi orientadora Dr. Magna Monteiro, por haberme apoyado y guiado con esfuerzo y dedicación en el desarrollo de la tesis.

A mi co-orientadora investigadora PhD. Celeste Vega Gómez, por la inestimable ayuda en lo que fuese necesario y por su motivación para llevar a cabo éste trabajo de investigación.

A todas las personas que hicieron posible la realización de los análisis de laboratorio necesarios para este trabajo de investigación pueda ser desarrollado. Así, gracias al investigador Dr. Alexandre Antunes Ribeiro, Aline C. Carvalho M., Felipe Mello G., del Instituto Nacional de Tecnologia (INT) del Laboratório de Tecnologia de Pós (LATEP), por la preparación de las muestras para el análisis de FTIR. Gracias a Claudete N. Kunigami del INT del Laboratório de Química Analítica e Metrologia em Química (LAQAM), por la realización del análisis FTIR. Gracias a Fábio H. Silva del INT-LATEP, por la realización del análisis de porosimetría de mercurio. Gracias a Fernanda C. de C.S. Santos, del INT del Centro de Caracterização em Nanotecnologia (CENANO), por la realización del análisis de SEM. Gracias a Valeria C. Alves M. del Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) del Laboratório de Cristalografía e Difração de Raios-X, por la realización del análisis de DRX. Gracias a la investigadora Dra. Marize Varella de Oliveira, del Instituto Nacional de Tecnologia (INT), Divisão de Processamento e Caracterização de Materiais, por la coordinación de todos los análisis citados más arriba.

A la Facultad de Ingeniería y Facultad de Ciencias Químicas, ambas de la Universidad Nacional de Asunción y al Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN) por haber proporcionado algunos equipamientos para la realización de la parte experimental de la tesis. Al Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC) por haber proporcionado las vinchucas y la feromona para la realización del experimento biológico.

A mi hermano José, por haberme ayudado en la elaboración de la caja de ensayo *in vivo*.

A mis compañeras, Johanna, Omayra, Lili y Sindry, por brindar un ambiente de trabajo cálido y ayuda en momentos que lo he necesitado.

Finalmente a mi familia, por contar siempre con su apoyo y aliento en la culminación de ésta maestría.

PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PASTILLAS CERÁMICAS POROSAS PARA LA UTILIZACIÓN COMO EMISOR DE FEROMONA DE Triatoma infestans

Autor: Silvia María Aquino Quiñónez Orientadora: Magna Maria Monteiro Schaerer Co-tutora: María Celeste Vega Gómez

RESUMEN

En Paraguay, así como en los demás países latinoamericanos, la enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana es uno de los problemas en el área de la salud pública. Ésta enfermedad es causada por el parásito Trypanosoma cruzi, siendo el Triatoma infestans o comúnmente llamado vinchuca su principal vector en gran parte de América del Sur. Una de las técnicas desarrolladas en Paraguay para el control vectorial del T. infestans se realiza mediante la utilización de diferentes feromonas como atractantes. Esta técnica tiene el inconveniente de la rápida liberación del atractante. Por lo expuesto anteriormente el objetivo del trabajo fue elaborar pastillas cerámicas porosas para la utilización como emisor de feromona que presente una velocidad de liberación lenta, de manera a reducir la frecuencia de visitas a la zona de monitoreo y así disminuir considerablemente los costos del proceso. Fueron analizados 4 tipos de materiales: vidrio pyrex, vidrio ámbar, hidroxiapatita y caolín. Los materiales pasaron por los procesos de molienda, tamizado, mezcla, compactación y sinterización. Como agente porogénico fue utilizado almidón de maíz a distintas concentraciones, de modo a determinar la influencia de la porosidad en la liberación de la feromona. Las pastillas obtenidas fueron caracterizadas por difracción de rayos-X, espectrometría infrarroja por Transformada de Fourier, microscopía electrónica de barrido y porosimetría de mercurio. Las pastillas fueron impregnadas con 200 µl de benzaldehído, sustancia identificada como feromona sexual de T. infestans. Los ensayos de liberación de feromona fueron realizados a temperaturas medias de 29 y 39°C, de modo a observar la influencia de la temperatura en el tiempo de liberación de la feromona. Además se realizaron ensayos biológicos preliminares de manera a determinar la eficacia de las pastillas en la atracción de las vinchucas. Entre los materiales analizados, el caolín resultó ser el material más adecuado ya que cumplió con la expectativa de tiempo de liberación prolongado además de otros parámetros como buena cantidad de adsorción de feromona y un buen poder atractante.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF POROUS CERAMIC PELLETS FOR USE AS RELEASE VEHICLE FOR Triatoma infestans PHEROMONE

Author: Silvia María Aquino Quiñónez Advisor: Magna Maria Monteiro Schaerer Co-advisor: María Celeste Vega Gómez

SUMMARY

In Paraguay, as well as other Latin American countries, Chagas disease, also known as American trypanosomiasis is one of the problems in the area of public health. This disease is caused by the parasite Trypanosoma cruzi, being Triatoma infestans or vinchuca commonly called, the main vector in most of South America. One of the techniques developed in Paraguay for vector control of T. infestans is performed by use of different pheromones as attractants. This technique has the disadvantage of rapid release of attractant. Thus, the purpose of this study was to develop porous ceramic pellets for use as slow release vehicle for T. infestans attractants, so as to reduce the frequency of visits to the monitoring area and thus significantly reduce process costs. Four powders of different materials were tested: pyrex glass, amber glass, hydroxyapatite and kaolin. The materials had as process steps grinding, sieving, mixing, compaction and sintering process. Corn starch was used as a porous agent at different concentrations in order to verify the influence of the porosity in the release of the pheromone. The pellets obtained were characterized by X-ray diffraction, Fourier transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy and mercury porosimetry. Pellets were then impregnated with 200 µl of benzaldehyde, substance identified as T. infestans sex pheromone. Pheromone release assays were performed at two different temperatures, 29 and 39°C, in order to determine the influence of temperature in the release time of the pheromone. Furthermore, preliminary bioassays were conducted in order to determine the vinchuca attraction pellets effectiveness. Among the materials analyzed, the kaolin was found to be the most appropriate material because it showed an expectation of prolonged release time and other desired parameters such as good amount of pheromone adsorption and a good attractant power.

ÍNDICE

Página

| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
|--|----|
| 1.1 Preguntas de investigación | 3 |
| 1.2 Objetivo general | 3 |
| 1.3 Objetivos específicos | 3 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| 2.1 Enfermedad de Chagas | 4 |
| 2.1.1 Antecedentes | 4 |
| 2.1.2 Signos y síntomas de la enfermedad | 6 |
| 2.1.3 Modos de transmisión de la enfermedad | 7 |
| 2.1.3.1 Transmisión vectorial | 7 |
| 2.1.3.2 Transmisión sanguínea | 7 |
| 2.1.3.3 Transmisión congénita | 7 |
| 2.1.3.4 Transmisión por trasplante de órganos | 7 |
| 2.1.3.5 Transmisión accidental | 8 |
| 2.1.3.6 Transmisión oral | 8 |
| 2.2 Vectores de la enfermedad del mal de Chagas | 8 |
| 2.2.1 Taxonomía | 8 |
| 2.2.2 Distribución geográfica | 9 |
| 2.2.3 Morfología externa de los triatominos | 10 |
| 2.2.4 Metamorfosis | 11 |
| 2.2.5 Triatoma infestans | 13 |
| 2.3 Control y prevención | 14 |
| 2.3.1 Control de <i>Tritoma infestans</i> por medio de feromonas | 15 |
| 2.4 Descripción de los materiales a ser analizados | 16 |
| 2.4.1 Vidrios | 17 |
| 2.4.2 Hidroxiapatita | 19 |
| 2.4.3 Caolín | 20 |
| 2.5 Técnicas de caracterización | 22 |
| 2.5.1 Difracción de rayos-X (DRX) | 22 |
| 2.5.2 Espectrometría infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) | 25 |

| 2.5.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM) | 29 |
|---|----------|
| 2.5.4 Porosimetria de mercurio | 29 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 30 |
| 3.1 Proceso de producción de las pastillas | 30 |
| 3.2 Análisis de caracterización de las pastillas | 32 |
| 3.3 Ensayo de liberación de la feromona | 33 |
| 3.4 Ensayos biológicos experimentales de pre-campo | 33 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 37 |
| 4.1 Caracterización de las pastillas cerámicas porosas obtenidas | 37 |
| 4.1.1 Vidrios pyrex y ámbar | 37 |
| 4.1.2 Hidroxiapatita | 42 |
| 4.1.3 Caolín | 46 |
| 4.2 Impregnación de feromona | 50 |
| 4.2.1 Interacción entre la pastilla cerámica porosa de caolín y el | |
| benzaldehído | 51 |
| 4.3 Liberación de feromona | 52 |
| 4.3.1 Ensayo a temperatura ambiente | 52 |
| 4.3.2 Ensayo a temperatura media de 39°C | 56 |
| 4.4 Ensayos biológicos preliminares | 58 |
| 4.5 Selección del material más apropiado como liberador de feromona | |
| sexual | 64 |
| | |
| 5. CONCLUSIONES | 66 |
| 5. CONCLUSIONES REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 66 67 |

LISTA DE FIGURAS

Página

| 1. | Distribución geográfica de principales especies de vectores triatominos en América | | | | |
|-----|--|----|--|--|--|
| 2. | Morfología general de un triatomino adulto | 11 | | | |
| 3. | Metamorfosis de <i>T. infestans</i> . Fases de desarrollo de huevo hasta adulto hembra. | 11 | | | |
| 4. | Lugares donde puede ser encontrado T. infestans | 14 | | | |
| 5. | Representación gráfica de las diferencias estructurales entre un cristal (a) y un vidrio (b) | 17 | | | |
| 6. | Estructura cristalina de la hidroxiapatita | 19 | | | |
| 7. | Estructura de una caolinita | 21 | | | |
| 8. | Espectro de difracción de rayos-X de una muestra de sílice dopada con hierro obtenida en determinadas condiciones. Sin cristalinidad | 22 | | | |
| 9. | Ejemplo de difractograma de rayos-X de una muestra de Hap. de origen bovino | 23 | | | |
| 10. | Difractogramas de rayos-X de distintas muestras de caolín | 24 | | | |
| 11. | Espectro FTIR de una determinada muestra de caolín | 27 | | | |
| 12. | Espectro FTIR del benzaldehído | 28 | | | |
| 13. | Espectro FTIR del ácido benzoico | 28 | | | |
| 14. | Caja para ensayos biológicos experimentales de pre-campo. Superior: vista lateral. Inferior: vista frontal | 34 | | | |
| 15. | Trampa sensora de vinchucas. Izquierda: vista frontal. Derecha: vista lateral | 35 | | | |
| 16. | Vinchucas utilizadas en el ensayo biológico | 35 | | | |
| 17. | Pastillas cerámicas porosas elaboradas | 37 | | | |
| 18. | DRX de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico. | 37 | | | |

| 19. FTIR de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico. | 38 |
|---|----|
| 20. FTIR de pastillas elaboradas de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico | 38 |
| 21. FTIR de pastillas elaboradas de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico | 39 |
| 22. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x8000) | 40 |
| 23. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de vidrio ámbar. Ámbar- T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x4000) | 41 |
| 24. DRX de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico. | 42 |
| 25. FTIR de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico. | 43 |
| 26. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x4000). | 44 |
| 27. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 corresponden a 0 y 10% p/p respectivamente de agente porogénico (x16000) | 45 |
| 28. DRX de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico. | 47 |
| 29. FTIR de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico | 47 |
| 30. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x8000) | 49 |

| 31. Espectrograma infrarrojo de una pastilla caolín-T3 impregnada con benzaldehído | 52 |
|--|----|
| 32. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T2 y T3 corresponden a 10 y 20% respectivamente de agente porogénico | 53 |
| 33. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de vidrio ámbar. Ámbar- T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico | 54 |
| 34. Variación de la masa con relación al tiempo (29°C) a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico. | 54 |
| 35. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29° C de las pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico. | 55 |
| 36. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 39° C de las pastillas de hidroxiapatita y caolín | 58 |
| 37. Vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 60 |
| 38. Vinchucas hembras capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastillas Caolín-T3, a los 24 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 61 |
| 39. Vinchucas ninfas capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 29 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 61 |
| 40. Vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona | 63 |
| | |

LISTA DE TABLAS

| 1. | Composición del vidrio ámbar para envases | 19 |
|-----|---|----|
| 2. | Picos característicos de difracción de rayos-X de la hidroxiapatita | 23 |
| 3. | Picos característicos de DRX para algunos minerales (generalmente presentes en una muestra de caolín) | 24 |
| 4. | Principales bandas infrarrojas características de la hidroxiapatita $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ | 26 |
| 5. | Denominación de cada pastilla de pyrex, ámbar, hidroxiapatita y caolín con su correspondiente composición en almidón | 31 |
| 6. | Ensayo biológico a los 19 días de haber iniciado el proceso de liberación de feromona de las pastillas porosas | 36 |
| 7. | Ensayo bilógico a los 95 días de haber iniciado el proceso de liberación de feromona de las pastillas porosas | 36 |
| 8. | Área superficial total de las pastillas de hidroxiapatita a distintas concentraciones del agente porogénico sinterizadas a 1000°C | 46 |
| 9. | Área superficial total de las pastillas de caolín a distintas concentraciones de agente porogénico sinterizadas a 900°C | 48 |
| 10. | Peso de las pastillas porosas de los distintos materiales en estudio sin y con feromona adsorbida (gramos) | 50 |
| 11. | Eficacia de atracción de la trampa con pastilla. Ensayo bilógico realizado a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 59 |
| 12. | Eficacia de atracción de la trampa con pastilla. Ensayo bilógico realizado a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 60 |
| 13. | Eficacia de las pastillas respecto al sexo de las vinchucas. Ensayo biológico a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. | 62 |
| 14. | Eficacia de las pastillas respecto al sexo de las vinchucas. Ensayo biológico a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona | 62 |

Página

| 15 | . Comparación | entre | los | resultados | obtenidos | por | las | pastillas | |
|----|-----------------|----------|-------|----------------|-----------|-----|-----|-----------|----|
| | elaboradas a pa | artir de | hidro | oxiapatita y c | aolín | | | | 65 |

1. INTRODUCCIÓN

En Paraguay, así como en los demás países latinoamericanos, la enfermedad de Chagas es uno de los problemas en el área de salud pública. Ésta enfermedad es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, siendo el *Triatoma infestans* o comúnmente llamada vinchuca su principal vector en gran parte de América del Sur [Schmuñis, 2000]. Los programas de prevención del mal de Chagas trabajan para evitar la propagación de la enfermedad vía transmisión vectorial, congénita, transfusional y por trasplante; siendo el control vectorial el método más eficaz de prevención del tripanosomiasis en América Latina, ya que la principal vía de transmisión de la enfermedad es la vectorial.

Factores ambientales, como la presencia de vectores triatominos, mamíferos reservorios, viviendas precarias y personas expuestas, crean las condiciones propicias para mantener la transmisión eficaz de la enfermedad y su endemicidad. La enfermedad de Chagas se presenta en América Latina pero las manifestaciones de la enfermedad y las características epidemiológicas varían desde un área endémica a otra, y la tasa de prevalencia, características parasitarias, patología clínica, vectores y huésped reservorios difieren ampliamente. Más que cualquier otra enfermedad parasitaria, la enfermedad de Chagas está cercanamente relacionada con el desarrollo social y económico [OMS, 2002].

El Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas en Paraguay trabaja activamente para eliminar el *T. infestans* de las casas y sus alrededores mediante controles químicos con insecticidas. Existe un sistema de vigilancia entomológica para identificar aquellas viviendas re-infestadas por el vector luego de las campañas masivas del rociado químico. Este sistema se basa en la búsqueda activa del vector por parte de líderes comunitarios y por funcionarios del Servicio Nacional de Control de Vectores (SENEPA) [Rojas de Arias *et al.*, 2011].

Actualmente en la región Oriental del Paraguay fue declarada la interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por el vector *T. infestans*, no así en la región Occidental, por lo que ésta sigue siendo una zona que se encuentra en camino hacia la eliminación de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas [Rojas de Arias *et al.*, 2011].

Fontan *et al.*, 2002, mostraron que aldehídos alifáticos y benzaldehído atraen a insectos de *T. infestans*. Una alternativa experimental para la realización del control vectorial consistió en desarrollar una trampa, en la cual se introduce una bolsita de polietileno conteniendo un tipo de feromona que atrae a la vinchuca [Román *et al.*, 2010]. La dificultad de la utilización de estas bolsitas es la rápida liberación del atractante, que dura alrededor de 20 días (datos no publicados), lo que implica que el personal se traslade varias veces al local infestado para reponer la bolsita, y así completar el periodo de monitoreo, tornando el control vectorial un trabajo costoso debido a las grandes distancias.

Por todo lo mencionado anteriormente, se buscó resolver el problema expuesto produciendo pastillas porosas utilizando diferentes materiales tales como vidrio pyrex, vidrio ámbar, hidroxiapatita y caolín, con la intención de evaluar el material que mejor comportamiento muestre como difusor de lenta liberación del agente atractante del *T. infestans* con el fin de reducir costos disminuyendo el número de desplazamientos del personal a la zona de monitoreo.

Las pastillas porosas producidas fueron caracterizadas por medio de estudios de espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos-X (DRX), microscopia electrónica de barrido (SEM) y porosimetría de mercurio.

Para éste estudio fue seleccionada como feromona sexual al benzaldehído. El monitoreo de liberación de la feromona fue realizado por medio del pesaje diario de las pastillas.

Se realizaron pruebas preliminares de eficacia con vinchucas adultas; hembras y machos, así como también con vinchucas del último estadío ninfal, con el objetivo de determinar la eficiencia de las pastillas en la atracción de las vinchucas.

1.1 Preguntas de investigación

- ¿Cómo afecta la porosidad de las pastillas en la cantidad de feromona adsorbida por las mismas?
- ¿Cómo afecta la temperatura en el tiempo de liberación de la feromona por las pastillas?
- ¿En cuánto tiempo se libera toda la feromona de las pastillas?
- ¿Cuál es la eficacia de las pastillas como atractantes de *T. infestans*?

1.2 Objetivo general

• Elaborar un emisor de lenta liberación de benzaldehído como feromona atractante de *T. infestans* para utilizarlo dentro del sistema de control de re-infestación.

1.3 Objetivos específicos

- Procesar distintos materiales para la elaboración de pastillas porosas para su utilización como emisor de feromona de *T. infestans*.
- Determinar el efecto de la porosidad de los diferentes materiales en la cantidad adsorbida de la feromona.
- Determinar el efecto de la temperatura en la cantidad y tiempo de liberación de la feromona de cada uno de los materiales.
- Identificar el o los materiales que presenten mejor comportamiento en cuanto a cantidad de feromona adsorbida así como tiempo y cantidad de liberación de la misma.
- Determinar la eficacia del o los materiales seleccionados como atractantes de *T. infestans* en ensayos de pre-campo en el laboratorio.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas, también llamada tripanosomiasis Americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*. Se encuentra sobre todo en América Latina, donde se transmite a los seres humanos principalmente por las heces de insectos triatominos conocidos como vinchucas, chinches o con otros nombres, según la zona geográfica.

2.1.1 Antecedentes

La enfermedad lleva el nombre de Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, médico brasileño que la descubrió en 1909 cuando reconoció en su casa a una niña de dos años, que presentaba un cuadro clínico caracterizado por fiebre y decaimiento, unos síntomas que ya había observado anteriormente en numerosas personas, y con seguridad no eran causados por la malaria. Chagas realizó una completa descripción del cuadro clínico y tomó muestras de sangre en las que por primera vez encontró *T. cruzi* en un ser humano. Había desvelado el ciclo completo de la enfermedad [Grau, 2004].

Originalmente, la infección por *T. cruzi* era una zoonosis silvestre que, posteriormente, se convirtió también en una entidad domiciliaria después de un proceso de captación del parásito por el ser humano. La participación del hombre en la cadena epidemiológica se inició cuando éste invadió el ambiente silvestre. Las modificaciones antrópicas del medio llevaron a su desmantelamiento progresivo y tuvieron como consecuencia una reducción de la fauna silvestre. La edificación por el hombre de viviendas con paredes de barro o madera llenas de grietas y techo vegetal ofreció el biotopo apropiado a triatominos huyendo de su medio natural amenazado por la reducción gradual de la fauna silvestre. Sin embargo, los ciclos silvestres y domiciliarios de *T. cruzi* quedan interdependientes en las áreas donde permanece la circulación del parásito en los mamíferos reservorios [Alfred *et al.*, 1999].

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (2010), se calcula que a nivel mundial, unos 10 millones de personas están infectadas, principalmente en

América Latina, donde la enfermedad de Chagas es endémica. Más de 25 millones de personas están en riesgo de adquirir la enfermedad. Se calcula que en el año 2008 esta enfermedad mató a más de 10 mil personas.

Desde el descubrimiento de la enfermedad, se han logrado muchos avances respecto a su conocimiento y se ha trabajado en su control, vigilancia, diagnóstico y tratamiento. Todas las iniciativas sobre medidas preventivas o de control se han enfocado hacia la reducción de la población vectorial [Guhl, 2009]. Así si crearon las siguientes iniciativas continentales para el control de los principales vectores de la enfermedad de Chagas:

- Cono Sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay).
- Andina (Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela).
- Centroamérica (El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua).
- Amazonia (Bolivia, Brasil, Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela, Guyana, Guayana Francesa, Surinam).
- México.

En julio de 1991, se celebró una reunión de ministros de salud de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay en Brasilia, donde nació la iniciativa del Cono Sur y se decidió la implementación de una estrategia con el fin de eliminar la enfermedad de Chagas por medio de la interrupción de la transmisión vectorial y el examen sistemático de donadores de sangre. Los objetivos incluyeron la eliminación de *T. infestans* de viviendas y ambientes peri domiciliarios en áreas endémicas y la eliminación de la transmisión de la infección a través de transfusiones por medio de mejoras en las detecciones de donadores de sangre [Schofield *et al.*, 1997; OMS, 2002].

En 1997, en Santa Fé de Bogotá, Colombia se decidió establecer una Iniciativa Andina basada en la Iniciativa del Cono Sur con el objetivo de la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional de la enfermedad de Chagas en la subregión [OMS, 2002].

La iniciativa de Centroamérica se creó en el año 1998 e involucró a los países de El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua con los objetivos de la eliminación de vectores como *R. prolixus*. [OMS, 2002].

En el año 1939 fue identificado el primer caso de Chagas autóctono en el chaco paraguayo. A partir de éste hecho, se realizaron muchos trabajos con el fin de estudiar la situación de la enfermedad en el Paraguay. Así entre 1999 y 2005 las acciones de control vectorial fueron realizadas en forma sistemática. En el año 2002 se dio inicio a un programa piloto que de forma innovadora implementa un sistema de vigilancia entomológica para captar aquellas viviendas re-infestadas por el vector, luego de las campañas masivas de rociado químico. A partir del año 2008, luego de las acciones de control realizadas sistemáticamente con apoyo de las fuerzas vivas de las comunidades endémicas de la región oriental del país, se certificó el corte de transmisión de *T. cruzi* por el vector *T. infestans*, no así en la región Occidental, por lo que ésta sigue siendo una zona que se encuentra en camino hacia la eliminación de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas [Rojas de Arias *et al.*, 2011].

La Organización Panamericana de la Salud certificó a Uruguay como el único país de América Latina libre de *T. infestans* como problema de salud pública. Uruguay en 1997 fue el primer país que controló la transmisión vectorial y sanguínea de la enfermedad y en 2011 ha eliminado de su territorio la presencia del insecto transmisor [OPS, 2012].

2.1.2 Signos y síntomas de la enfermedad

La enfermedad de Chagas tiene dos fases claramente diferenciadas. Inicialmente, la fase aguda dura unos dos meses después de contraerse la infección. Durante esta fase aguda circulan por el torrente sanguíneo una gran cantidad de parásitos. En la mayoría de los casos no hay síntomas o éstos son leves. Puede haber fiebre, dolor de cabeza, agrandamiento de ganglios linfáticos, palidez, dolores musculares, dificultad para respirar, hinchazón y dolor abdominal o torácico. En menos del 50% de las personas picadas por un triatomino, un signo inicial característico puede ser una lesión cutánea o una hinchazón amoratada de un párpado [OMS, 2010].

Durante la fase crónica, los parásitos permanecen ocultos principalmente en el músculo cardiaco y digestivo. Hasta un 30% de los pacientes sufren trastornos cardiacos y hasta un 10% presentan alteraciones digestivas (típicamente, agrandamiento del esófago o del colon), neurológicas o mixtas. Con el paso de los

años, la infección puede causar muerte súbita o insuficiencia cardiaca por la destrucción progresiva del músculo cardiaco [OMS, 2010].

2.1.3 Modos de transmisión de la enfermedad

2.1.3.1 Transmisión vectorial

El parásito *T. cruzi* se deposita pasivamente en la piel a través de las heces de insectos triatominos, penetrando en el cuerpo por la herida que causa la picadura u otras abrasiones de la piel o de la mucosa. La mayoría de los casos de la enfermedad de Chagas pueden ser atribuidos a los principales vectores domiciliares como *Panstrongylus megistus, Rhodnius prolixus, Triatoma brasiliensis, T. dimidiata,* and *T. infestans* [OMS, 2002].

2.1.3.2 Transmisión sanguínea

Inicialmente la enfermedad de Chagas fue principalmente una infección rural, pasando luego a una infección urbana, causada por la transmisión transfusional debido a la migración de la población rural de áreas endémicas hacia las grandes ciudades. La migración de personas infectadas por *T. cruzi* plantea un problema de salud pública, incluso en países en los que no hay transmisión vectorial del parásito, como Canadá, EE.UU., España y otros de Europa, donde se han comunicado casos de transmisión de *T. cruzi* por productos sanguíneos y también casos congénitos [OMS, 2002].

2.1.3.3 Transmisión congénita

La enfermedad de Chagas congénita inicialmente se limitaba a las zonas rurales, sin embargo, cada vez se notifica con mayor frecuencia en ciudades donde no hay transmisión vectorial pero que gran número de madres infectadas en edad de maternidad han migrado de las zonas rurales. Se han notificado casos de enfermedad de Chagas congénita en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Guatemala, Honduras, Paraguay, Uruguay y Venezuela [OMS, 2002].

2.1.3.4 Transmisión por trasplante de órganos

Esta transmisión se produce cuando pacientes reciben órganos donados de personas infectadas. Se ha reportado transmisión por trasplante sobre todo en casos de trasplante de riñón. Los trasplantes de corazón, médula ósea y páncreas de donantes vivos y muertos son también posibles causas de transmisión de la enfermedad de Chagas [OMS, 2002].

2.1.3.5 Transmisión accidental

Este tipo de transmisión ocurre cuando técnicos, médicos, investigadores manipulan materiales contaminados como excretas de triatominos, cultivos de parásitos y sangre infectada de seres humanos y animales [OMS, 2002].

2.1.3.6 Transmisión oral

Existen registros de transmisión oral de la enfermedad de Chagas, debido a la ingesta de alimentos contaminados con triatominos infectados o con sus excretas. La transmisión oral de *T. cruzi* ha sido ampliamente documentada en la Amazonía brasileña, en donde los habitantes locales consumen jugo de frutos de palmeras que al cosecharlos, accidentalmente, se procesan también triatominos silvestres infectados, de manera que el jugo de los frutos se contamina con las heces infectadas de los insectos vectores [OMS, 2002].

2.2 Vectores de la enfermedad del mal de Chagas

Se conocen 130 especies de vectores de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, solo pocas especies de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* son vectores importantes de *T. cruzi* entre animales domésticos y humanos [OMS, 2002; Guhl, 2009].

2.2.1 Taxonomía

El orden Hemiptera, ubicado taxonómicamente dentro de la clase Insecta, tiene como familia a Reduvidae en la que se ubica la subfamilia de los Triatomas que están adaptados a chupar sangre de vertebrados. Dentro de éstos triatomas se encuentran los vectores del *Trypanosoma cruzi*; agente etiológico de la enfermedad de Chagas [Sherlock, 2000].

Durante la alimentación sanguínea de un mamífero infectado, el triatomino ingiere los tripanosomas, los cuales después de la multiplicación y metaciclogénesis en el tubo digestivo del insecto son eliminados en sus heces y pueden infectar nuevos hospederos vertebrados. A pesar de que posean diversos hábitos, todas las especies de triatominos son potencialmente vectores del *T. cruzi*. Felizmente pocos son importantes del punto de vista epidemiológico [Sherlock, 2000].

Los nombres vulgares de los triatominos en español son: chepito, chinche bebe-sangre, chincha-jurupucu, chinche-mamona, chinche de los montes, chinchepicuda, chinche del suelo, chinche de vace, chinchona, chichorra, chinchupa, pelados, pik, quipito, talaje, vinchuca [Sherlock, 2000].

2.2.2 Distribución geográfica

Se considera que 6 especies, capaces de adaptarse y colonizar la casa del hombre, presentan una significación epidemiológica importante en América del Sur: *T. infestans* (vinchuca), *T. brasiliensis, T. dimidiata, T. sordida, P. megistus* y *R. prolixus*. Una séptima especie, *R. pallescens*, tiene un rol epidemiológico importante en América Central. *T. infestans* tiene una amplia distribución en los países del Cono Sur: Bolivia, Chile, Perú, Argentina, Paraguay, Uruguay y Brasil [Alfred *et al.*, 1999]. En la Figura 1 se puede observar la distribución geográfica de las 3 especies de vectores triatominos de mayor importancia epidemiológica de la enfermedad de Chagas.



Figura 1. Distribución geográfica de principales especies de vectores triatominos en América.

El Paraguay se encuentra dividido en dos regiones: Occidental o Chaco y Oriental. Las dos regiones citadas se diferencian en cuanto a sus características ecológicas, demográficas así como en la intensidad de la transmisión de la enfermedad de Chagas. Las poblaciones de *T. infestans* provenientes de las regiones Occidental y Oriental presentan una baja variabilidad genética. El monomorfismo observado constituye una ventaja para el control químico de estos insectos, ya que vuelve menos probable la aparición de variantes resistentes [Acosta *et al.*, 2002].

2.2.3 Morfología externa de los triatominos

Los triatominos miden en la fase adulta, cerca de 1.6 mm a 44 mm. En el primer estadio, pueden ser microscópicas. Las hembras generalmente son mayores que los machos. El color general de los triatominos va del negro al amarillo pálido, con una combinación de manchas y diseños variados, de colores negro, blanco, castaño-claro y oscuro, amarillo pálido, rojo o anaranjado.

El triatomino está constituido de piezas especializadas (labro, hipofaringe, epifaringe) destinadas a perforar la piel y a conducir la sangre. [Sherlock, 2000].

En la fase adulta los triatominos poseen un par de alas mesotorácicas del tipo hemiélitros y un par de alas metatorácicas membranosas; ambos tipos son utilizados para volar. La mayoría de las especies son capaces de volar cuando están vacías de contenido alimenticio. Cuando están satisfechos de sangre, quedan incapacitados para el vuelo pues están muy pesados. La presencia de alas es una de las más perceptibles diferencias morfológicas entre los adultos y las fases ninfas de desarrollo. [Sherlock, 2000]. A continuación se presenta la morfología general de un triatomino cualquiera (Figura 2).



Figura 2. Morfología general de un triatomino adulto.

2.2.4 Metamorfosis.

Los triatominos son hemimetábolos (no poseen estado pupal). Su desarrollo contempla las fases de huevo, ninfas y adultos (Figura 3).



Figura 3. Metamorfosis de *T. infestans*. Fases de desarrollo de huevo hasta adulto hembra.

El huevo es blanquecino y operculado, y a medida que se desarrolla el embrión se torna de rosado a rojizo. Las ninfas poseen cinco estadios [Sherlock, 2000]. El ciclo de vida es largo. La mayoría de los triatominos completan su desarrollo entre 5 y 12 meses. Algunos ciclos pueden acortarse o demorarse en

dependencia de la temperatura. Temperaturas por debajo de 16°C y 37°C pueden causar la muerte al individuo [Marquetti, 2003].

Los huevos son puestos entre 10 a 20 días después de la cópula. El total de huevos puestos por la hembra y la frecuencia de oviposición dependen principalmente de la cantidad de sangre ingerida. Cada hembra pone de 100 a 600 huevos durante su fase adulta, que es de 3 a 12 meses. Los huevos eclosionan de 10 a 30 días después de su puesta dependiendo de la temperatura [Marquetti, 2003].

Los diferentes estadios ninfales pueden ser distinguidos por medio del tamaño de la cápsula de la cabeza y las patas. Casi siempre se alimentan sobre una amplia variedad de hospederos, así como de los adultos presentes en el mismo hábitat y pueden tomar sangre hasta nueve veces su propio peso, mientras que los adultos cerca de dos a cuatro veces su peso. En algunas ocasiones una simple toma de sangre es suficiente para comenzar la muda para el próximo estadio. La mayoría de los triatominos son nocturnos y se alimentan por las noches cuando sus hospederos están reposando [Marquetti, 2003].

Las ninfas y adultos durante la alimentación o poco después de esta comienzan a defecar. Estas deyecciones están compuestas fundamentalmente por exceso de agua y ácido úrico. El tiempo de defecación en relación con el contacto hombre-vector es importante en la transmisión de *T. cruzi*, ya que las formas metacíclicas infectivas del parásito salen con las heces. Así, los buenos vectores son aquellos que defecan sobre el hospedero mientras se están alimentando.

En la metamorfosis, los caracteres estructurales de las cutículas y sus pigmentos pasan por modificaciones, notándose un progresivo crecimiento y diferenciación de los lóbulos de las alas a medida que ocurre el desarrollo. En el último estadio, los rudimentos del genital comienzan a diferenciarse. Los cambios de las ninfas hasta el quinto estadio son muy pequeños, en comparación con la metamorfosis que ocurre cuando la larva del quinto estadio se transforma en adulto [Sherlock, 2000]. Los adultos difieren de los estadios ninfales en que poseen la presencia de alas bien desarrolladas y que son sexualmente maduros. En la fase adulta es donde el abdomen se transforma, las hembras presentan una apariencia lobulada, mientras que los machos presentan una terminación más o menos redondeada cuando son vistos dorsalmente [Marquetti, 2003]. También los apéndices genitales se desenvuelven, el tórax queda prominente (puntiagudo), se forman músculos en los alares y los lóbulos alares se transforman en alas funcionales. Los ocelos aparecen por primera vez, y toda la estructura de la cutícula es modificada no pudiendo observarse, como en las ninfas, la distensión abdominal [Sherlock, 2000].

2.2.5 Triatoma infestans

T. infestans es la principal especie vectora de *T. cruzi* en gran parte de América del Sur, extendiéndose su distribución desde el sur de Argentina hasta la región nordeste de Brasil. Está extremadamente domiciliada, viviendo en los microclimas de las habitaciones humanas, independientemente del clima externo. Raras veces fue encontrado en madrigueras de animales silvestres, alimentándose de pequeños roedores [Sherlock, 2000].

En Paraguay, *T. infestans* se encontraba bastante diseminado en el territorio nacional, sin embargo actualmente su mayor densidad se encuentra en la Región Occidental o Chaco. Sus hábitos son casi exclusivamente domiciliarios. No obstante en ésta región se ha encontrado en áreas silvestres [Rolón *et al.*, 2011].

Los ecótopos preferidos de *T. infestans* son las grietas formadas por el desecamiento del barro en las paredes de las casas de barro (Figura 4), donde colocan los huevos y nacen las ninfas del primer estadio, completándose el ciclo vital. Durante el día, el insecto se mantiene escondido en las grietas y por las noches salen de sus escondites para succionar a sus víctimas. Se las encuentra también en las residencias más infestadas en los techos, revestimientos, camas, baúles. Se verificó que la especie *T. infestans* manifestó preferencia casi absoluta por las casas de barro, seguido por las de maderas, siendo poco encontradas en casas de tejas [Sherlock, 2000].



Figura 4. Lugares donde puede ser encontrado T. infestans.

2.3 Control y prevención

La enfermedad de Chagas no puede ser erradicada porque es una zoonosis. La gran cantidad de animales reservorios también imposibilita eliminar todas las fuentes de infección. No hay vacuna contra la enfermedad de Chagas [OMS, 2002; Guhl, 2009; OMS, 2010]. Así, el control de la transmisión vectorial utilizando insecticidas para matar triatominos domiciliarios y mejorando las viviendas y costumbres de modo a dificultar la colonización por los vectores son los únicos medios factibles para disminuir las oportunidades de las interacciones entre humanos y vectores [Pinto D., 1987; OMS, 2002; Guhl, 2009]. Las principales estrategias y herramientas para el control vectorial y transfusional ya estaban disponibles en el inicio de los años 1950, pero la implementación definitiva de los grandes programas nacionales solamente ha sido cumplida en los años 70 y 80, por retraso en las decisiones políticas, alcanzadas finalmente por fuerza de una gran presión de la comunidad científica [Pinto D., 2007].

La Organización mundial de la Salud (2010) recomienda los siguientes métodos de prevención y control:

- Rociamiento de las casas y sus alrededores con insecticidas.
- Mejora de las viviendas para prevenir la infestación por el vector.
- Medidas preventivas personales, como el empleo de mosquiteros.
- Buenas prácticas higiénicas en la preparación, el transporte, el almacenamiento y el consumo de los alimentos.
- Cribado de la sangre donada.

- Pruebas de cribado en órganos, tejidos o células donados y en los receptores de éstos.
- Cribado de los recién nacidos cuya madre está infectada, así como de los hermanos de los niños infectados para lograr el diagnóstico temprano y proporcionar el tratamiento oportuno.

2.3.1 Control de T. infestans por medio de feromonas

Para realizar el control de *T. infestans* es necesario conocer el comportamiento biológico del mismo. Así Manrique, 2010, cita a la estridulación (acción de producir sonido mediante la fricción de ciertas partes del cuerpo) como un posible mecanismo de comunicación entre los sexos en *T. infestans*. Otro mecanismo de comunicación entre los insectos es la olfativa. En este aspecto, se ven involucradas las feromonas, donde dicho mecanismo resulta ser el modo más importante de comunicación intraespecífica en insectos, en comparación con las otras dos modalidades más utilizadas; visión y sonido [Manrique, 2010].

Con el pasar de los años, la ciencia ha logrado el desarrollo de técnicas de control de insectos mediante feromonas [Bosa *et al.*, 2008, Salas, 2008]. Las feromonas son compuestos orgánicos emitidos por los insectos, que son mensajeros químicos y que provocan una respuesta en otros individuos de su misma especie que les obliga a adoptar un tipo de comportamiento determinado [Simon, 1994; Blanco, 2004]. Se pueden clasificar en sexuales, de agregación, trazadores, de alarma, disuasorias, etc., de acuerdo con el tipo de reacción que provocan [Simon, 1994]. Así son utilizadas por los insectos para modificar distintos comportamientos, como por ejemplo, el apareamiento (feromona sexual), la búsqueda de alimento (feromona trazadora), agrupación de individuos (feromona de agregación), estimulación de huída o defensa (feromona de alarma), entre otros.

La feromona más utilizada en el manejo de plagas es la sexual. Se basa en la utilización de compuestos de síntesis que provocan la misma reacción en los insectos que los atractantes naturales [Simon, 1994; Blanco, 2004]. Estudios han demostrado que existen compuestos relacionados con el comportamiento sexual de los *T. infestans*. Así se identificaron compuestos de ácidos carboxílicos alifáticos; aldehídos alifáticos (hexanal, heptanal, octanal, nonanal) y benzaldehído; y

compuestos que contienen sulfuro. Se determinó que el benzaldehído es altamente atractivo para *T. infestans* hembras a bajas dosis (0.05-0.1 μ g). También se determinó que mezclas de hexanal y benzaldehído (20:1 y 40:1) muestran un efecto aditivo en la atracción de hembras [Fontan *et al.*, 2002].

Se han realizado estudios empleando diferentes materiales en la liberación de feromonas de manera a atraer insectos para el control de plagas en la agricultura [Montiel *et al.*, 1989; Takahashi *et al.*, 2008; Tiboni *et al.*, 2008]. El uso de las feromonas en el campo está asociado al uso de una trampa (estructura para retener a los insectos) y un dispositivo (liberador de la feromona). La eficacia de una trampa se ve afectada por una serie de factores, como ser tipo de trampa, color, tamaño, altura sobre el suelo a la cual fue colocada y el número y posición de las trampas en un sitio. La selección de una trampa está ligada al conocimiento del comportamiento del insecto con relación al olor de la feromona y a su hospedante. La liberación controlada del atractante es una de las etapas de mayor cuidado, que influye en el éxito de la feromona, ya que se requiere de un reservorio de la sustancia activa que sea liberada en ciertas cantidades y concentraciones [Blanco, 2004].

Una alternativa para la realización del control vectorial de *T. infestans*, consistió en desarrollar una trampa, en la cual se introduce una bolsita de polietileno conteniendo un tipo de feromona sexual que atrae a la vinchuca [Román *et al.*, 2010]. La dificultad de la utilización de estas bolsitas es la rápida liberación del atractante, que dura alrededor de 20 días (datos no publicados), lo que implica que el personal se traslade varias veces a los lugares de monitoreo para reponer la bolsita de las trampas, y así completar el ciclo, tornando el control vectorial un trabajo costoso debido a las grandes distancias.

2.4 Descripción de los materiales a ser analizados

Se escogieron cuatro tipos de materiales para el trabajo de investigación: vidrio pyrex, vidrio ámbar, hidroxiapatita y caolín.

La selección de los materiales de vidrios fue debido a que existen trabajos que utilizaron vidrios porosos como materiales para almacenar y liberar feromonas de insectos, para el control de plagas en la agricultura. [Takahashi *et al.*, 2008, Tiboni *et al.*, 2008]. Así se seleccionó el vidrio pyrex por presentar una composición

de sílice (60-80%) cercana al vidrio vycor (96%), que fue el material utilizado por Tiboni y colaboradores en la elaboración de liberador de feromona. En cuanto al vidrio ámbar, éste material fue seleccionado con la intención de reciclar botellas rotas puesto que Takahashi y colaborador procesaron vidrio comercial para la obtención de vidrios porosos para uso como dispositivo de liberación de feromona.

Los materiales hidroxiapatita y caolín fueron seleccionados debido a sus buenas características adsorbentes, lo que llevó a pensar que podrían adsorber satisfactoriamente el benzaldehído, sustancia identificada como una de las feromonas de *T. infestans* [Fontan *et al.*, 2002].

2.4.1 Vidrios

El vidrio puede definirse, físicamente, como un líquido rígido, sub-enfriado, sin un punto de fusión definido y con una viscosidad lo suficientemente elevada para evitar la cristalización; y químicamente, como la unión de óxidos inorgánicos no volátiles resultantes de la descomposición y fusión de compuestos alcalinos térreos, arena y otros constituyentes del vidrio, que dan como resultado un producto con estructura atómica aleatoria [Austin, 1996]. La Figura 5 muestra la diferencia estructural entre un vidrio, el cual es un material amorfo y un material cristalino.



Figura 5. Representación gráfica de las diferencias estructurales entre un cristal (a) y un vidrio (b).

La constitución química de los vidrios puede representarse por la fórmula (1) general:

Anhidro + MO + M'₂O
$$(1)$$

El anhidro es el SiO₂, que puede reemplazarse en mayor o menor grado por B_2O_3 , TiO₂, P_2O_5 o As_2O_3 . Los metales monovalentes (M') son generalmente el Na y K, y los divalentes (M) Ca, Ba, Mg, Pb, Zn, Cu o Zr.

Existen distintos tipos de vidrios. Entre ellos el vidrio de borosilicato o comercialmente conocido como Pyrex, el cual posee la siguiente composición:

| SiO ₂ : | 60-80% |
|--------------------|--------|
| B_2O_3 : | 10-25% |
| Al_2O_3 : | 1-4% |

El principal componente del vidrio de borosilicato, después de la sílice, es el óxido de boro. Los átomos de boro se incorporan a la estructura como Si-O-B. [López *et al.*, 1995]. La sustitución de óxidos alcalinos por óxido de boro en la red vítrea de la sílice da lugar a vidrios de más baja expansión térmica. Cuando el B_2O_3 entra en la red de la sílice, debilita su estructura y reduce considerablemente el punto de reblandecimiento de los vidrios de sílice.

Los vidrios borosilicatados tienen buena resistencia al choque térmico (pequeños coeficientes de dilatación térmica) y buena estabilidad química. Se usan ampliamente en la industria química para equipos de laboratorio, tuberías, hornos, tubos electrónicos de alto voltaje, etc.

Otro tipo de vidrio es el ámbar, que posee la propiedad de filtrar la luz, dejando pasar algunos rayos y reteniendo otros. Es utilizado en botellas cuando es necesaria la protección de ciertas sustancias de radiaciones ultravioletas. En la tabla 1 se puede observar un ejemplo de composición de vidrio ámbar para envase. Nótese que el principal componente sigue siendo el SiO₂.

| Componentes | Nombre químico | % |
|--------------------------------|-------------------|------|
| SiO ₂ | óxido de silicio | 73,0 |
| MgO | óxido de magnesio | 2,0 |
| CaO | óxido de calcio | 10,0 |
| Na ₂ O | óxido de sodio | 12,5 |
| Al_2O_3 | óxido de aluminio | 1,5 |
| SO ₃ | óxido de azufre | 0,05 |
| Fe ₂ O ₃ | óxido férrico | 0,35 |

Tabla 1. Composición del vidrio ámbar para envases.

El óxido de hierro es el responsable de dotar al vidrio una coloración amarilla o verde azulado dependiendo del grado de oxidación. En combinación con el carbón mineral, da como resultado el color ámbar.

2.4.2 Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (Hap.) es un biocristal, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrógeno, de acuerdo con la fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Posee una estructura hexagonal (Figura 6).



Figura 6. Estructura cristalina de la hidroxiapatita.

La Hap. está presente en dientes y huesos confiriéndoles su dureza característica. [Aoki, 1994; García *et al.*, 2006]. Químicamente hablando, la hidroxiapatita es una base de fosfato de calcio. La palabra hidroxiapatita se compone

de las palabras hidroxi y apatito. Hidroxi significa ion hidróxido y apatita es el nombre mineral. Apatita es un término general para los cristales minerales de acuerdo a la fórm. (2) [Aoki, 1994]:

$$M_{10}(ZO_4)_6X_2$$
 (2)

Donde:

M= Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, Mg, Na, K, H, D, etc.

 $Z=P, CO_3, V, As, S, Si, Ge, Cr, B, etc.$

X= OH, OD, CO₃, O, BO₂, F, Cl, Br, etc.

Así, cuando M=Ca, Z=P y X=OH, se tiene hidroxiapatita.

La hidroxiapatita es considerada en muchas áreas debido a su habilidad de intercambio iónico, capacidad de adsorción y sus propiedades ácido base.

2.4.3 Caolín

Los caolines son rocas que están formadas fundamentalmente por minerales del grupo del caolín como son la caolinita, dickita, nacrita y halloysita, acompañados por impurezas de cuarzo, mica, anatasa, rutilo, ilmenita y pequeñas cantidades de turmalina, zircón y otros minerales pesados. [Torres *et al.*, 2007; Torres *et al.*, 2010]. El caolín es un material arcilloso constituido mayoritariamente por caolinita, la cual es un aluminosilicato laminar del tipo 1:1. [Belver *et al.*, 2004]. La caolinita posee una estructura laminar compuesta por dos capas. La arcilla caolinita presenta la fórmula $Al_2(Si_2O_5)$ (OH)₄ donde la capa tetraédrica de silica; $(Si_2O_5)^{2^-}$ se encuentra neutralizada por la capa adyacente $Al_2(OH)_4^{2^+}$. La Figura 7 muestra las dos capas distintas mencionadas [Callister, 1997].


Figura 7. Estructura de una caolinita.

El plano medio de aniones consiste en iones de oxígeno, O^{2-} , procedentes de la capa $(Si_2O_5)^{2-}$, así como de iones oxidrilo, OH⁻, procedentes de la capa de $Al_2(OH)_4^{2+}$. Un cristal de caolinita está hecho de una serie de láminas de doble capa, apiladas en forma paralela entre sí, con lo que se forma placas planas pequeñas típicas de 1µ o menos de diámetro y casi hexagonal [Callister, 1997].

El tratamiento térmico de la caolinita da lugar a transformaciones estructurales que llevan a la obtención de metacaolín, MK, el cual, a diferencia de la caolinita, es un aluminosilicato de carácter amorfo. [Belver *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2011]. El metacaolin, MK, es una puzolana altamente reactiva cuya temperatura de obtención varía entre 600 y 900°C [Mejía de Gutiérrez *et al.*, 2000]. Durante el tratamiento térmico mencionado ocurre la siguiente reacción:

 $2SiO_2Al_2O_3.2H_2O \longrightarrow 2SiO_2Al_2O_3 + 2H_2O$ caolinita metacaolín agua

2.5 Técnicas de caracterización

2.5.1 Difracción de rayos-X (DRX)

Desde su descubrimiento, la difracción de rayos-X ha proporcionado una abundancia de información importante a la ciencia y la industria. Cada átomo en un cristal tiene el potencial para dispersar un haz de rayos X incidente en él. Cuando los rayos X son difundidos por el entorno ordenado de un cristal, hay interferencias tanto constructivas como destructivas entre los rayos dispersados porque las distancias entre los centros son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. La difracción es el resultado. Toda sustancia cristalina dispersa los rayos-X en su propio patrón de difracción único, produciendo una "huella" de su estructura atómica y molecular [Willard *et al.*, 1967; Skoog *et al.*, 2008].

Los materiales cristalinos producen picos de difracción muy bien definidos cuyas anchuras se relacionan con la "calidad" de la cristalinidad. Los materiales de alta calidad producen picos nítidos, y los de calidad inferior generan picos de difracción más difusos [Skoog *et al.*, 2008].

La Figura 8 muestra un ejemplo de difractograma de rayos-X de un material amorfo [Serrano *et al.*, 2005], donde se puede observar la ausencia de picos bien definidos que caracterizan a un material cristalino.



Figura 8. Espectro de difracción de rayos-X de una muestra de sílice dopada con hierro obtenida en determinadas condiciones. Sin cristalinidad.

Con respecto a la hidroxiapatita, la Tabla 2 presenta las líneas principales de difracción de rayos-X características de la misma [Layrolle *et al.*, 2009].

| 20 | Intensidad (%) |
|---------|----------------|
| 25,879° | 40 |
| 31,774° | 100 |
| 32,197° | 60 |
| 32,902° | 60 |
| 34,049° | 25 |
| 46,713° | 30 |
| 49,469° | 40 |

Tabla 2. Picos característicos de difracción de rayos-X de la hidroxiapatita.

La Figura 9 muestra un ejemplo de difractograma de rayos-X correspondiente a una hidroxiapatita obtenida a partir de hueso bovino donde se puede ver los picos característicos mencionados [Ferrerio *et al.*, 2011].



Figura 9. Ejemplo de difractograma de rayos-X de una muestra de Hap. de origen bovino.

El caolín es un material cristalino, por lo que su correspondiente difractograma de rayos-X presenta picos bien definidos. En la Tabla 3 se muestran los picos característicos de los minerales presentes en una muestra de caolín [Mejía de Gutiérrez *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2011], siendo la caolinita la sustancia de interés del presente trabajo.

| Cuarzo (Q) | 20,85° - 26,65° - 50,13° - 59,9° - 68,3° - 39,45° |
|---------------|---|
| Caolinita (K) | 12,4° - 20,1° - 24,9° - 38,6° - 55,1° - 62,3° |
| Illita (I) | 8,83° - 17,65° - 26,66° - 29,87° - 31,94° - 45,18° - 61,11° |
| Mullita (M) | 16,43° - 26,2° - 33,22° - 35,27° - 40,87° - 60,71° |

Tabla 3. Picos característicos de DRX para algunos minerales (generalmentepresentes en una muestra de caolín).

A continuación la Figura 10, muestra ejemplos de difractogramas de rayos-X de varias muestras de caolín donde se observan los picos característicos mencionados [Mejía de Gutiérrez *et al.*, 2004].



Figura 10. Difractogramas de rayos-X de distintas muestras de caolín.

La transformación de caolín a metacaolín ocurre cuando se presenta la desaparición de los picos característicos de la caolinita acompañado por el levantamiento de la línea base en la región $2\theta = 20$ a 30° del difractograma de rayos-X [Torres *et al.*, 2011].

2.5.2 Espectrometría infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La moderna espectrometría de infrarrojo es una herramienta multifacética que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo [Skoog *et al.*, 2008]. Para el análisis cualitativo, una de las mejores características de un espectro infrarrojo es que la absorción o la falta de absorción en regiones de frecuencia específica, pueden correlacionarse con el grupo vibracional específico y los movimientos de flexión, en algunos casos, con la relación de estos grupos con el remanente de la molécula. Por interpretación del espectro es posible establecer que ciertos grupos funcionales están presentes en el material y que otros, se encuentran ausentes. Con este solo dato, las posibilidades del desconocido pueden, algunas veces, angostarse tanto, que la comparación con una biblioteca de espectros puros, permite su identificación [Willard *et al.*, 1967].

El FTIR es aplicable al análisis de las estructuras que puedan presentar los materiales de vidrio de acuerdo a la composición que presenten. El grado de ordenación geométrica y la complicación de la estructura al variar el número de sus componentes, influyen definitivamente en la existencia de determinadas bandas y en la amplitud con la cual pueden presentarse [Sánchez, 1968].

El vidrio pyrex al estar compuesto principalmente por óxido de silicio y óxido de boro, el espectro FTIR de este tipo de vidrio presenta bandas características correspondientes a los óxidos mencionados. El espectro de la sílice vítrea presenta unas bandas bastante nítidas cuyas principales absorciones tienen lugar a 1180 y 1080 cm⁻¹ y que corresponden a las vibraciones de tensión Si-O-Si. En los vidrios pyrex, debido a la presencia de B_2O_3 , las bandas mencionadas se encuentran desplazadas hacia menores frecuencias. Las bandas situadas en 800 cm⁻¹, correspondiente a la vibración del tetraedro de SiO₄ y en 460 cm⁻¹, correspondiente a las vibración del enlace O-Si-O se presentan con una intensidad baja, indicando la incorporación de B_2O_3 a la estructura vítrea. También se presenta una ligera banda sobre los 1410 cm⁻¹ que corresponde a la vibración del enlace BO en anillos boroxol. Además, debido a la presencia de B_2O_3 aparecen bandas situadas a 1260, 950 y 700 cm⁻¹, la primera debido a la polimerización de grupos boroxol, la segunda a vibración de tensión de enlaces Si-O-B y la tercera corresponde a

vibración de flexión tanto de enlaces B-O-B (720 cm⁻¹) como de Si-O-B (650 cm⁻¹) [Tamayo et al.,2009].

Existen muchas bandas características de la hidroxiapatita, Layrolle et al., 2009, cita las principales, (Tabla 4). Las bandas de fosfato aparecen en forma de triplete en la hidroxiapatita pura con picos bien definidos, 1096, 1085, 1056 cm⁻¹. Sin embargo, si se trata de una hidroxiapatita carbonatada, la resolución es reducida y la intensidad del pico 1056 cm⁻¹ se encuentra disminuido. Las bandas de fosfato de la hidroxiapatita pura están bien definidas en tres componentes: 633, 602 y 566 cm⁻¹ [Kumar, et al., 2000].

Tabla 4. Principales bandas infrarrojas características de la hidroxiapatita $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

| Picos IR (cm ⁻¹) | Grupo característico |
|------------------------------|-------------------------|
| 3562 | OH |
| 1081 | PO_4 |
| 1030 | OH |
| 954 | |
| 631 | DO |
| 601 | rO ₄ |
| 570 | |

Las bandas IR asociadas a la caolinita corresponden a las vibraciones de los enlaces de su estructura, Si-O de los tatraedros de silicio, Al-O y Al-O-H de los octaedros de aluminio y Si-O-Al de las uniones SiO₄-AlO₄. En caso de que esté presente el cuarzo, se pueden presentar simultáneamente otras bandas características de éste material. En general las bandas más intensas características de la caolinita deben aparecer en: 3695, 3694, 3652, 3621 y 3260 cm⁻¹ correspondientes a las vibraciones de los enlaces OH, tanto de los grupos Al-OH como del agua; 1100, 1032, 1008, 913 cm⁻¹ correspondientes a vibraciones Si-O y Al-O del grupo Al-O-H; 750, 694, 539, 471 y 431 cm¹ correspondientes al grupo al Si-O-Al. [Mejía de Gutiérrez et al., 2004; Torres et al., 2011].

La figura 11 muestra un ejemplo de espectro infrarrojo obtenido de una muestra de caolín donde se puede apreciar los picos característicos del mismo. Existe un estudio de que a partir de 500°C, se reduce la intensidad de las bandas ubicadas en 3695, 3620 y 911 cm¹⁻ asociados al grupo OH en la caolinita [Mejía de Gutiérrez *et al.*, 2004].



Figura 11. Espectro FTIR de una determinada muestra de caolín.

El benzaldehído es una sustancia que fue identificada como feromona de *T. infestans*, [Fontan *et al.*, 2002] y presenta la capacidad de oxidarse lentamente en presencia del aire, dando un compuesto químico de propiedades conservantes conocido como ácido benzoico. Por esto es importante conocer los espectros infrarrojos de las sustancias orgánicas mencionadas a fin de verificar la interacción con las pastillas de caolín.

La Figura 12 muestra los picos característicos de una muestra de benzaldehído puro. Las bandas características del grupo aldehído son las correspondientes a las vibraciones de los enlaces C=O y C-H de la agrupación funcional. En los aldehídos saturados C=O se encuentra en la zona 1740-1720 cm⁻¹. Los efectos de la conjugación, efectos inductivos de sustituyentes en α y la formación de enlaces de hidrógeno alteran la posición de la banda C=O. Así en el espectro aparece una banda 1702 cm⁻¹ correspondiente al enlace C=O. La presencia de un aldehído puede confirmarse por la existencia de un par de bandas, cerca de 2700 y 2800 cm⁻¹, conocido por doblete de Fermi.



Figura 12. Espectro FTIR del benzaldehído.

Los ácidos carboxílicos en fases condensadas se encuentran, en general, en forma de dímeros. Sólo en fase de vapor (temperaturas superiores a 150° C) predominan las especies monoméricas en el equilibrio. La fuerte asociación por enlaces de hidrógenos en fases condensadas hace notablemente diferentes a los espectros IR en fase condensada y en fase vapor. Las bandas que permiten la identificación de los ácidos para las especies dímeras son las siguientes: una banda muy ancha, extendida de 3300 a 2500 cm⁻¹, correspondiente a los enlaces O-H. Una banda en 1725-1680 cm⁻¹ correspondiente al enlace C=O. En las especies dímeras, el movimiento de doblaje fuera del plano de los hidrógenos produce una banda ancha de intensidad media en 960-880 cm⁻¹.

El espectro FTIR característico de una muestra de ácido benzoico se muestra en la Figura 13.



Figura 13. Espectro FTIR del ácido benzoico.

2.5.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido es, en esencia, un aparato diseñado para que un fino haz de electrones haga una exploración (barrido) sistemática de la muestra en observación, produciéndose así electrones secundarios que una vez recogidos por un detector son empleados como una señal a partir de la cual se obtiene, en la pantalla de un tubo de rayos catódicos, una imagen tridimensional aumentada de la superficie de la muestra [Ojeda, 1997].

Identificación, análisis de fases cristalinas y transiciones de fases en diversos materiales tales como metales, cerámicos, materiales compuestos, semiconductores, etc; determinación del grado de cristalinidad y presencia de defectos; son algunas aplicaciones del microscopio electrónico de barrido en el área de estudio de materiales.

El microscopio electrónico de barrido permitirá la observación y caracterización superficial de los materiales estudiados obteniendo información morfológica de los mismos.

2.5.4 Porosimetria de mercurio

La porosimetria por inyección de mercurio es una técnica indirecta para la caracterización del sistema poroso de los materiales, obteniéndose fundamentalmente a partir de ella la distribución de la porosidad en función aparente de acceso a los poros. El ensayo porosimétrico consiste en inyectar mercurio a presión y registrar el volumen de mercurio absorbido. Para cada intervalo de presión considerado, el volumen de mercurio absorbido nos indica el volumen de poros de la muestra que tienen un determinado intervalo de tamaño de acceso [Alonso, 2002].

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la producción del emisor de feromona se utilizaron cuatro materiales cerámicos diferentes: vidrio pyrex, vidrio ámbar, hidroxiapatita y caolín.

3.1. Proceso de producción de las pastillas

El siguiente flujograma muestra el proceso de producción de las pastillas en donde intervinieron los siguientes sub-procesos:



1- Molienda: los materiales pasaron por un proceso de molienda, donde se empleó un molino analítico de la marca Quimis.

2- Tamizaje: a continuación fueron tamizados en un tamiz de ensayo para laboratorio de la marca Cole-Parmer obteniendo partículas de tamaños menor o igual a 53 μ m. El rango de tamaños de partículas utilizado se basó en un trabajo de Takahashi y colaborador donde utilizaron tamaños de partículas del orden de 50 μ m.

3- Mezcla: seguidamente se procedió a la mezcla de los polvos obtenidos de cada tipo de material con el agente porogénico (almidón de maíz) en concentraciones de 0, 10 y 20% en peso y lubricante (ácido esteárico) en 10% p/p.

En la tabla 5 se muestran las distintas denominaciones de las muestras de acuerdo al tipo de material y a la variación de concentración de almidón.

| Vidrio pyrex | Vidrio ámbar | Hidroxiapatita | Caolín | Almidón (% p/p) |
|-----------------|-----------------|----------------|-----------|--------------------|
| Pyrex-T1 | Ámbar-T1 | HA-T1 | Caolín-T1 | 0 |
| Pyrex-T2 | Ámbar-T2 | HA-T2 | Caolín-T2 | 10 |
| Pyrex-T3 | Ámbar-T3 | HA-T3 | Caolín-T3 | 20 |

Tabla 5. Denominación de cada pastilla de pyrex, ámbar, hidroxiapatita y caolín con su correspondiente composición en almidón.

4- Compactación: cada mezcla de polvo obtenida fue compactada uniaxialmente empleando una prensa hidráulica manual utilizando una matriz cilíndrica de 20 mm de diámetro y una presión de 141.49 MPa. Se utilizó esta presión debido a que a presiones menores no se logró la compactación de los polvos.

5- Sinterización: las pastillas compactadas fueron sinterizadas en aire en una mufla de la marca Babertherm, modelo B180. Los parámetros de temperatura de sinterización, velocidad de calentamiento y tiempo de permanencia en la temperatura máxima variaron de acuerdo al tipo de material.

Así los vidrios fueron sinterizados a 700°C, con una velocidad de calentamiento de 1°C/min y tiempo de permanencia en la temperatura máxima de 1 hora. Éstos parámetros fueron seleccionados de acuerdo a Takahashi *et al.*, 2008.

La hidroxiapatita fue sinterizada a 1000°C con una velocidad de calentamiento de 2°C/min y tiempo de permanencia en la temperatura máxima de 6 h. Estos parámetros fueron seleccionados de acuerdo a estudios realizados por Monteiro, 2002.

El caolín al igual que los vidrios, fue sinterizado a 700°C. La duración del tratamiento fue de 10 h, con una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Estos parámetros fueron seleccionados de acuerdo a la experiencia de Belver *et al.*, 2004.

El enfriamiento de las pastillas de todos los tipos de materiales se dio de forma natural hasta la temperatura ambiente para evitar fisuras por choque térmico.

El proceso de sinterización permitió la formación de poros en las pastillas debido a la calcinación del almidón de maíz y además permitió incrementar la resistencia de las pastillas creando enlaces fuertes entre las partículas.

3.2 Análisis de caracterización de las pastillas

De forma a estudiar la composición química y las características microestructurales de las pastillas obtenidas (Anexo A), fueron realizados diversos análisis, entre ellos, la difracción de rayos-X empleando un difractómetro X'Pert Pro Panalytical, módulo: X' Pert Pro con porta muestra fijo-horizontal, con el objetivo de identificar la cristalinidad y las fases presentes.

Los espectros infrarrojos fueron registrados por medio de un espectrómetro Thermo Nicolet Nexus 470 ESP FT-IR con un rango de barrido de 400-4000 cm¹⁻, con conteo 32, utilizando pastillas de KBr, con el objetivo de identificar los grupos funcionales presentes en las muestras.

El estudio por microscopía electrónica de barrido se llevó a cabo en un microscopio FEI (modelo Inspect S) operado a 20 kV. Para ello se realizó la metalización de las muestras mediante la cubierta de las mismas con una delgada capa de oro en una atmósfera de argón por el proceso "sputtering" (Emitech SC7620 Sputter Coater), para tornarlas conductoras con el objetivo de visualizar la microestructura superficial identificando los contornos de granos y tamaño de partículas.

El análisis de porosimetría de mercurio fue realizado con el equipo AUTOSCAN -33 Porosimeter (Quantachrome) con el objetivo de determinar el área superficial de las pastillas.

3.3 Ensayo de liberación de la feromona

Cada pastilla cerámica porosa obtenida fue impregnada con 200 μ l de benzaldehído, una de las sustancias identificadas como feromona sexual del *T*. *infestans* [Fontan *et al.*, 2002] siendo este el volumen habitualmente utilizado en las

bolsitas de polietileno. Este proceso se realizó con una micropipeta de la marca DragonMed que posee un rango de volumen de trabajo de 100-1000 μl.

Para los ensayos de liberación, las pastillas de los diferentes materiales fueron pesadas antes del proceso de impregnación. En dicho proceso, la adsorción de la feromona en las pastillas porosas se dio por goteo de benzaldehído sobre las mismas que seguidamente se mantuvieron a temperatura ambiente por 24 hs para la total eliminación de gases internos y consecuente llenado de los poros. Al cabo del tiempo mencionado se realizó el primer pesaje de las pastillas impregnadas con benzaldehído de modo a obtener por diferencia de peso, la cantidad de feromona adsorbida.

La tasa de liberación fue monitoreada en tiempo real por pesaje diario de las pastillas lo que posibilitó el control de la liberación del agente sintético por diferencia de peso. La balanza utilizada fue de la marca Kern. EW 420-3NM con una capacidad de pesaje máxima de 420 g y mínima de 0,002 g.

Los ensayos de liberación fueron realizados primeramente a temperatura ambiente, teniendo como temperatura media 29°C. En una segunda etapa, el ensayo de liberación fue realizado a una temperatura media de 39°C, con una exposición a dicha temperatura de 8 horas diarias aproximadamente, de manera a determinar la influencia de la temperatura en la liberación del benzaldehído. Los ensayos de liberación de feromona fueron monitoreados por un periodo de 108 días.

3.4 Ensayos biológicos experimentales de pre-campo

Los ensayos biológicos experimentales de pre-campo realizados fueron preliminares con el fin solamente de evaluar si la liberación de la feromona es suficiente para atraer a las vinchucas.

La evaluación de la capacidad atractante de las pastillas se realizó en una caja rectangular construida especialmente para el ensayo de liberación de la feromona. La caja rectangular poseía una dimensión de 180 x 70 x 30 cm. Las paredes laterales de dicha caja estaban hechas de tela plástica tipo mosquitero para evitar que la feromona se concentre dentro de la caja. Las paredes frontal y posterior y el techo fueron fabricadas de acrílico y la base de cartón. La caja se encontraba dividida internamente en 3 secciones de igual tamaño por medio de dos paredes de acrílico

que iban desde la base de la caja hasta el techo de la misma, con el objetivo de crear ambientes separados entre dichas secciones. Cada pared interna de acrílico contaba con una abertura de 4 x10 cm en la parte inferior de las mismas, de manera a que las vinchucas puedan trasladarse de una sección a otra. La caja también contaba con dos puertas, una en la parte frontal y otra en la parte posterior, ambas de 15 x 28 cm. El techo de la caja presentaba en la parte central una abertura de 28 x 15 cm. Las tres últimas aberturas mencionadas sirvieron para la introducción y manejo de las vinchucas en los ensayos biológicos de pre-campo. Figura 14.





Figura 14. Caja para ensayos biológicos experimentales de pre-campo. Superior: vista lateral. Inferior: vista frontal.

Las trampas utilizadas para los ensayos biológicos de pre-campo fueron proporcionadas por el Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC) al igual que todas las vinchucas utilizadas en estos ensayos. La trampa consistió en una cajita de cartón de color amarillo con dimensiones de 11 x 4 x 12,5 cm. Las mismas contaban con una abertura en la parte frontal de 4 x 3,5 cm, dos

aberturas en las paredes laterales de 2,5 x 2,5 cm y una abertura en la parte superior de 7,5 x 2 cm. Las paredes internas de la trampa estaban cubiertas con pegamento de manera que las vinchucas quedasen atrapadas al ingresar. Figura 15.



Figura 15. Trampa sensora de vinchucas. Izquierda: vista frontal. Derecha: vista lateral.

Los ensayos biológicos experimentales consistieron en la colocación de una trampa con una determinada pastilla impregnada con la feromona en uno de los extremos de la caja, y en el extremo opuesto la colocación de otra trampa sin pastilla. Las vinchucas fueron introducidas por la parte superior de la caja por medio de un vaso, Figura 16, y colocadas en la base central, de modo a que estuviesen equidistantes de las dos trampas. Antes de liberar las vinchucas, el vaso permaneció boca abajo por aproximadamente 5 minutos con el fin de facilitar su ambientación y su reacción natural a los estímulos.



Figura 16. Vinchucas utilizadas en el ensayo biológico.

Para los ensayos biológicos de pre-campo, cada material seleccionado se analizó en dos tiempos de liberación diferentes. Primeramente se iniciaron los experimentos con pastillas a los 19 días de haber comenzado la liberación de la feromona y posteriormente en el siguiente ensayo, se iniciaron los experimentos con pastillas a los 95 días de haber iniciado la liberación. Se utilizaron ninfas de 5^{to} estadío (en algunos ensayos) y adultos, tanto hembras como machos.

Una vez colocadas las vinchucas en la caja, se dejaron por un periodo de 5 días, en condiciones de oscuridad parcial de día y oscuridad total por la noche. El ensayo se inició con machos. Al cabo de 5 días se registraron los resultados, se procedió al cambio de los machos por hembras y se repitió el experimento. Finalizado este experimento, se procedió de forma análoga a lo ya descrito con las ninfas de 5^{to} estadio. A continuación las tablas 6 y 7 muestran las variables utilizadas en el ensayo biológico de los dos tiempos de liberación inicial seleccionados.

| Sexo de las vinchucas | 1° pastilla con mayor adsorción | 2° pastilla con mayor adsorción | Tiempo de liberación transcurrido al inicio del ensayo |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|
| Machos | 12* | 9 | 19 días |
| Hembras | 12 | 12 | 24 días |
| Ninfas | 12 | - | 29 días |

Tabla 6. Ensayo biológico a los 19 días de haber iniciado el proceso de liberación de feromona de las pastillas porosas.

* Se inició con 10 vinchucas machos. Al cuarto día del experimento se agregaron a la caja de ensayo biológico experimental dos vinchucas para completar 12.

| Tabla 7. Ensayo I | bilógico a los 95 d | ías de haber | iniciado el | proceso c | le liberació | ón de |
|-------------------|---------------------|---------------|--------------|-----------|--------------|-------|
| | feromona o | de las pastil | las porosas. | | | |

| Sexo de las vinchucas | 1° pastilla con mayor adsorción | Tiempo de liberación transcurrido al inicio del ensayo |
|--------------------------|------------------------------------|---|
| Machos | 12 | 95 días |
| Hembras | 12 | 100 días |

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, la Figura 17 muestra las pastillas obtenidas.



Figura 17. Pastillas cerámicas porosas elaboradas. * La mezcla Pyrex-T1 no se logró comprimir.

4.1 Caracterización de las pastillas cerámicas porosas obtenidas

4.1.1 Vidrios pyrex y ámbar

En los difractogramas de rayos-X, Figuras 18 y 19, obtenidos de las pastillas de pyrex y ámbar, respectivamente, se puede observar que los mismos exponen una banda típica de vidrios en el rango 2 θ de 10° a 35°; aspecto amorfo característico de los materiales no cristalinos.



Figura 18. DRX de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.



Figura 19. DRX de pastillas elaboradas a partir de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

Los espectros FTIR obtenidos de las pastillas de vidrio pyrex y ámbar se muestran en las Figuras 20 y 21, respectivamente, donde podemos observar la banda situada en 1038 cm⁻¹ que corresponde a las vibraciones de tensión del enlace Si-O-Si. La banda situada en 772 cm⁻¹ podría corresponder a la vibración del tetraedro SiO₄ ya que según Tamayo *et al.*, 2009, los picos característicos al SiO₄ se encuentran alrededor de 800 cm⁻¹. La banda ubicada en torno a 461 cm⁻¹ corresponde a vibraciones de flexión del enlace O-Si-O.



Figura 20. FTIR de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.



Figura 21. FTIR de pastillas elaboradas de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

En las micrografías de las Figuras 22 y 23 correspondientes a las pastillas de vidrio pyrex y ámbar respectivamente, se pueden observar los poros producidos durante el proceso de sinterización a 700°C. Las estructuras presentan poros aislados formados durante la expulsión de gases de CO₂, producidos por causa de la calcinación del agente porogénico.

Para ambos tipos de vidrios, se puede apreciar una superficie lisa con ausencia de contornos de granos, característica típica de un material no cristalino. Esto indica que la sinterización a una temperatura de 700°C no ocasiona cambios en la estructura amorfa de los vidrios estudiados.



(a) Pyrex-T1



(b) Pyrex-T2



(c) Pyrex-T3

Figura 22. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x8000).



(a) Ámbar-T1



(b) Ámbar-T2



(c) Ámbar-T3

Figura 23. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x4000).

4.1.2 Hidroxiapatita

En la Figura 24 se muestran los difractogramas de rayos-X obtenidos de las pastillas de hidroxiapatta a distintas concentraciones del agente porogénico y sinterizadas a 1000°C. Los picos bien definidos que se observan identifican a las muestras como materiales cristalinos.

Se observan diferentes tipos de fosfato de calcio. Así los picos en 20 de $26,074^{\circ}$; $29,220^{\circ}$; $49,777^{\circ}$ corresponden al fosfato octacálcico (*), según PDF reference code: 00-026-1056. Los picos $32,108^{\circ}$; $32,447^{\circ}$ y $46,969^{\circ}$ indican presencia de fosfato tetracálcico (+), según PDF reference code: 01-070-1379. La fase carboapatita (0), puede estar presente debido a los picos $33,028^{\circ}$; $40,063^{\circ}$ y $51,488^{\circ}$, PDF reference code: 00-004-0697. El pico $34,287^{\circ}$ es característico del fosfato tricálcico (x), PDF reference code: 01-070-0364.



Figura 24. DRX de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

El espectro infrarrojo (Figura 25) muestra las bandas características de la hidroxiapatita. Se puede observar con claridad las bandas de 3570 cm⁻¹ y 602 cm⁻¹ correspondientes a la vibración de valencia y de doblaje fuera del plano del grupo

 OH^{-1} , respectivamente. También se puede observar las bandas de 1050 cm⁻¹ y 488 cm⁻¹ debido a la vibración del grupo $(PO_4)^{3-}$ y la banda de 818 cm⁻¹ correspondiente al grupo funcional $(HPO_4)^{2-}$. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ferreiro *et al.*, 2011, que realizó la caracterización de hidroxiapatita a partir de hueso bovino.



Figura 25. FTIR de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

Las micrografías de la Figura 26 muestran las características superficiales de la hidroxiaptita sinterizada a 1000 °C. Es posible observar una gran cantidad de microporos debido a la coalescencia parcial de las partículas que muestra apenas la formación de los cuellos debido a la incompleta densificación de las muestras.

En la Figura 26 (b) se puede observar la presencia de un gran poro aislado, esto se debe a la calcinación del almidón de maíz; agente formador de poros. Por otro lado, la pastilla producida con mayor concentración de agente porogénico, Figura 26 (c), presenta mayor densificación que las producidas con 10%, Figura 26 (b), y sin agente porogénico, Figura 26 (a). Esto se debe a que la presencia de agente porogénico favorece al proceso de sinterización de las partículas por el calor desprendido en el proceso de calcinación de las mismas.



(a) HA-T1



(b) HA-T2



(c) HA-T3

Figura 26. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x4000).

La formación de cuellos y contornos de granos bien definidos entre partículas de la hidroxiapatita son ilustrados de forma clara en la Figura 27.



(a) HA-T1



(b) HA-T2

Figura 27. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 corresponden a 0 y 10% p/p respectivamente de agente porogénico (x16000).

Con el análisis porosimétrico realizado a las pastillas de hidroxiapatita a distintas concentraciones del agente porogénico, se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 8.

| Muestra | Área superficial total (m²/g) |
|---------|-------------------------------|
| HA-T1 | 5,0043 |
| HA-T2 | 2,8115 |
| HA-T3 | 1,7797 |

Tabla 8. Área superficial total de las pastillas de hidroxiapatita a distintas concentraciones del agente porogénico sinterizadas a 1000°C.

Se puede observar que la muestra HA-T1 presenta mayor área superficial que la muestra HA-T2 y ésta a su vez que HA-T3, lo que indica que a mayor concentración de agente porogénico, menor área superficial. Esto corrobora con las imágenes de micrografía ya que el agente porogénico favorece a la coalescencia de las partículas durante el proceso de sinterización.

4.1.3 Caolín

La Figura 28 presenta los difractogramas de rayos-X correspondientes a las pastillas elaboradas a partir de caolín a distintas concentraciones del agente porogénico. Con respecto a los picos característicos de la caolinita se observó que los picos en 20 de 12.4° y 24.9° no existen. Esto es debido a que el proceso de sinterización ocurrió a 700°C, donde a partir de dicha temperatura, la caolinita se transforma en metacaolín dejando de ser un material cristalino para pasar a ser un material amorfo. Estos resultados concuerdan con los trabajos de Torres *et al.*, 2011 y Mejía de Gutiérrez *et al.*, 2004, que investigaron los procesos de transformación de la caolinita se transformation de ser un material con los trabajos de transformación de la caolinita distintas temperaturas.

Además se pueden observar los picos característicos del cuarzo (*) (26,81° y 21,04°) y de la illita (+) (9,0° y 17,78°). Por lo recién mencionado, a pesar de que sea el metacaolín un material no cristalino, sus características amorfas no pueden ser observadas con claridad debido a la presencia de los picos correspondientes al cuarzo e illita (ver Tabla 3), que son fases cristalinas, ya que el caolín de partida no fue purificado para su utilización en el proceso de elaboración de las pastillas porosas.



Figura 28. DRX de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

El espectro FTIR (Figura 29) muestra que la banda en 3650 cm⁻¹ asociado al grupo OH de la caolinita se encuentra bastante reducido, esto es debido a la deshidroxilación ocurrida en el proceso térmico. Además se pueden observar las bandas en 1040, 796 y 475 cm⁻¹ correspondiente a los grupos Al-O y Si-O-Al, respectivamente.



Figura 29. FTIR de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico.

Las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido, presentadas en la Figura 30, reflejan las características superficiales de las muestras con un aspecto amorfo de una estructura no bien definida en donde no se pueden visualizar contornos y tamaño de grano. Además no se puede observar la presencia de microporos y sí una apariencia quebradiza y escamosa.

Los resultados del análisis porosimétrico del caolín se observan en la Tabla 9. El análisis de dichos resultados es análogo a los ya realizados con las pastillas de hidroxiapatita. Además, comparando los resultados de área superficial total de ambos tipos de materiales, se puede notar que las pastillas elaboradas a partir de caolín presentan mayor área superficial total que las pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita

Tabla 9. Área superficial total de las pastillas de caolín a distintas concentraciones de agente porogénico sinterizadas a 700°C.

| Muestra | Área superficial total (m²/g) |
|-----------|-------------------------------|
| Caolín-T1 | 12,5100 |
| Caolín-T2 | 12,3827 |
| Caolín-T3 | 9,8030 |



(a) Caolín-T1



(b) Caolín-T2



(c) Caolín-T3

Figura 30. Micrografías de pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% p/p respectivamente de agente porogénico (x8000).

4.2 Impregnación de feromona

Durante el proceso de impregnación, se observó que las pastillas de los diferentes vidrios analizados presentaron poca adsorción del benzaldehído visualizándose una apreciable cristalización de la sustancia en la superficie de las pastillas y en el porta muestra. Sin embargo, se pudo observar que las pastillas de hidroxiapatita y caolín adsorbieron casi totalmente la sustancia. En la Tabla 10 se pueden observar los pesos obtenidos de cada pastilla así como el peso correspondiente al benzaldehído adsorbido que demuestra lo dicho anteriormente.

Tabla 10. Peso de las pastillas porosas de los distintos materiales en estudio sin y con feromona adsorbida (gramos).

| Tine de | Vidrio Pyrex | | Vidrio ámbar | | Hidroxiapatita | | | Caolín | | | | |
|--------------------------------------|--------------|-------|--------------|-------|----------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|
| material | T1 * | T 2 | Т3 | T1 | T2 | Т3 | T1 | T2 | Т3 | T1 | T2 | Т3 |
| Sin impregnación de feromona | - | 0,779 | 0,684 | 0,894 | 0,787 | 0,685 | 0,879 | 0,8 | 0,68 | 0,829 | 0,732 | 0,625 |
| Con impregnación de feromona | - | 0,785 | 0,691 | 0,897 | 0,789 | 0,693 | 1,02 | 0,949 | 0,841 | 0,996 | 0,900 | 0,806 |
| Cantidad de feromona adsorbida | - | 0,006 | 0,007 | 0,003 | 0,002 | 0,008 | 0,141 | 0,149 | 0,161 | 0,167 | 0,168 | 0,181 |

* La mezcla tipo 1 no pudo ser ensayado ya que no se logró comprimir.

De entre los dos materiales que adsorbieron el benzaldehído, las pastillas porosas de caolín adsorbieron mayor cantidad de benzaldehído que las de hidroxiapatita, lo que concuerda con los resultados de área superficial total, ya que a mayor área superficial total, mayor capacidad de adsorción.

También se observó que las pastillas de un mismo material que poseen una concentración de 20% p/p de agente porogénico adsorben mayor cantidad de benzaldehído de las que poseen 10% p/p y éstas de las que no poseen agente porogénico. Esto podría resultar contradictorio ya que el área superficial total de las pastillas que poseen mayor concentración de agente porogénico son menores a los que poseen menor concentración y en ausencia del mismo. Pero el hecho de que las pastillas con mayor concentración de agente porogénico adsorban mayor cantidad de feromona es debido a la presencia de poros causado por la calcinación del almidón.

Dichos poros son los responsables del ingreso de la feromona a las pastillas a través de ellos.

Se puede decir que a mayor concentración de agente porogénico, mayor cantidad de poros tendrá una pastilla determinada y por ende mayor cantidad de benzaldehído adsorberá la misma. Sin embargo, la diferencia de adsorción existente entre las pastillas de un mismo material que no poseen agente porogénico y entre las que poseen una concentración del 10% p/p fue poco considerable, ya que por ejemplo, para la pastilla HA-T1, la adsorción de feromona fue de 0,141 g y para HA-T2 fue de 0,149, observándose una diferencia de 0,008 g. Por el contrario, la diferencia de adsorción existente entre las pastillas de un mismo material que no poseen agente porogénico y entre las que poseen agente porogénico y entre las pastillas de un mismo material que no poseen agente porogénico y entre las que poseen una concentración de 20 % p/p sí fue considerable, ya que por ejemplo, HA-T3 presentó una adsorción de 0,161 g, registrándose una diferencia de 0,020 g con respecto a HA-T1 (Tabla 10).

4.2.1 Interacción entre la pastilla cerámica porosa de caolín y el benzaldehído

De modo a obtener información acerca de la interacción entre las pastillas cerámicas porosas y la feromona impregnada en las mismas, se realizó el análisis de espectrometría por Transformada de Fourier a la pastilla de Caolín-T3 impregnada con benzaldehído, obteniéndose el espectrograma de la Figura 31.

Bandas características correspondientes a la pastilla elaborada a partir de caolín pueden ser observadas en el espectrograma: 1050, 475 cm⁻¹ (ver sección 4.1.3). Las bandas 1700, 1475, 1425, 1325, 1300, 620 cm⁻¹ corresponden al benzaldehído. Los picos 925 y 710 cm⁻¹ indican presencia de ácido benzoico, debido a la probable oxidación del benzaldehído (ver sección 2.5.2).



Figura 31. Espectrograma infrarrojo de una pastilla caolín-T3 impregnada con benzaldehído.

4.3 Liberación de feromona

4.3.1 Ensayo a temperatura ambiente

Las Figuras 32, 33, 34 y 35 muestran los resultados de los pesos obtenidos de las distintas pastillas de vidrio pyrex, vidrio ámbar, hidroxiapatita y caolín, respectivamente, a 29° C, que fue la temperatura ambiente media registrada.

Las pastillas de vidrio Pyrex-T2 y T3 alcanzaron sus pesos iniciales (antes de la impregnación) a los días 15 y 20 respectivamente de liberación de la feromona (Figuras 32). De acuerdo con el objetivo general del trabajo, estos resultados no son ideales, puesto que se busca que los materiales estudiados presenten un tiempo de



liberación de feromona considerablemente mayor a las de las bolsitas de polietileno que se utilizan habitualmente en las trampas sensoras de vinchucas.

Figura 32. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de vidrio pyrex. Pyrex-T2 y T3 corresponden a 10 y 20% respectivamente de agente porogénico.

Con respecto al vidrio ámbar, el mayor tiempo de liberación que se logró con las pastillas porosas de dicho material fue de 36 días, correspondiente a la pastilla de vidrio ámbar-T3 (Figura 33). Posterior a los 36 días, el peso de dicha pastilla ya permaneció constante. Éste resultado a pesar de ser un poco mejor que el de las bolsitas de polietileno, sigue siendo poco favorable para el objetivo del trabajo.



Figura 33. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de vidrio ámbar. Ámbar-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico.

Por otro lado, las pastillas de hidroxiapatita y caolín, al cabo de 100 días, continuaron liberando la feromona ya que se siguió registrando la disminución de peso de las mismas no llegando aún a sus pesos iniciales (Figuras 34 y 35). Estos resultados, a diferencia de las pastillas de vidrio, sitúan a estos materiales como excelentes candidatos para cumplir los objetivos de la investigación.



Figura 34. Variación de la masa con relación al tiempo (29°C) a una temperatura media de 29°C de las pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita. HA-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico.



Figura 35. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 29° C de las pastillas elaboradas a partir de caolín. Caolín-T1, T2 y T3 corresponden a 0, 10 y 20% respectivamente de agente porogénico.

La cantidad de feromona liberada por día para todos los tipos de pastillas de los diferentes materiales estudiados fue de una media de 0,001 g, presentando las mismas un comportamiento lineal como se puede observar en sus respectivas figuras. Cabe destacar que hubo días en que no se registró disminución de peso de las pastillas como se evidencia en las Figuras 32, 33, 34 y 35.

La discontinuidad de los puntos en los distintos gráficos de variación de masa de las pastillas porosas con relación al tiempo, se debe a que durante los días en que fueron llevados a cabo los ensayos biológicos de pre-campo no se realizó el pesaje de las diferentes pastillas.

El tiempo de liberación de las pastillas porosas de hidroxiapatita y caolín pudieron ser estimadas por medio del análisis de regresión lineal. De acuerdo a los datos experimentales obtenidos, los gráficos correspondientes a las pastillas HA-T3 y Caolín-T3 (Figuras 34 y 35 respectivamente) poseen las siguientes ecuaciones: HA-T3: y = -0,0006x + 0,8354 (1) $r^2 = 0,9657$ Caolín-T3: y = -0,0006x + 0,7999 (2) $r^2 = 0,9718$ Donde:

y = masa de la pastilla

x = día de liberación

 r^2 = coeficiente de regresión lineal

Teóricamente, el máximo tiempo de liberación que tendrán éstas pastillas, será el tiempo en que alcancen sus pesos iniciales (antes del proceso de impregnación); 0,680 y 0,625g, para las pastillas de hidroxiapatita y caolín respectivamente (Tabla 10). Así de acuerdo a las ecuaciones de regresión lineal obtenidas, las pastillas presentan un tiempo teórico de liberación de la feromona de 259 y 292 días para las pastillas de hidroxiapatita y caolín respectivamente. Sin embargo, estos tiempos de liberación podrían verse afectados por otros factores como temperatura, humedad e interacción de las partículas del benzaldehído y agua con las partículas de hidroxiapatita y caolín.

En forma experimental, el tiempo final de liberación de la feromona de las pastillas de hidroxiapatita y caolín se obtendrán una vez que las pastillas alcancen sus pesos iniciales. Sin embargo, esto no pudo llevarse a cabo puesto que el tiempo necesario para llegar a los pesos iniciales superó el tiempo disponible para la realización del presente trabajo de investigación.

4.3.2 Ensayo a temperatura media de 39°C

Para la realización del ensayo de liberación de la feromona a una temperatura media de 39°C, sólo se escogieron las pastillas de hidroxiapatita y caolín, ambas de 20% p/p de concentración de agente porogénico. La selección del tipo de material y
de la concentración de agente porogénico mencionados fue debido a que las pastillas con éstas características mostraron un tiempo de liberación de feromona prolongado y mayor cantidad de benzaldehído adsorbido en el ensayo a temperatura ambiente.

El comportamiento en cuanto a la dinámica de liberación de las pastillas en ésta segunda fase fue muy similar al del primer ensayo; ya que en ambos, las pastillas exhibieron una liberación lineal de la feromona (Figura 36). A diferencia del primer ensayo, la cantidad de feromona liberada por día fue una media de 0,002 g, lo que sugiere que a mayor temperatura, mayor cantidad de liberación de la sustancia.

Los puntos discontinuos en la Figura 36 se deben a lo ya explicado en la sección anterior. El marcado descenso que se observa entre los días 85 y 90 es a causa de que las pastillas fueron expuestas a 39°C por un periodo de 64 horas seguidas, siendo que regularmente el periodo de exposición a dicha temperatura fue de 8 horas diarias aproximadamente.

Con los resultados experimentales obtenidos se realizó el análisis de regresión lineal obteniendo las siguientes ecuaciones:

HA-T3: y = -0,0008x + 0,8258 (3) $r^2 = 0,9821$ Caolín-T3: y = -0,0009x + 0,8079 (4) $r^2 = 0,9866$ Donde: y = masa de la pastilla

y 1

x = día de liberación

 $r^2 = \text{coeficiente de regresión lineal}$

Los pesos iniciales de las pastillas ensayadas fueron de 0,686 y 0,633 g para la hidroxiapatita y caolín respectivamente. De esta manera, el tiempo teórico de liberación de la feromona es de 175 días para la hidroxiapatita y 194 días para el caolín. En la práctica, este tiempo podría disminuir debido a diferentes factores mencionados en el ensayo a temperatura ambiente.

En este ensayo, el tiempo teórico de liberación de la feromona fue menor que el correspondiente a temperatura ambiente. Esto es debido a que a mayor temperatura, mayor actividad de desorción de las pastillas. Además se puede corroborar en la Figura 36 que no hubo días en que los pesos de las pastillas se mantuvieron constantes, demostrando que la liberación de la feromona es completamente dependiente de la temperatura.



Figura 36. Variación de la masa con relación al tiempo a una temperatura media de 39° C de las pastillas de hidroxiapatita y caolín.

4.4 Ensayos biológicos preliminares

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en los distintos ensayos biológicos con las pastillas de hidroxiapatita y caolín a los 19 y 95 días de haberse iniciado el proceso de liberación de la feromona. Primeramente se analizó el porcentaje de atracción de las trampas con pastillas en relación a las trampas sin pastillas, y luego el porcentaje de atracción de las pastillas con respecto a los diferentes estadíos y sexos de las vinchucas.

La tabla 11 muestra los resultados obtenidos con las pastillas ensayadas a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. Se puede observar claramente, que la pastilla cerámica porosa elaborada a partir de caolín (Caolín-T3) obtuvo buenos resultados, ya que las trampas que no contaban con dicha pastilla no registraron capturas. Por otro lado, la pastilla cerámica porosa elaborada a partir de hidroxiapatita (HA-T3) no obtuvo buenos resultados como el Caolín-T3, puesto que en este caso se registró una mayor cantidad de capturas en las trampas sin pastilla, demostrando así un bajo poder atractante de vinchucas. Las ninfas de 5^{to} estadío ya no fueron ensayadas con la pastilla Caolín-T3 y además por la dificultad de manejo de las mismas debido a que poseen tamaño muy reducido. Esta es la razón por la cual existe esa diferencia en la cantidad de ejemplares ensayados con las distintas pastillas.

Porcentaje **Capturas** Capturas Porcentaje Cantidad en trampa en trampa de atracción de atracción de Material sin de trampa de trampa con ejemplares pastilla pastilla con pastilla sin pastilla 0 Caolín-T3 10 27,78 0 36

Tabla 11. Porcentaje de atracción de la trampa con pastilla. Ensayo bilógico realizado a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

Seguidamente se analizó el porcentaje de atracción de las pastillas teniendo en cuenta el estadío y sexo de las vinchucas (Tabla 12).

4

14,28

19,05

3

HA-T3

21

Con respecto a la pastilla elaborada a partir de caolín, se obtuvieron ligeramente mejores resultados con las vinchucas hembras (42% de atracción en las hembras frente a 33% de atracción en los machos). Según un estudio de Fontan *et al.*, 2002, el benzaldehído resulta altamente atractante para las vinchucas hembras. Sin embargo, en el ensayo con los machos también se obtuvieron resultados positivos. En la Figura 37 se pueden observar las vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona y la Figura 38 muestra las vinchucas hembras capturadas en el ensayo biológico a los 24 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona. En cuanto a las

vinchucas ninfas de 5^{to} estadío, se puede decir que no resultaron atraídas por esta feromona dando un porcentaje de atracción de tan solo 8,33%. La Figura 39 muestra las vinchucas de 5^{to} estadío capturadas a los 29 días de haber iniciado el proceso de liberación de la feromona.

| Material | Tiempo de liberación (días) | Cantidad | Sexo | Capturas en trampa con pastilla | Porcentaje de atracción de trampas con pastilla |
|-----------|-----------------------------------|----------|---------|---------------------------------------|--|
| Caolín-T3 | 19 | 12 | machos | 4 | 33,33 |
| | 24 | 12 | hembras | 5 | 41,67 |
| | 29 | 12 | ninfas | 1 | 8,33 |
| НА-ТЗ | 19 | 9 | machos | 2 | 22,22 |
| | 24 | 12 | hembras | 1 | 8,33 |

Tabla 12. Porcentaje de atracción de las pastillas respecto al sexo de las vinchucas. Ensayo biológico a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.



Figura 37. Vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 19 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.



Figura 38. Vinchucas hembras capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastillas Caolín-T3, a los 24 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.



Figura 39. Vinchucas ninfas capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 29 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

Lo que respecta a las pastillas de hidroxiapatita, a diferencia de las pastillas de caolín, se obtuvieron levemente mejores resultados con las vinchucas machos. Sin embargo, los resultados generales para ambos sexos no fueron alentadores; 22,22 % y 8,33 % de atracción para machos y hembras respectivamente. Hay que recordar además que en este ensayo fueron capturadas mayor cantidad de vinchucas en la caja sin pastilla, lo que demuestra su bajo poder atractante (Tabla 11).

Para el ensayo biológico realizado a partir de los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona, se seleccionó solamente al Caolín-T3 ya que fue el que mejores resultados presentó en el ensayo anterior. A continuación en la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos.

El porcentaje de atracción de la trampa con esta pastilla después de un largo periodo de liberación también fue buena, pudiéndose observar que la trampa sin pastilla no capturó ninguna vinchuca, lo que demuestra su buena capacidad atractante incluso tras 95 días de haberse iniciado el proceso de liberación.

Tabla 13. Porcentaje de atracción de la trampa con pastilla. Ensayo biológico realizado a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

| Material | Cantidad de ejemplares | Capturas en trampa con pastilla | Capturas en trampa sin pastilla | Porcentaje de atracción de trampa con pastilla | Porcentaje de atracción de trampa sin pastilla |
|-----------|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---|
| Caolín-T3 | 24 | 5 | 0 | 20,83 | 0 |

Los resultados obtenidos del análisis del poder atractante en cuanto al sexo de las vinchucas con pastillas a los 95 días de haber iniciado el proceso de liberación de la feromona se muestran en la Tabla 14. Como se mencionó anteriormente en este ensayo solo se experimentó con la pastilla de caolín. En este caso, el poder atractante sobre las vinchucas machos fue ligeramente superior que el de hembras. Sin embargo, estas diferencias no son significativas, mostrando que el benzaldehído atrae tanto machos como hembras. En la Figura 40 se pueden observar las vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

Tabla 14. Porcentaje de atracción de las pastillas respecto al sexo de las vinchucas. Ensayo biológico a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

| Material | Tiempo de liberación (días) | Cantidad | Sexo | Capturas en trampa con pastilla | Porcentaje de atracción de trampa con pastilla |
|-----------|-----------------------------------|----------|---------|---------------------------------------|---|
| Caolín-T3 | 95 | 12 | machos | 5 | 41,67 |
| | 100 | 12 | hembras | 4 | 33,33 |



Figura 40. Vinchucas machos capturadas en el ensayo biológico utilizando la pastilla Caolín-T3, a los 95 días de haber comenzado el proceso de liberación de la feromona.

Por todo lo mostrado anteriormente, se puede apreciar que existió una considerable diferencia con respecto a los porcentajes de tracción de las pastillas de hidroxiapatita y caolín. Esto no era de esperarse ya que ambas pastillas presentaron una liberación diaria media de 0,001 g de feromona a una temperatura media de 29°C y ambas también coincidieron en la cantidad media diaria de feromona liberada (0,002 g) a 39°C. Esto se puede deber a la diferencia de temperatura con que se llevaron los ensayos, ya que cuando se ensayó la pastilla de caolín, la temperatura osciló entre los 27°C aproximadamente y cuando se ensayó con la pastilla de hidroxiapatita la temperatura osciló entre los 23°C aproximadamente. Además se debe tener en cuenta la influencia que pudo haber tenido la humedad en el proceso de liberación, y que fue un factor que no fue controlado durante los experimentos.

4.5 Selección del material más apropiado como liberador de sexual

Después de un análisis de los resultados obtenidos anteriormente se pudo determinar cuál es el material que presenta mejores características para su utilización como liberador de feromona de *T. infestans*.

Los materiales de vidrio fueron los primeros en ser descartados ya que en el proceso de impregnación del benzaldehído se constató que los vidrios adsorben muy poca cantidad de benzaldehído en comparación con los materiales de hidroxiapatita y caolín (Tabla 10). Además, en el ensayo de liberación de feromona, fueron los materiales de vidrio los que presentaron menor tiempo de liberación de feromona. En el caso de las pastillas de vidrio pyrex, fue inferior al tiempo de liberación de las bolsitas de polietileno y el de las pastillas de vidrio ámbar, fue solo ligeramente superior al de las bolsitas.

Los mejores materiales para ser utilizados como sistemas de lenta liberación de feromonas son la hidroxiapatita y el caolín. En la Tabla 15 se muestra una comparación de los resultados obtenidos para un mejor análisis.

En los ensayos de liberación de feromona realizados a las distintas temperaturas, tanto en la cantidad de feromona adsorbida por las pastillas así como en el tiempo teórico de liberación de feromona de las mismas, el caolín arrojó mejores resultados que la hidroxiapatita.

En lo que se refiere a los ensayos biológicos, con la pastilla de caolín se obtuvieron porcentajes de atracción mayores que con la pastilla de hidroxiapatita. Con respecto al sexo de las vinchucas, las diferencias observadas en los resultados no fueron significativas, ya que con la pastilla de caolín ensayada a los 19 días de haber iniciado del proceso de liberación y por otro lado, la utilizada a los 95 días de haber iniciado el proceso de liberación, la diferencia de porcentaje de atracción entre captura de vinchucas machos y captura de vinchucas hembras fue de tan solo 9%. Además, teniendo en cuenta el corto tiempo de exposición (5 días) de las vinchucas a las pastillas, se puede decir que la capacidad de atracción es alta. Es importante recordar que los ensayos biológicos realizados son preliminares y que no tienen el fin de determinar la selectividad del atractante en relación al sexo. Para ello deberán de hacerse estudios más prolongados y con mayor cantidad de ejemplares.

Un dato no menor a tener en cuenta es el costo para la elaboración de las pastillas. Las pastillas de caolín resultan más económicas que las de hidroxiapatita, ya que ésta última fue obtenida a partir de hueso bovino, cuyo proceso de obtención posee un determinado costo. Sin embargo, el caolín utilizado no necesita procesamiento previo para la elaboración de las pastillas porosas.

También es importante destacar que no se conoce exactamente el comportamiento de las pastillas en la liberación de la feromona a temperaturas inferiores a 29° C, sólo se cree que no ocurre la liberación debido a los resultados obtenidos en los ensayos biológicos realizados a temperatura ambiente. Pero para afirmar con certeza, se deberían realizar estudios bajando aún más la temperatura en condiciones controladas.

| Parámetro | | | Tipo de material | | |
|---|--|---|--|------------------------------|--|
| | | | Hidroxiapatita | Caolín | |
| Ensayo de liberación de feromona | Temperatura media de 29° C | Cantidad de feromona adsorbida (mg/g de material) | 0,161 | 0,181 | |
| | | Tiempo teórico de liberación de feromona (días) | 259 | 292 | |
| | Temperatura media de 39° C | Cantidad de feromona adsorbida (g/pastilla) | 0,148 | 0,181 | |
| | | Tiempo teórico de liberación de feromona (días) | 175 | 194 | |
| Porcentaje de atracción en los ensayos biológicos | A los 19 días de haber iniciado del proceso de liberación | Machos | 22,22 | 33,33 | |
| | | Hembras | 8,33 | 41,67 | |
| | A los 95 días de haber iniciado el proceso de liberación | Machos | - | 41,67 | |
| | | Hembras | - | 33,33 | |
| Materia prima para la elaboración de pastilla | | | Necesita procesamiento con un costo determinado | No necesita procesamiento | |

Tabla 15. Comparación entre los resultados obtenidos por las pastillas elaboradas a partir de hidroxiapatita y caolín.

5. CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, permitió que se llegase a una serie de conclusiones acerca de la producción de pastillas cerámicas porosas de distintos materiales para la utilización como emisor de feromonas de *T. infestans*.

- Se determinó que a una concentración de 20% p/p de agente porogénico se logra una cantidad de adsorción de feromona mayor en relación tanto a las que poseen 10% p/p y a las que no poseen agente porogénico. Lo que indica que a mayor concentración de agente porogénico, mayor cantidad de feromona adsorbida por las pastillas.
- La liberación de feromona tuvo un comportamiento lineal, el cual no se vio afectado por las diferentes temperaturas ensayadas, pero sí en la cantidad de feromona liberada, es decir que a mayor temperatura, mayor cantidad de feromona liberada por día.
- 3. Entre los materiales estudiados, la hidroxiapatita y el caolín fueron los que mayor cantidad de feromona adsorbieron, situándolos como mejores candidatos a ser utilizados como sistemas de lenta liberación de feromonas.
- Específicamente la hidroxiapatita (HA-T3) y el caolín (Caolín-T3) son los materiales procesados que mejores resultados arrojaron en cuanto a duración en tiempo de liberación de feromona.
- 5. Con la pastilla elaborada a partir de caolín (Caolín-T3), se obtuvo mayor porcentaje de atracción en la captura de vinchucas, indistintamente para hembras o machos.
- Por lo tanto, las características de la pastilla citada anteriormente se muestra como la mejor candidata para ser utilizada como reemplazo de la bolsita de polietileno en las trampas para *T. infestans.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFRED C., J.R.; FRANÇOIS, N.; GUILLÉN, G. 1999. La enfermedad de Chagas en Bolivia. Conocimientos científicos al inicio del programa de control (1998 -2002). 1^{er} ed. La Paz, BO. Ediciones Gráfica "E.G". 259 p.

ALONSO R., J. F. 2009. Porosimetria por inyección de mercurio. Departamento de Geología (Petrología y Geoquímica). Universidad de Oviedo. 1-6.

AOKI, H. 1994. Medical Applications of Hydroxyapatite.1^{er} ed. Tokyo, Ishiyaku. EuroAmerica.

AUSTIN, G.T. 1988. Industria de la cerámica. In: Manual de Procesos Químicos en la Industria. 5ª ed. MX. McGRAW-HILL. p. 175-200

BELVER, C., BAÑARES, M.A., VICENTE, M.A. 2004. Materiales con propiedades tecnológicas obtenidos por modificación química de un caolín natural. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio (ES). 43 (2): 148-154.

BLANCO M., H. 2004. Las feromonas y sus usos en el manejo integrado de plagas. Manejo de Plagas y Agroecología (CR). 71: 112-118.

BOSA, F.; OSORIO, P.; COTES, A.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P.; FUKUMOTO, T. 2008. Control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante su feromona para la interrupción del apareamiento. Revista Colombiana de entomologia (CO). 34 (1): 68-75.

CALLISTER JR., W.D. 1997. Structures and Properties of Ceramics. In: Materials Science and Engineering an Introduction. 4th ed. EE.UU. John Wiley & Sons, Inc. 373-410.

Development of High-Perfomance Catalysts toward Green Organic Syntheses (en línea). Consultado 25 julio 2012. Disponible en www.cheng.es.osaka-u.ac.jp/jitsukawalabo/resarch_english.html.

FERREIRO, O.B.; YUBERO, M.F.; BALESTRA, R.M.; OLIVEIRA, M.V.; MONTEIRO, M. 2011. Bovine bone processing for biofilter application. In: LATIN-AMERICAN CONFERENCE ON POWDER TECNOLOGY. (8, 2011,Florianópolis, BR). Trabajos Presentados....

FONTAN, A., GONZALEZ A., P, MARTINEZ, A., ALZOGARAY, R.A., ZERBA, E.N., CAMPS, F., CORK, A. 2002. Attractant Volatiles Released by Female and Male *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), a Vector of Chagas disease: Chemical Analysis and Behavioral Bioassay. Journal of Medical

GARCÍA G., M. V.; REYES G., J. 2006. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 9 (2): 90-95.

GRAU A., H. 2004. Enfermedad de Chagas: endemia clásica y reto contemporáneo. Enfermería en cardiología N° 31 / 1.er cuatrimestre. Médicos sin fronteras.

GULH, F. 2009. Enfermedad de Chagas: Realidad y Perspectivas. Revista Biomed (MX). 20 (3): 228-234.

KUMAR, T.S.S.; MANJUBALA, J.; GUNASEKARAN, J. 2000. Synthesis of carbonated calcium phosphate ceramics using microware irradiation. Biomaterials. 21:1623-1629.

LAYROLLE, P.; DACULSI, G. 2009. Physicochemistry of Apatite and Its Related Calcium Phosphates. In: LEÓN, B.; JANSEN, J.A. Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants. Spain. Springer. p 25-66.

LÓPEZ, E.; ACOSTA, N.; GONZPALEZ, N.; FERNÁNDEZ, M.J; FERREIRA, E.; ROJAS DE ARIAS, A. 2002. Diferencias morfometricas en poblaciones de Triatoma infestans provenientes de las regiones Oriental y Occidental del Paraguay. Memorias del Instituto de Investigación de Ciencias de la Salud (PY). 1 (1): 51-57.

LÓPEZ, T.; MARTÍNEZ, A. 1995. El mundo mágico del vidrio (en línea). Consultado 15 junio 2012. Disponile en www.bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/137/html/mundo ma.html.

MANRIQUE, G. 2010. Comunicación intraespecífica y comportamiento sexual de *Triatoma infestans*. In: Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina, ISBN, 1666-4612. 21 (1): 7-9.

MARQUETTI F., M. del C. 2003. Triatomas (en línea). Microbiología y Parasitología Médicas. Consultado 6 marzo 2012. Disponible en www.ungefcm.gq:8081/datas/agentesbiologicos/contenidos/generales/bibliografia_b asica/microcap139.pdf

MEJÍA DE GUTIÉRREZ, R., DEL VASTO, R., MORALES, R.T. 2000. Una nueva puzolana para materiales camenticios de elevadas prestaciones. Materiales de Construcción (ES). 50 (260): 5-13.

MEJÍA DE GUTIÉRREZ, R., TORRES A., J., GUERRERO, C.E. 2004. Análisis del Proceso Térmico de Producción de una Puzolana. Materiales de Construcción (ES). 54 (274): 65-72.

MONTEIRO, M. 2002. Produção e caracterização *in vitro* de gránulos de fosfatos de cálcio para aplicação em enxertos ósseos. Tesis (M.Sc.). Rio de Janeiro, BR: COOPE/UFRJ.

MONTIEL, A., JONES, O. T.1989. Estado actual del uso de feromonas en el manejo integrado de plagas del olivo. In: Boletín de Sanidad Vegetal Plagas. 15: 161-173.

OJEDA S., J.L. 1997. Interacción del haz de electrones con la muestra: origen de los distintos tipos de señales. Anatomía del microscopio electrónico de barrido. Principios básicos de la formación de la imagen a partir de los electrones secundarios. In: Métodos de microscopia electrónica de barrido en biología. Gráficas Calima, S.A. p 25.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2002. Control of Chagas disease. Technical Report Series 2002; 905, Geneva.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2010. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Nota descriptiva N°340.

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2012. Uruguay es el 1º país de América Latina libre del insecto que transmite el mal de chagas. (en línea). Consultado 18 mayo 2012. Disponible en www.new.paho.org/uru/index.php?option=com_content&task=view&id=525&Itemi d=1

PINTO D., J.C. 1987. Control of Chagas Disease in Brazil. Parasitology Today. 3 (11): 336-341.

PINTO D., J.C. 2007. Enfermedad de Chagas: Las etapas recorridas y las perspectivas futuras in: OPS (Organización Panamericana de la Salud). La enfermedad de Chagas, a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. Washington. p 37-50.

ROJAS DE ARIAS, A.; VILLALBA DE FELTES, C. 2011. Implementación de un Sistema de Vigilancia para el Control de la Enfermedad de Chagas con Participación Comunitaria en el Paraguay 2002-2010. OPS/OMS. Asunción, Py. 54p

ROLÓN, M.; VEGA, M.C.; ROMÁN, F.; GÓMEZ, A.; ROJAS DE ARIAS, A. 2011. First Report of Colonies of Sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, Using a Trained Dog. PLoS Negl Trop Dis 5(5): e1026. doi: 10.1371/journal.pntd.0001026.

ROMÁN, F.; GÓMEZ, A.; VEGA, C.; ROLÓN, M.; SANCHEZ, H.; COUSIÑO, C.; ROJAS DE ARIAS, A. 2010. Sensores cebados como herramienta de evaluación de re-infestación intradomiciliar por *Triatoma infestans* en comunidades indígenas del chaco paraguayo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL (MEDTROP) (XLVI, 2010, Foz de Iguazú, Br.).

SALAS, J. 2008. Capacidad de captura de *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Pyralidae) en dos tipos de trampa provistas con su feromona sexual. Bioagro (VE). 20 (2): 135-139.

SÁNCHEZ C., C. 1968. La espectroscopia infrarroja en el campo del vidrio. Conferencia pronunciada en la I Reunión Técnica de la Sección de Vidrio. Sociedad Española de Cerámica. SCHMUÑIS, G.A. 2000. A Tripanossomíase Americana e seu Impacto na Saúde Pública das Américas. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETTO, M. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2^a ed. Rio de Janeiro, BR: Guanabara Koogan S.A. 1-15.

SCHOFIELD, C.J.; Dujardin, J-P. 1997. Chagas Disease Vector Control in Central América. Parasitology Today. 13 (4): 141-144.

SERRANO L., S. S.; PRIETO G., F.; GORDILLO M., A. J. 2005. Síntesis y Caracterización de Sílice dopada con óxidos de hierro por la vía Sol-GelSíntesis. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. (VEN). 5 (1-2): 3-14.

SHERLOCK, I.A. 2000. Vetores. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETTO, M. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2^a ed. Rio de Janeiro, BR: Guanabara Koogan S.A. 21-40.

SIMON, N. C. 1994. Las feromonas en la lucha integrada. Horticultura 98. p 49-51.

SKOOG, D.A.;HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. 2008. Aplicaciones en la eséctrometría en el infrarrojo. In: Principios de Análisis Instrumental. 6^{ta} ed. MX. CENGAGE Learning. p. 455-480.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. 2008. Espectroscopía atomic de rayos-X. In: Principios de Análisis Instrumental. 6^{ta} ed. MX. CENGAGE Learning. p. 303-334.

TAKAHASHI, R. M.; ASSIS, O. B. G. 2008. Obtenção de vidros porosos para uso como dispositivo de liberação de feromônios. Cerâmica (BR). 54 (332): 462-465.

TAMAYO, A.; PÉREZ V., S.; RUBIO, F.; RODRÍGUEZ, M. A.; RUBIO, J.; OTEO, J.L. 2009. Caracterización estructural de vidrios del sistema SiO₂-B₂O₃-Na₂O- mediante espectrocopias IR y Raman. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio (ES). 48 (5): 237-243.

TIBONI, A., CORACINI, M.D.A., LIMA, E.R., ZARBIN, H.G., ZARBIN, A.J.G. 2008. Evaluation of Porous Silica Glasses as Insect Pheromone Dispensers. Journal of the Brazilian Chemical Society. (BR). 19 (8): 1634-1640.

TORRES A., J., MEJÍA DE GUTIÉRREZ, R, CASTELLÓ, R., VIZCAYNO, C. 2011. Análisis comparativo de caolines de diferentes fuentes para a producción de metacaolín. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. 31 (1): 35-43.

TORRES A., J., MEJÍA DE GUTIÉRREZ, R. 2007. Influencia de la composición mineralógica de los caolines sobre el desempeño de morteros adicionados con MK (CO). Dyna. 153: 61-67.

WILLARD, H.H., MERRITT, L.L., JR, DEAN, J.A. 1967. La absorción de la radiación infrarroja. In: Métodos Instrumentales de Análisis. 4^{ta} ed. MX. Compañía Editorial Continental. p. 161-207.

WILLARD, H.H., MERRITT, L.L., JR, DEAN, J.A. 1967. Métodos de rayos X. In: Métodos Instrumentales de Análisis. 4^{ta} ed. MX. Compañía Editorial Continental. p. 255-303.

SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

- 1. Estudio de la influencia del tamaño de partículas del caolín en la cantidad de adsorción del benzaldehído.
- Estudio de variación de cantidad de desorción de feromona con la temperatura.
- 3. Estudio de la influencia de la temperatura de sinterización de la pastilla en la resistencia para el mejor manejo de las mismas.
- 4. Monitoreo de liberación de feromona y estabilidad de la misma en las pastillas por medio de análisis de cromatografía gaseosa.
- 5. Estudios biológicos de pre-campo prolongados controlando la temperatura ambiente y humedad.
- 6. Estudio en campo de la eficacia del emisor de feromona en la captura de vinchucas para su validación.
- Evaluación del comportamiento de otras feromonas sexuales o mezclas de feromonas.