



Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Exactas

Departamento de Química

Mecanismos, cinética y toxicidad de
insecticidas cloronicotínicos y sus productos
de degradación con especies reactivas
oxidantes de interés ambiental

María Laura Dell'Arciprete

Mecanismos, cinética y toxicidad de insecticidas
cloronicotinoides y sus productos de degradación
con especies reactivas oxidantes de interés
ambiental

María Laura Dell'Arciprete
2010

El presente trabajo de tesis para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas ha sido desarrollado en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) y en el Laboratorio de Estudio de Compuestos Orgánicos (LADECOR), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, bajo la dirección de la Dra. Mónica C. Gonzalez y del Dr. Jorge J. Furlong.

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que durante estos años han hecho posible de alguna manera la realización de este trabajo de tesis:

A mis directores, Mónica y Jorge, por todo el conocimiento brindado, y por su incesante apoyo a mi crecimiento profesional y personal.

A mis compañeros del grupo LEAR: Janina, Pedro, Paula, Verónica, Valeria, Gabriela, Marcela, Andrea, Manuel, Luciano, Daniel y Laura por su constante colaboración y amistad.

A Daniel, por las discusiones realizadas durante todo el trabajo.

A toda la gente del primer piso del INIFTA, por su solidaridad, compañerismo y los buenos momentos compartidos.

A Larisa por su ayuda en el Curso de Filosofía.

Al personal del INIFTA, que facilitó, de alguna u otra manera, el desarrollo de esta tesis.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP, por haber permitido que realizar mi tarea es esta institución.

A CONICET y ANPCyT por haberme otorgado las becas para realizar esta tesis.

A Antonio Arques, Lucas Santos-Juanes, Juan Miguel Soler Escoda y todo el grupo de trabajo del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Universidad Politécnica de Valencia, por los experimentos que realizamos en conjunto y por haber convertido mi estadía allí en una excelente experiencia.

A Carlos Cobos, por su predisposición y su trabajo en el cálculo de espectros de absorción de intermediarios.

A Patricia Allegretti por su colaboración en la determinación de los productos de reacción.

Y por último,

A toda mi familia, en especial, a mis padres y mi hermano por acompañarme en todo momento.

A Santiago por su amor y apoyo.

A mis amigas.

Índice

Mecanismos, cinética y toxicidad de insecticidas cloronicotinoides y sus productos de degradación con especies reactivas oxidantes de interés ambiental.

Índice

Parte. Introducción

Capítulo I. Introducción

| | | |
|-------|---|----|
| I-I | Agua y Contaminación | 1 |
| I-II | Clasificación de contaminantes | 2 |
| I-III | Insecticidas Cloronicotinoides | 4 |
| I-IV | Fotólisis y generación de especies reactivas | 8 |
| I-V | Especies reactivas de interés ambiental | 9 |
| | a) Radical hidroxilo | 12 |
| | b) Oxígeno singlete y estados excitados de sensibilizadores | 17 |
| | c) Radical anión sulfato | 20 |
| | d) Radical anión carbonato | 23 |
| I-VI | Objetivos | 23 |

Capítulo II. Materiales y métodos utilizados.

| | | |
|--------|---|----|
| II-I | Reactivos y preparación de soluciones | 24 |
| II-II | Experimentos de irradiación resueltos en el tiempo y generación de especies reactivas | 25 |
| II-III | Experimentos de irradiación continua | 32 |
| II-IV | Análisis de productos de reacción | 36 |
| II-V | Ensayos biológicos | 39 |
| II-VI | Métodos de cálculo | 42 |
| II-VII | Ecuaciones utilizadas para el ajuste de las señales | 44 |

Parte B. Resultados**Capítulo III. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoideos con radical hidroxilo y fotólisis UV.**

| | | |
|---------|---|----|
| III-I | Fotólisis UV de los insecticidas | 45 |
| III-II | Radical hidroxilo. Experimentos de fotólisis resueltos en el tiempo | 47 |
| III-III | Radical hidroxilo. Experimentos de fotólisis continua en presencia de H ₂ O ₂ | 49 |
| III-IV | Identificación de productos estables de reacción | 51 |
| III-V | Toxicidad de los insecticidas y de las aguas contaminadas con los insecticidas y sus productos de degradación con HO [•] | 59 |
| III-VI | Conclusiones parciales | 63 |

Capítulo IV. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides y piridinas sustituidas con radical sulfato.

| | | |
|---|---|-----|
| IV-I | Radical anión sulfato | 64 |
| A Experimentos con piridinas monosustituidas | | |
| IV-II | Constantes de velocidad de reacción de piridinas e iones piridinio | 65 |
| IV-III | Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con piridinas 3-sustituidas e iones piridinio | 71 |
| IV-IV | Identificación de productos estables de reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con piridinas | 76 |
| IV-V | Conclusiones parciales | 78 |
| B Experimentos con insecticidas cloronicotinoides | | |
| IV-VI | Constantes de velocidad de reacción de los insecticidas con $\text{SO}_4^{\cdot-}$ | 83 |
| IV-VII | Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con los insecticidas | 85 |
| IV-VIII | Identificación de productos estables de reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con insecticidas | 93 |
| IV-IX | Conclusiones parciales | 102 |

Capítulo V. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides con oxígeno singlete molecular y desactivación del triplete de rosa de bengala.

| | | |
|-------|--|-----|
| V-I | Experimentos de láser flash fotólisis con detección de fosforescencia a 1270 nm | 103 |
| V-II | Evaluación de la constante de desactivación del estado triplete del rosa de bengala | 105 |
| V-III | Experimentos de irradiación continua para la determinación de la constante de desactivación reactiva de oxígeno singlete | 106 |
| V-IV | Identificación de productos estables de reacción y estequiometría de la reacción con oxígeno singlete | 109 |
| V-V | Toxicidad de las aguas contaminadas con los insecticidas y sus productos de oxidación con oxígeno singlete | 115 |
| V-VI | Conclusiones parciales | 116 |

Capítulo VI. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides y piridinas sustituidas con radical anión carbonato.

| | | |
|--|---|-----|
| VI-I | Radical anión carbonato | 118 |
| A Experimentos con piridinas monosustituidas | | |
| IV-II | Constantes de velocidad de reacción de piridinas e iones piridinio | 119 |
| IV-III | Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con piridinas 3-sustituidas | 123 |
| IV-IV | Identificación de productos estables de reacción | 125 |

| | | |
|--|--|-----|
| IV-V | Conclusiones parciales | 126 |
| B Experimentos con insecticidas cloronicotíoides | | |
| VI-VI | Constantes de velocidad de reacción de insecticidas con radical carbonato | 126 |
| VI-VII | Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con insecticidas | 129 |
| VI-VIII | Identificación de productos estables de reacción | 133 |
| VI-IX | Conclusiones parciales | 133 |
| Parte C. Conclusiones | | |
| Capítulo VII. Conclusiones generales. | | 134 |
| Apéndice. | | 138 |
| Referencias. | | 145 |

Parte A

Introducción

Capítulo I

Introducción

Capítulo I. Introducción

I-Agua y Contaminación

El agua es el recurso natural más importante, sin ella no sería posible la vida. La existencia de agua en estado sólido, líquido y vapor hace de la Tierra un lugar adecuado para el desarrollo de la vida. Ya en las culturas ancestrales, el agua representaba la esencia de la vida.

El agua total que se encuentra en el planeta Tierra se llama hidrósfera. Posee un volumen aproximado de 1,360 millones de kilómetros cúbicos. Incluye aguas naturales como lagos y ríos; océanos y aguas contenidas en sistemas biológicos. Los océanos Ártico, Atlántico, Índico y Pacífico cubren el 71 % de la superficie terrestre y contienen el 97 % del agua total. Menos de un 1 % forma parte de las aguas superficiales y atmosféricas y de un 2 a un 3 % forma parte de glaciares y nieves permanentes.

Los procesos hidrosféricos constituyen distintos pasos por los que el agua circula en la Tierra. Estos procesos incluyen la sublimación del hielo, las precipitaciones, el transporte a través de ríos, etc. El ciclo natural del agua garantiza los recursos hídricos. Pese a esto, la utilización de los recursos de agua dulce se ven reducidos por su contaminación. Según IUPAC [Duffus, 1995], cualquier materia indeseable, sólida, líquida o gaseosa presente en el medio ambiente se denomina “*contaminante o polulante*”. La cualidad de indeseable viene determinada por su concentración y permanencia en el medio. Se denomina contaminación ambiental a la presencia de sustancias en el ambiente, como consecuencia de procesos naturales o de actividades humanas, en concentraciones y tiempo suficientes como para alterar la comodidad, la salud o el bienestar de los seres vivos o perjudicar al medio. Según el Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los Recursos Hídricos en el mundo [Unesco, 2003], unos 2 millones de toneladas de desechos son arrojados diariamente en las aguas, incluyendo residuos industriales y químicos, vertidos humanos y desechos agrícolas (fertilizantes, plaguicidas y residuos de plaguicidas).

II-Clasificación de contaminantes

Existen varias clasificaciones de los contaminantes, ya sea por su naturaleza física, química o biológica; por su toxicidad y bioacumulación en el medio ambiente; por el tipo de fuente que los genera; etc.

La contaminación de las aguas puede proceder de fuentes naturales o antropogénicas. Las fuentes de contaminación natural son muy dispersas y no provocan concentraciones altas de polución, excepto en lugares muy concretos. La contaminación de origen humano, en cambio, se concentra en zonas concretas y son, sin duda las más peligrosas. Los cuatro focos principales de contaminación antropogénica incluyen: la contaminación proveniente de las industrias, los vertidos urbanos, las procedentes de la navegación y de las actividades agrícolas y ganaderas.

Las diversas fuentes de contaminantes pueden dividirse en “puntuales” o “no puntuales”. Las llamadas fuentes puntuales representan aquellas actividades donde los desechos son conducidos directamente a los cuerpos de aguas, por ejemplo, por un conducto de descarga, donde pueden ser fácilmente medidos y controlados. En cambio, las fuentes no puntuales o difusas provienen de una amplia variedad de actividades humanas para las que los contaminantes no poseen un punto de entrada dentro de un curso de agua. Estas últimas son más difíciles de identificar, medir y controlar que las fuentes puntuales [Ongley, 2009].

En esta tesis se adopta una clasificación de contaminantes de manera tal de discriminar los compuestos que son de interés para la misma, los plaguicidas.

Plaguicidas

La humanidad, desde sus inicios, ha tratado de controlar el crecimiento de pestes, ya que es importante no sólo para la protección de los cultivos sino también para la salud pública [Kim, 2006].

Según la OMS, un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia ó mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir

insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. Una clasificación detallada viene dada por el tipo de organismo blanco: Insecticidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, molusquicidas, acaricidas, antibióticos y nematocidas. Los de uso más extendidos son los dos primeros.

Los plaguicidas pueden ser contaminantes del suelo como resultado de su persistencia luego del uso, permeabilidad, derrames accidentales, y como residuos de la industria de los mismos. En el ambiente acuático los casos frecuentes de contaminación por plaguicidas se dan como consecuencia del almacenamiento y distribución inadecuados de los productos agroquímicos (aguas de desecho de industrias agroalimentarias, aguas de desecho de plantas productoras de plaguicidas, aguas de lavado procedente de contenedores y equipos de pulverización) [Devipriya y Yesodharan, 2005].

La movilidad del pesticida y su potencial de ser transportado al agua depende de su solubilidad, su constante de absorción en el suelo (K_{oc}), su coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow}), su tiempo de vida media (DT_{50}) y de la naturaleza del suelo. Por ejemplo, un plaguicida es capaz de contaminar las aguas subterráneas si su coeficiente de adsorción es bajo, su tiempo de vida medio alto y su solubilidad alta. Las nuevas generaciones de plaguicidas son polares, hidrosolubles y termolábiles con el fin de disminuir su toxicidad y facilitar su desaparición del ambiente. A su vez, debe persistir tiempo suficiente como para controlar sus organismos blancos. Estas características favorecen su transporte a las aguas subterráneas.

El objetivo principal cuando se desarrollan pesticidas es hallar un compuesto con potencialidad en el mercado, que no presente problemas residuales a corto ó largo plazo. Se conoce que sólo una pequeña parte del pesticida alcanza su objetivo: los organismos blanco, la mayor parte permanece en el suelo, el agua, el aire. No obstante, son afectados por diferentes transformaciones que dan como resultado la desaparición en el medio. Si bien participan en este proceso reacciones químicas, como por ejemplo hidrólisis, oxidación y fotólisis, el responsable principal de su mineralización es el metabolismo microbiológico. La microbiota del suelo utiliza los plaguicidas como fuente de carbono y otros nutrientes. El tratamiento biológico de degradación de contaminantes, tanto en aguas de desecho como en suelos suele ser el proceso más económico. Sin embargo, cuando los contaminantes son muy tóxicos y persistentes, los procesos biológicos no son eficientes.

Insecticidas

Más de la mitad de los plaguicidas corresponden al grupo de los insecticidas. Desde hace milenios la humanidad utiliza sustancias como cenizas, azufre, compuestos arsenicales, tabaco molido, cianuro de hidrógeno, compuestos de mercurio, zinc y plomo, etc., para luchar contra los insectos. Estas sustancias conforman el grupo de los llamados insecticidas de primera generación. Son, en general, muy tóxicos, poco efectivos como insecticidas y muy persistentes en el ambiente, por lo que el uso de la mayor parte de ellos está prohibido.

Los insecticidas de segunda generación, de mucha mayor efectividad, pueden clasificarse en grupos según su estructura química. La familia de los organoclorados, de los organofosforados y de los carbamatos son los más utilizados. Aún hoy el mercado mundial de pesticidas está dominado por compuestos organoclorados y organofosforados. Pero en las últimas décadas se han desarrollado otros plaguicidas con distintos modos de acción. Su toxicidad y persistencia en el ambiente están aún siendo investigadas en la actualidad. Ejemplos de ellos son las dinitroanilidas, los fenilpirazoles, y los cloronicotinoides.

III-Insecticidas Cloronicotinoides

La nicotina ha sido usada por siglos para el control de insectos en muchos cultivos. Su éxito estuvo siempre limitado por su rápida degradación en el ambiente, su falta de selectividad y su toxicidad hacia vertebrados. Sin embargo, aún hoy es utilizado como insecticida minoritario, particularmente en China [Tomizawa y Casida, 2005].

A principios de los ochentas investigadores japoneses subsidiados por la empresa Bayer comenzaron el trabajo de síntesis y mejoramiento de nithiazin, la primera molécula insecticida con un grupo nitrometilen que debido a su fotolabilidad nunca fue comercializado [Menckel y Leschke, 2002; Tomizawa y Casida, 2005]. Luego de la preparación de aproximadamente 2000 compuestos, surgió en 1984 Imidacloprid (IMD, 1-(6-cloro-3-piridil)metil-2-nitroiminoimidazolidina) (Fig I A1) y fue seleccionado para uso comercial por su potencial insecticida, su fotoestabilidad, y efecto residual. El insecticida cloronicotinoide, fue introducido en el mercado en 1991 y desde ese momento se convirtió en un insecticida exitoso, altamente efectivo y ampliamente

vendido en el mundo para uso agrícola y veterinario para el control de insectos ectoparásitos. Para uso agrícola, fue registrado en más de 120 países y para ser utilizado sobre 140 tipos de cultivos. La forma de aplicación registradas incluyen aplicación spray foliar, irrigación por goteo, inyección y aplicación granular. Posee amplia actividad contra numerosas especies de insectos succionadores; termitas, e insectos masticadores. Por otro lado, las primeras investigaciones llevadas a cabo por Bayer, comunicaban su inocuidad para muchos organismos benéficos como ácaros predatorios, y arañas independientemente del método de aplicación empleado. Puede ser aplicado sobre semillas, suelos y hojas en diferentes cultivos. Se comercializa en la Argentina con el nombre de “Confidor” para aplicaciones foliares y tratamientos de suelo, y para semillas bajo la marca “Gaucho”. Según un informe de SENASA, en el año 2006 se importaron 154023 kg de IMD a nuestro país, y en el 2005 se hallaba entre los 30 pesticidas más vendidos en la Argentina según la Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se llevó a cabo un programa de búsqueda y desarrollo conjunto entre Bayer AG en Alemania, Nihon Bayer Agrochem en Japón y Bayer Corporation en los Estados Unidos. Este programa llevó al descubrimiento de Tiacloprid (THIA, 3-(6-cloro-3-piridilmetil)-2-tiazolidinilidena] cianamida) (Fig. I A2), el segundo miembro de la familia cloronicotinoide, que salió al mercado en 2001. Este compuesto posee las características de una alta actividad insecticida, y fue presentado como “seguro para abejas”, ya que el IMD había presentado problemas en este sentido. En 1999 fue prohibido su uso en Francia por atribuirle la disminución de la población de abejas. El THIA además, posee actividad insecticida frente a varias especies de escarabajos y larvas de insectos. Tiacloprid ha sido recientemente introducido en la Argentina con el nombre de “Calipso”.

Aparte de estos dos nicotinoides cíclicos de Bayer AG se comercializan otros de cadena abierta, como el Acetamiprid (ACT, (E)-N-(6-cloro-3-piridilmetil)-N'-ciano-N-metilacetamidina) de Nippon Soda (ver Figura I A3).

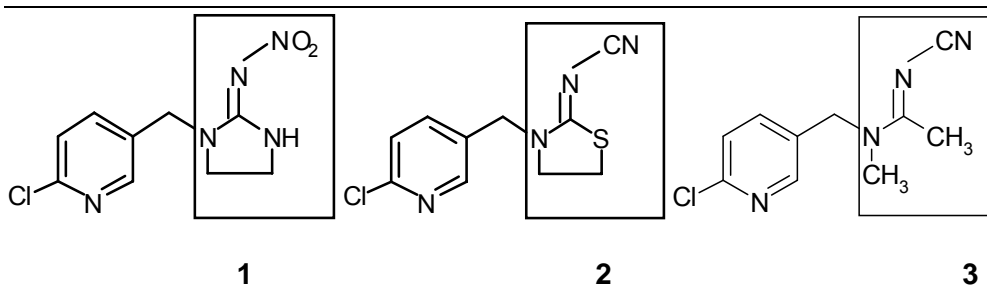


Figura I A. Estructura molecular de los insecticidas cloronicotinoides utilizados en esta tesis, (1) Imidacloprid, (2) Tiacloprid y (3) Acetamiprid. Las estructuras recuadradas son las citadas como moléculas centrales en el texto.

La familia de los neonicotinoides es muy amplia. La estructura general posee dos farmacóforos, es decir, dos partes de la molécula que producen los efectos fisiológicos específicos del insecticida. Uno de ellos es una molécula olefínica compuesta por NNO_2 , CHNO_2 o NCN como grupo donador de electrones selectivo para el reconocimiento de los receptores nicotinilacetilcolínicos (nAChRs) en insectos, [Honda y col., 2006] conjugado a anillos de imidazolidina, oxazolidina, tiazolidina, pirrolidina, o un anillo heterocíclico de seis átomos, o sus acíclicos correspondientes, que se suele llamar molécula central (recuadradas en la Figura I A). Y por otro lado, el otro es un compuesto heterocíclico como 6-cloropiridil, 5-cloro-3-tiazolil o 3-tetrahidrofuranil unido al N1 de la molécula central a través de un puente metileno [Kagabu, 2008].

La clase de los neonicotinoides es la mayormente desarrollada en las últimas tres décadas [Tomizawa y Casida, 2005]. En los últimos años se ha continuado investigando la relación entre estructura y actividad insecticida de estos compuestos [Ohno y col., 2007; Kagabu y col., 2007]. Aunque su uso mayoritario es la protección de cultivos, el control de insectos en animales domésticos también es un mercado importante [Tomizawa y Casida, 2005].

Los insecticidas cloronicotinoides tiene un modo de acción distintivo: actúan como agonistas de los receptores nicotinilacetilcolínicos situados en el sistema nervioso central de insectos [Nauen y Bretschneider, 2002]. Actúan interfiriendo con la transmisión de impulsos nerviosos en insectos. Su acción prolongada desorganiza la operación normal del sistema nervioso y este desorden lleva, en la mayoría de los casos, a consecuencias letales. Aunque también posee efectos subletales como rechazo, reducción o cesación de alimentación, reducción o cese de actividades reproductivas, reducción de movimiento, etc. [Matsuda y col., 2005].

Investigaciones llevadas a cabo por Bayer informan una rápida degradación de los neonicotinoides en medio acuático. La fotodegradación de IMD es considerada una vía de degradación importante en aguas naturales como lagos, ríos y aguas de lluvia [Krohn y Hellpointner, 2002]. Aunque estos estudios consideran que el THIA es resistente a la degradación fotoquímica, afirman que se elimina rápidamente por metabolismo microbiológico [Krohn, 2001].

Se describieron transformaciones de estos insecticidas por microorganismos, plantas, y animales que dan lugar a sustancias más tóxicas con pérdida de especificidad. La degradación metabólica de IMD en animales y plantas produce el metabolito desnitrado que exhibe mayor toxicidad a mamíferos que a insectos [Matsuda y col., 2005; Chao y Casida, 1997]. De la misma manera, el metabolito desciano de tiacloprid presenta mayor toxicidad hacia receptores nAChRs de mamíferos que de insectos [Honda y col., 2006; Tomizawa y col., 2000]. Además, *stentrophomonas maltophilia* aislada de suelos es capaz de hidroxilar IMD a 5-hidroxi IMD, que se convierte en la olefina correspondiente. Este metabolito exhibe mucho mayor actividad insecticida que el IMD [Dai y col., 2006; Nauen y col., 2001]. Por el contrario, estas bacterias son capaces de demetilar ACT, que retiene sólo una pequeña actividad frente a *horsebean aphid*. Tanto la demetilación como la degradación disminuyen la bioeficacia de ACT para aplicación en suelos [Chen y col., 2008].

Gupta y col. publicaron que las soluciones acuosas de residuos de THIA y ACT se degradan con luz solar con tiempos de vida media de varios días o semanas [Gupta y col., 2008]. Sin embargo, los productos de fotólisis y la toxicidad asociados a estas transformaciones no se conocen. Solamente, se conoce que los procesos fotoquímicos de oxidación avanzada causan un alto grado de oxidación de los insecticidas con una subsecuente disminución de la toxicidad [Cernigoj y col 2007; Kitsiou y col., 2009; Malato y col., 2001].

El uso acrecentado de estos neonicotinoides permitidos [Council Directive, 1991] pone en riesgo el ecosistema acuático natural, ya que las degradaciones bióticas y abióticas naturales de estos insecticidas pueden resultar en la aupo-depuración de aguas o en la generación de especies más peligrosas. En consecuencia, la investigación de la reactividad de los insecticidas neonicotinoides con especies reactivas presentes en acuíferos naturales, la caracterización de los metabolitos formados y el estudio de su

biocompatibilidad y estabilidad, es de importancia fundamental para evaluar en forma completa el impacto ambiental de su uso.

Para este estudio se han seleccionado, entre todos los miembros de la familia neonicotinoide, aquellos que poseen un uso extendido y son comercializados en Argentina. Con respecto a la estructura química, se escogieron tres insecticidas que tuvieran una molécula común (el anillo 6-cloropiridina) que se une por un puente metileno a una estructura marcadamente diferente (un anillo imidazolidina en IMD, un anillo tiazolidina en THIA y una cadena abierta acetamidina en ACT). La molécula de piridina, nos permitirá aproximar el comportamiento químico de los insecticidas con el estudio de una estructura mucho más sencilla. Los resultados de estos ensayos se mostrarán en los Capítulos IV y VI.

IV- Fotólisis y generación de especies reactivas

Entre los procesos bióticos y abióticos que puede sufrir un contaminante, la fotodegradación es un factor importante en la ocurrencia de los mismos. Este proceso es significativo en los primeros centímetros del suelo, en la superficie de las plantas y en los ecosistemas acuáticos superficiales [Burrows y col., 2002].

La fotólisis puede ser directa, cuando la sustancia contaminante absorbe luz UV-visible, y sufre una transformación. En tanto que, durante la fotólisis indirecta, la energía es absorbida por otros constituyentes del medio. Las especies así excitadas pueden transferir energía a la sustancia, transferir electrones a la sustancia o conducir a la formación de especies reactivas [Konstantinou y col., 2001].

Muchos contaminantes, en particular pesticidas, presentan bandas de absorción UV-visible a longitudes de onda cortas. Ya que la luz solar que alcanza la superficie de la Tierra, principalmente UV-A (400-315 nm) con cantidades variables de UV-B (315-280 nm) contiene sólo una pequeña porción de radiación UV de longitud de onda corta, la fotólisis directa de muchos pesticidas por luz solar es de importancia limitada. No obstante, esta irradiación directa puede promover a los pesticidas a sus estados excitados y sufrir homólisis, heterólisis, fotoionización, etc.

La fotólisis directa de los insecticidas, con luz UV y irradiación que simula el espectro solar, serán tratadas en forma conjunta a la reacción de los oxidantes en los Capítulos III y V, respectivamente.

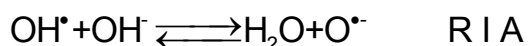
Existen numerosos oxidantes y reductores ambientales acuáticos que se forman vía fotoquímica o térmica. Los reductores naturales son importantes en cuencas anóxicas, que constituyen los sistemas más escasos. La gran mayoría de los ecosistemas naturales cuenta con la presencia de oxígeno, y en ellos se generan especies oxidantes, algunas de las cuales se tratarán en esta tesis.

Estas especies altamente reactivas se encuentran en sistemas naturales en concentraciones bajas y, por lo tanto, no es esperable una oxidación fuerte o una mineralización de la materia orgánica aunque las moléculas de contaminantes sean atacadas. Por esta razón, la descontaminación de los ríos y lagos sólo es posible si los productos primarios formados son menos tóxicos que los contaminantes de partida. Sin embargo, la formación de productos más tóxicos también es posible. En los Capítulos III y V se exponen los resultados de toxicidad de los productos de oxidación y se comparan con la toxicidad de los insecticidas.

V-Especies reactivas de interés ambiental

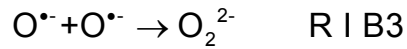
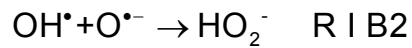
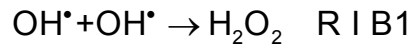
a) Radical hidroxilo

El radical hidroxilo, HO•, es un oxidante fuerte que posee un potencial de reducción de 2,7 V en soluciones ácidas (pH=0) y de 2,3 V a pH 7 [Steenken, 1996] frente al ENH. En soluciones fuertemente alcalinas (pK_{aOH•}=11,9) el radical hidroxilo pasa a su base conjugada O^{•-}.

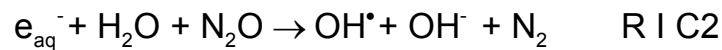
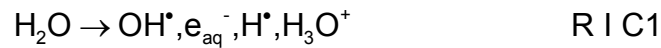


La base conjugada reacciona mucho más lentamente que el HO• con muchos compuestos inorgánicos. Frente a los compuestos orgánicos, el HO• reacciona como electrófilo, en tanto que el O^{•-} reacciona como nucleófilo [Buxton y col., 1988]. Esta especie reacciona reversiblemente con O₂ para generar el radical ozónido O₃^{•-} que tiene tiempos de vida más largos, del orden de 10⁻⁴s [Gonzalez y col., 1998].

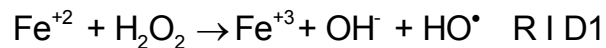
En ausencia de otros sustratos las especies HO• y O^{•-} se dimerizan con constantes del orden difusional.



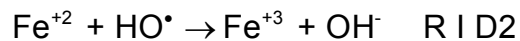
El HO• puede generarse por radiólisis de pulso, donde una radiación ionizante de alta energía se hace incidir sobre agua, lo que causa la ionización y excitación de las moléculas de agua que dan lugar a la formación de radicales primarios, entre ellos el radical HO• (R I C1). Además otra de las especies primarias, el electrón solvatado e_{aq}^- , puede generar HO• por reacción con óxido nitroso N₂O [Bielski y Cabelli, 1995].



Entre los métodos químicos de generación de radical hidroxilo se encuentra el reactivo de Fenton o tipo Fenton. Involucran la descomposición de peróxido de hidrógeno u otros peróxidos, catalizada por iones acuosos de Fe⁺² o Fe⁺³. El llamado reactivo de Fenton está basado en la reacción de Fe⁺² con H₂O₂. La reducción de peróxido de hidrógeno por iones Fe⁺² genera ion hidróxido y radical hidroxilo.

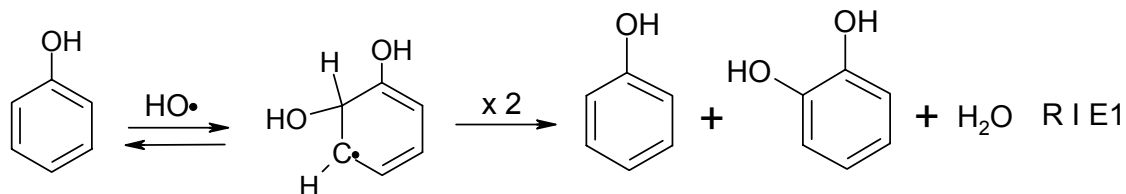


Los radicales hidroxilo pueden subsecuentemente reducirse frente a Fe⁺², recombinarse, reaccionar con peróxido de hidrógeno.

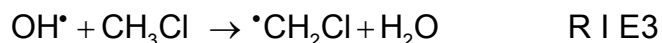


Las reacciones Fenton y tipo Fenton han sido utilizadas ampliamente para la degradación de insecticidas y otro tipo de contaminantes [Chan y Chu, 2003; Chunjuan y col., 2009; Malato y col., 2002; Ming-Chun y col., 1999].

El radical HO• reacciona, a diferencia de otros oxidantes, por adición con sustratos orgánicos y también con aniones y metales. Algunos ejemplos se muestran en las reacciones siguientes [Leffler, 1993; Tang, 2004]:



Además, puede reaccionar abstrayendo átomos de hidrógeno como se muestra en la reacción R I E3 [Chandra y Uchimarú, 2000].



Por último, se ha publicado que el radical HO• puede dar lugar a reacciones de transferencia electrónica, dependiendo del potencial de ionización de la molécula con que reaccione [Tripathi, 1998].

El radical HO• posee un máximo de absorción en 230 nm con un coeficiente de absorción en su máximo de $\epsilon_{230} = 665 \pm 25 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. En la práctica, el decaimiento del radical HO• no puede seguirse en forma directa porque absorbe débilmente a longitudes de onda $< 200 \text{ nm}$ donde absorben la mayor parte de los compuestos. De formarse radicales intermediarios de reacción con absorbancia apreciable a mayores longitudes de onda, la reacción podría seguirse observando su cinética de crecimiento, siempre que la velocidad de descomposición de este intermediario sea menor que la velocidad de su formación.

Se conoce que el nitrato induce la fotooxidación de sustancias orgánicas en variedad de condiciones ambientales, ya que genera el radical HO• [Zepp y col., 1987]. Las aguas que contienen altas concentraciones de hierro generan HO• mediante reacciones tipo foto-Fenton [Takeda 2004]. La concentración de estado estacionario de radicales HO• en las capas superficiales de los acuíferos se encuentran en el rango de 10^{-17} - 10^{-15} M [Vione y col., 2006].

b) Oxígeno singlete y estados excitados de sensibilizadores

El estado electrónico fundamental del oxígeno molecular ($^3\Sigma_g$) es paramagnético debido a dos spines electrónicos paralelos. Existen dos estados excitados energéticamente más próximos que surgen de la misma configuración electrónica pero con diferente paridad de spin $^1\Delta_g$ y el $^1\Sigma_g^+$ que poseen energías 94 y 158 kJ mol⁻¹ sobre el estado fundamental triplete $^3\Sigma_g$ respectivamente [DeRosa y Crutchley, 2002]. El estado $^1\Sigma_g^+$ se desactiva rápidamente (130 ns en tetracloruro de carbono) a $^1\Delta_g$ de forma que el primero no tiene posibilidades de reaccionar [Wilkinson y col., 1995]. Por lo tanto, el término oxígeno singlete suele referir sólo a la especie $O_2 (^1\Delta_g)$ (también llamado 1O_2). La transición del estado $^1\Delta_g$ al $^3\Sigma_g$ aún estando prohibida por las reglas de selección, ocurre a 1268,7 nm, lo que convierte al estado singlete en una especie de tiempo de vida relativamente largo.

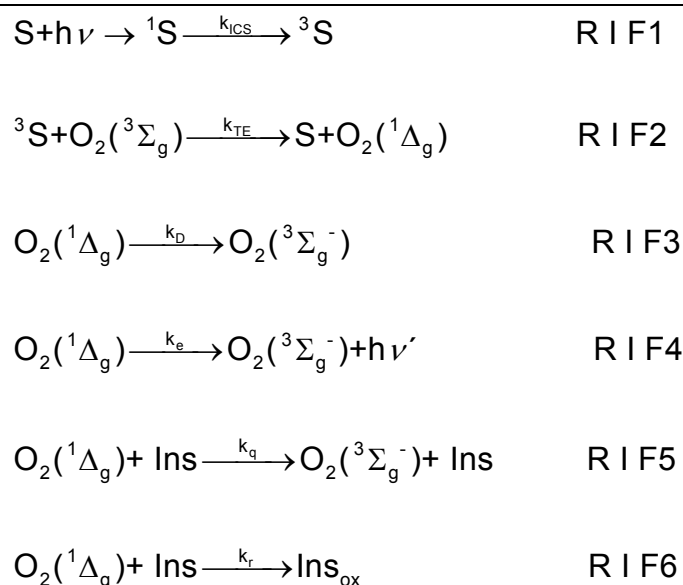
La energía necesaria para generar el estado $O_2 (^1\Delta_g)$ usualmente es transferida mediante colisiones entre el oxígeno molecular y un compuesto que se encuentre en estado excitado. Se conoce como *sensibilizador* a la sustancia capaz de absorber radiación y producir alteraciones fotoquímicas o fotofísicas en las especies circundantes. Según IUPAC, el sensibilizador no se debe consumir durante la reacción [Braslavsky, 2007]. El sensibilizador en su estado fundamental (S) absorbe un fotón ($h\nu$) y alcanza su estado excitado singlete, 1S . Este estado suele relajarse a un nivel excitado de menor energía 1S . En general, los estados excitados singletes de los cromóforos orgánicos no son considerados de importancia en las fotooxidaciones debido a sus tiempos de vida cortos (ns). El entrecruzamiento de sistemas permite la generación del estado triplete del sensibilizador, 3S . Los tiempos de vida comparativamente mayores de los estados tripletes, del orden de los μ s, permiten que estos estados interactúen con otras especies presentes en la solución [Canónica y Tratnyek, 2003].

Los estados tripletes son capaces de reaccionar según una de las dos formas definidas como mecanismos tipo I y II. El mecanismo tipo I involucra la transferencia electrónica entre el sensibilizador excitado y el sustrato, produciendo radicales libres habitualmente el catión radical del sustrato y el anión radical del sensibilizador. Estos radicales pueden a su vez reaccionar con el oxígeno formando el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$). En el mecanismo tipo II, se genera el oxígeno singlete [$O_2(^1\Delta_g)$] por un proceso de transferencia de energía durante la colisión del sensibilizador excitado y el oxígeno molecular presente [Foote, 1991; Ergaieg y col., 2008]. Los mecanismos tipo I y II

pueden ocurrir simultáneamente, dependiendo del sensibilizador, el sustrato, el solvente, la concentración de oxígeno y la afinidad del sensibilizador y el sustrato [Tønnesen, 2004]. Los sensibilizadores que se utilizan en la generación fotoquímica de oxígeno singlete deben poseer ciertas características. Deben ser suficientemente soluble en el solvente o mezcla de solventes a utilizar, tener un alto rendimiento cuántico para la producción de oxígeno singlete, un alto coeficiente de absorción a la longitud de onda de excitación, debe ser un mal *quencher* de oxígeno singlete y no interactuar con el *quencher* a estudiar ni en el estado fundamental ni en el excitado. Esta última propiedad no siempre se conoce, y en el caso de los insecticidas cloronicotinoides estudiados, la reactividad de los mismos con el estado triplete del sensibilizador surgió como consecuencia de este trabajo.

La excitación del sensibilizador en estado basal (S) produce un estado excitado. La relajación de ese estado excitado al estado excitado de menor energía 1S seguido de un intercambio de sistemas a estado triplete da lugar a la formación de 3S que posee un tiempo de vida mayor (ms) que el estado 1S (ns) (R I F1). A partir de 3S se produce la transferencia de energía al $O_2(^3\Sigma_g)$ (R I F2). Cada molécula de fotosensibilizador produce típicamente de 10^3 a 10^5 moléculas de $O_2(^1\Delta_g)$ antes de ser degradada por fotoblanqueamiento por $O_2(^1\Delta_g)$ o por otros procesos.

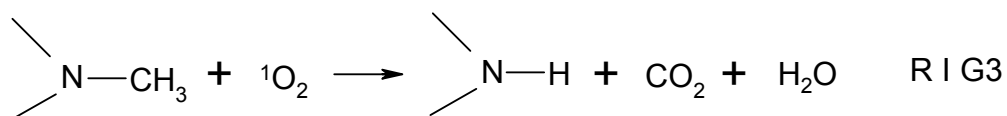
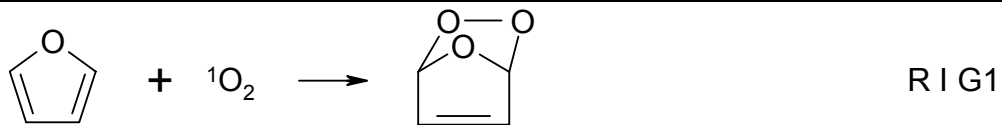
El oxígeno singlete puede desactivarse en forma no radiativa, por transferencia de energía con el solvente (R I F3), en forma radiativa emitiendo luz (R I F4). También puede interactuar con un sustrato, por ejemplo insecticidas (Ins), transfiriendo su exceso de energía mediante *quenching* físico (R I F5) y finalmente reaccionar con Ins para dar un lugar a la fotooxidación (R I F6). Se designa constante total de *quenching* (k_t) a la suma de los procesos físicos y reactivos; $k_t = k_r + k_q$.



Debido a que el oxígeno singlete en solución se desactiva transfiriendo energía electrónica a las vibraciones del solvente (R I F3), el tiempo de vida depende fuertemente del medio [Foote, 1995]. La relajación es tanto más eficiente cuanto mayor sean las frecuencias vibracionales de la molécula de solvente. En consecuencia, el tiempo de vida en agua, que posee una fuerte frecuencia de vibración cerca de 3600 cm^{-1} , es menor que en solventes orgánicos que poseen frecuencias en 3000 cm^{-1} . Debido a los corrimientos a menores frecuencias por la presencia de deuterio, el tiempo de vida se incrementa de 3-4 μs en H_2O a 62 μs en D_2O . El rendimiento cuántico de producción del singlete con Rosa de Bengala (Φ_Δ) en D_2O es 0,76 y en H_2O es 0,75 [DeRosa y Crutchley, 2002; Neckers, 1989].

Esta especie electrofílica es muy reactiva y reacciona con variedad de compuestos orgánicos. Esta reactividad elevada se atribuye a que muchas de las moléculas orgánicas con las que reacciona poseen su estado fundamental singlete lo que favorece la reacción, singlete-singlete más que si reaccionara con el estado basal del oxígeno molecular.

Un tipo importante de reacciones que lleva a cabo el $O_2({}^1\Delta_g)$ es la cicloadición a 1,3-dienos para formar endoperóxidos (R I G1). Los sulfuros orgánicos se oxidan a sulfóxidos en presencia de oxígeno singlete (R I G2) [Iesce y col., 2005]. Las aminas terciarias sufren degradación oxidativa a secundarias (R I G3).



Para evaluar las constantes de velocidad total de la reacción de los insecticidas con el singlete, es necesario hallar una expresión para la concentración estacionaria de esta especie, teniendo en cuenta sus vías de formación y decaimiento.

La velocidad de producción de $\text{O}_2 ({}^1\Delta_g)$ por el sensibilizador viene dada por la expresión:

$$\frac{d[{}^1\text{O}_2]}{dt} = \Phi_{\Delta} \times I_a \quad \text{Ec I A}$$

Donde Φ_{Δ} es el rendimiento cuántico de producción del $\text{O}_2 ({}^1\Delta_g)$ e I_a es la intensidad de luz absorbida.

La velocidad de consumo del singlete está gobernada por todas las vías de decaimiento planteadas en las ecuaciones R I F3 a F6.

$$-\frac{d[{}^1\text{O}_2]}{dt} = k_D [{}^1\text{O}_2] + k_e [{}^1\text{O}_2] + k_q [{}^1\text{O}_2][\text{Ins}] + k_r [{}^1\text{O}_2][\text{Ins}] \quad \text{Ec I B}$$

Si se considera condición de estado estacionario, donde las velocidades de producción y consumo son iguales se llega a una expresión para la concentración de $\text{O}_2 ({}^1\Delta_g)$ en estado estacionario:

$$[{}^1\text{O}_2]_{ss} = \frac{\Phi_{\Delta} \times I_a}{k_D + k_e + (k_q + k_r)[\text{Ins}]} \quad \text{Ec I C}$$

En ausencia de *quencher*, Ins, la expresión se simplifica:

$$[{}^1\text{O}_2]_{ss} = \frac{\Phi_{\Delta} \times I_a}{k_d + k_e} \quad \text{Ec I D}$$

El decaimiento del $\text{O}_2 ({}^1\Delta_g)$ en ausencia de *quencher* dependerá del solvente específico en el que se esté trabajando (gobernado por Φ_{Δ}). El $\text{O}_2 ({}^1\Delta_g)$ tendrá un tiempo de vida τ_{Δ}^0 relacionado con la relajación radiativa y no radiativa, es decir, con los procesos R I F3 y F4, de la siguiente forma:

$$k_{sv} = k_e + k_d = \frac{1}{\tau_{\Delta}^0} \quad \text{Ec I E}$$

Cuando se agrega un *quencher*, ese tiempo de vida se relaciona con la constante de velocidad observada,

$$k_{obs} = 1/\tau_{\Delta} = k_{sv} + k_t [\text{Ins}] \quad \text{Ec I F}$$

Combinando las ecuaciones Ec I E y F se llega a la expresión de Stern-Volmer, Ec I G que permite la evaluación de la constante de velocidad de *quenching* total.

$$\frac{1}{\tau_{\Delta}} = \frac{1}{\tau_{\Delta}^0} + k_t [\text{Ins}] \quad \text{Ec I G}$$

La absorción de luz por los constituyentes de las aguas como materia orgánica disuelta (DOM) puede generar especies excitadas capaces de transferir el exceso de energía y provocar cambios químicos. Las sustancias húmicas (HS), conforman una parte importante de la materia orgánica disuelta en aguas naturales y pueden actuar como sensibilizadores. La absorción UV-visible por parte de sustancias húmicas genera estados excitados triplete, [Zepp y col., 1985] que interactúan con los compuestos presentes en el agua generando intermediarios como radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), oxígeno singlete $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$, radicales alquilperóxido ($\text{RO}_2\cdot$), electrón solvatado (e_{aq}^-) y radical superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$). Sumado a la materia orgánica disuelta en las aguas, los propios contaminantes pueden absorber luz en la zona del UV cercano, y sufrir transferencia de energía o electrones hacia el estado fundamental del oxígeno disuelto para dar $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$ [García y Amat-Guerri, 2005]. Esta especie puede encontrarse en aguas naturales en concentraciones de estado estacionario del orden de $[{}^1\text{O}_2]_{ss} < 10^{-12}$ M.

La reacción de contaminantes con otras especies químicas en sus estados excitados es una vía probada de degradación [Canónica y Tratnyek, 2003; Richard y Canónica, 2005]. A partir del proceso de absorción de luz UV-visible se generan tripletes de las sustancias húmicas [David Gara, 2008] que pueden reaccionar con los insecticidas. La transferencia de energía de los estados excitados de las sustancias húmicas para oxidar contaminantes ha sido estudiado por varios autores [Chen y col., 2009; Halladja y col., 2007; Richard y col., 1997; Zhan y col., 2006]. Además, se han publicado algunos resultados de competición de distintos *quencher*s y oxígeno molecular por el estado triplete del sensibilizador Rosa de Bengala, como por ejemplo, 2-clorofenol [Miller, 2005] y 2,7-diclorofluoresceína [Bilski y col., 2002].

En el Capítulo V de esta tesis, se tratarán en forma conjunta el *quenching* del estado triplete de un sensibilizador por los insecticidas y la generación y vías de decaimiento de oxígeno singlete en presencia de los mismos.

c) Radical anión sulfato

Las tecnologías avanzadas de oxidación (AOP, Advanced Oxidation Processes) son procesos fisicoquímicos de oxidación de compuestos orgánicos disueltos y /o dispersos en agua, que comprenden métodos catalíticos y/o fotoquímicos en los que se generan intermediarios reactivos capaces de iniciar la oxidación [Legrini y col., 1993]. Algunos ejemplos de ellos son H_2O_2 / UV (luz ultravioleta), O_3 / UV, O_3 / H_2O_2 / UV, fotocátalisis de TiO_2 / vis y Fe (III) / H_2O_2 / UV-vis (foto-Fenton) [Gonzalez y col., 1998; Litter, 2005]. La utilidad de estos procesos para el tratamiento de efluentes se basa en su capacidad de generar fotoquímicamente radicales y estados excitados altamente oxidantes, tales como $\text{HO}\cdot/\text{O}^{\cdot-}$, $\text{SO}_4^{\cdot-}$ y complejos de Fe (IV) . La eficiencia de las AOP reside en las altas concentraciones de especies reactivas que se generan en estado estacionario.

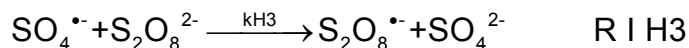
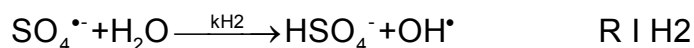
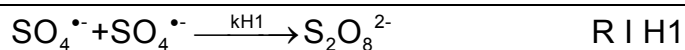
En particular, la destrucción de compuestos orgánicos mediante la oxidación iniciada por radicales, tecnología /SCO (In Situ Chemical Oxidation), se aplica a desechos contenidos tanto en suelos como en aguas [Liang y col., 2004]. Implica la introducción de un precursor de oxidante químico en la zona afectada al que se activa por medio de calor, luz o un catalizador con el fin de transformar los contaminantes del agua o del suelo en especies químicas menos peligrosas. Hay diferentes oxidantes que han sido utilizados para estos tratamientos. El permanganato (MnO_4^-), el peróxido de hidrógeno

(H₂O₂), el hierro (Fe, Fenton), el peroxodisulfato (S₂O₈²⁻), y el ozono (O₃) se encuentran entre ellos. Las tecnologías ISCO basadas en MnO₄⁻, han sido más desarrolladas que con otros oxidantes. Las basadas en Fenton son complejas e involucran numerosos intermediarios y mecanismos. El ozono es un oxidante fuerte, pero tiene aplicaciones más limitadas que las oxidaciones con permanganato y Fenton. El peroxodisulfato es una técnica relativamente nueva que se ha utilizado principalmente en escala piloto [Huling y Pivetz, 2006]. En los últimos años, la destrucción de compuestos orgánicos empleando peroxodisulfato, en aguas y suelos ha ganado interés como tecnología de descontaminación química oxidativa [Liang y col., 2006; Rastogi y col., 2007; Rastogi y col., 2009; Watts y col., 2006]. El radical HO· es la especie más utilizada en este tipo de procesos pero, los sistemas Fe^{III} / S₂O₈⁻² / UV ó S₂O₈⁻² / UV son menos difundidos pero igualmente eficientes [Litter, 2005]. Estas especies pueden ser generadas por medios fotoquímicos o por otras formas de energía y poseen una alta eficiencia en la oxidación de materia orgánica.

El radical sulfato es un oxidante muy fuerte, con un potencial de reducción entre 2,5 y 3,1 V vs. ENH [Neta y col., 1988]. El SO₄⁻ reacciona por abstracción de hidrógeno o por adición, al igual que el radical HO·, pero estas reacciones generalmente ocurren con menores constantes de velocidad que aquellas de HO·. El radical anión sulfato reacciona en forma más selectiva que el HO·.

Este radical posee una banda ancha de absorción con máximo en 450 nm cuyo coeficiente de absorción molar es ε₄₅₀=1600 M⁻¹cm⁻¹ [McElroy y Waygood, 1990]. Su espectro consiste en una superposición de dos bandas, una fuerte con máximo en 450 nm y otra más débil con absorbancia máxima alrededor de 320 nm (ver Capítulo IV).

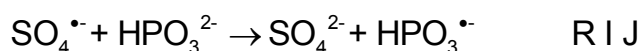
En ausencia de otros sustratos, el decaimiento de este radical se ajusta a un orden mixto debido a un decaimiento de segundo orden por recombinación (R I H1) con constante de velocidad k_{H1} y un decaimiento de primer orden por reacción con agua y peroxodisulfato (R I H2 y R I H3) con constantes k_{H2} y k_{H3} respectivamente.



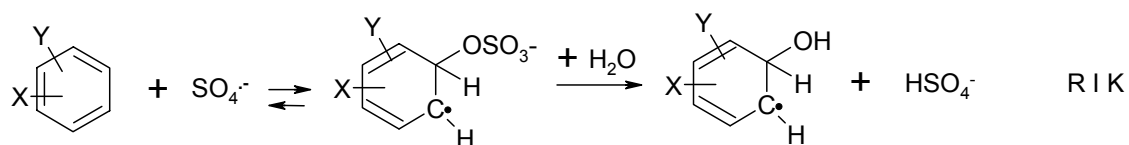
Posee un tiempo de vida más largo que el radical hidroxilo principalmente debido a la preferencia por reacciones de transferencia electrónica [Rastogi y col., 2009]. Es un oxidante fuerte tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas [Clifton y Huie, 1989; Huie y Clifton, 1990]. Puede reaccionar por abstracción de electrones, como en el caso de la reacción R I I.



Además, puede reaccionar abstrayendo hidrógeno de enlaces N-H y P-H, por ejemplo, [Maruthamuthu y Neta, 1978]



Las reacciones de adición de $\text{SO}_4^{\bullet-}$ y posterior eliminación de sulfato, son comunes en compuestos aromáticos y dan lugar a la formación de aductos de HO• [Merga y col., 1994]. Por ejemplo, la reacción R I K:



Las constantes de velocidad de este radical usualmente se determinan siguiendo el decaimiento de su absorbancia a 450 nm; y en algunos casos se monitorea la formación del producto.

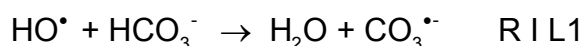
La aplicación de esta tecnología *ISCO* para la destrucción de los insecticidas cloronicotinoides en forma puntual, ya sea en aguas o en suelos, es una alternativa para el problema de contaminación en zonas rurales. Por esta razón, se encaró el estudio de la reacción de los insecticidas IMD, THIA, y ACT con el radical sulfato tal como será detallado en el Capítulo IV.

Sumado a esto, la información existente en la literatura respecto de los mecanismos de reacción del radical sulfato con los anillos piridínicos sustituidos era muy escasa, y

prácticamente inexistente la información sobre la reacción entre el radical sulfato y los grupos isoxasoles. Para poder estudiar el mecanismo de reacción de los insecticidas cloronicotinoides con sulfato, se abordó el estudio cinético y mecanístico de moléculas sencillas contenidas en la estructura química de los insecticidas: las piridinas monosustituidas.

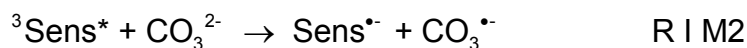
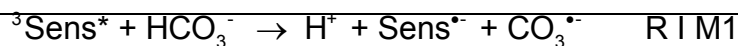
d) Radical anión carbonato

El anión radical carbonato ($\text{CO}_3^{\bullet-}$) es una especie oxidante presente en aguas naturales y sistemas biológicos [Augusto y col., 2002; Bonini y col., 2004; Huang y Mabury, 2000; Mazellier y col., 2002; Mazellier y col., 2007]. Es un oxidante intracelular, ya que se forma eficientemente en condiciones fisiológicas por reacción de peroxinitrito con dióxido de carbono [Canónica y col., 2005]. También, existen evidencias de su formación a partir de la oxidación mediada por la enzima xantina oxidasa de acetaldehído, hipoxantina o xantina en presencia de catalasa y bicarbonato [Bonini y col., 2004]. En ambientes naturales puede generarse a partir de la reacción de aniones carbonato o bicarbonato con radicales OH^{\bullet} [Minero y col., 2008] (R I L1 y L2) y puede alcanzar concentraciones en estado estacionario de 10^{-13} a 10^{-14} en aguas superficiales [Huang y Mabury, 2000b].

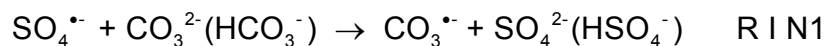


El anión radical carbonato posee un importante potencial de oxidación, 1,78 V vs. ENH y reacciona con especies orgánicas o inorgánicas en aguas naturales, aunque es mucho más selectivo que el radical hidroxilo [Huie y col., 1991]. Por esa razón, posee una concentración de estado estacionario mayor, que dependerá de la velocidad de producción del radical OH^{\bullet} y de la cantidad de materia orgánica disuelta que compita por el OH^{\bullet} .

Asimismo, se describió su formación a partir de sensibilizadores orgánicos, en particular, cetonas aromáticas [Canónica y col., 2005].



Se ha empleado para su generación, además de las anteriores reacciones, la reacción con el radical sulfato o la fotólisis de complejos de cobalto [Busset y col., 2007; Shafirovih y col., 2001], R I N1 y R I N2 respectivamente.



Esta especie posee un espectro de absorción con máximo en la zona visible, 600 nm, y cuyo coeficiente de absorptividad molar a esa longitud de onda es mayor que las otras especies radicalarias tratadas anteriormente ($\epsilon_{600} = 2000 \pm 100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [Zuo y col., 1999]. Estas propiedades hacen posible el estudio de sus reacciones siguiendo su cinética de decaimiento en el máximo de absorción.

El radical carbonato actúa predominantemente como aceptor de electrones, oxidando a compuestos orgánicos; como fenoles, anilinas, compuestos con azufre, histidina, triptófano; y compuestos inorgánicos como metales, yoduro, nitrito, sulfito y tiocianato. [Lymar y col., 2000]. La abstracción de hidrógeno por parte de este radical suele ser lenta, [Crean y col., 2008] pero existen reportes de este tipo de reacción [Busset y col., 2007; Goldstein y col., 2004]. Se sugirió también, que puede involucrar reacciones de transferencia de oxígeno u óxido [Neta y col., 1988]. La adición del radical $\text{CO}_3^{\bullet-}$ a anillos aromáticos ha sido estudiada por Chen y colaboradores, quienes demostraron el carácter electrófilo del $\text{CO}_3^{\bullet-}$. Esta vía de reacción también fue propuesta para el fungicida carbendazim [Mazellier y col., 2002].

Se ha publicado que el radical carbonato se protona para dar radical bicarbonato con propiedades ópticas similares [Chen y col., 1975; Zuo y col., 1999]. Pero los últimos trabajos concluyeron que el HCO_3^- es un ácido fuerte con $\text{pK}_a < 0$ y, por lo tanto, que el $\text{CO}_3^{\bullet-}$ es el único radical relevante en medio acuoso en condiciones de pH de 0 a 14 [Czapski y col., 1999].

Tal como sucedió en el caso de radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$, no se encontró información en la literatura sobre cómo reacciona el $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con las moléculas piridínicas, que contribuya a elucidar un mecanismo de reacción con los insecticidas neonicotinoides. Esta reacción, también tiene interés a nivel biológico, ya que las estructuras piridínicas forman parte de moléculas con actividad orgánica [Abele y col., 2003]. Por lo tanto, se encaró del mismo modo el estudio detallado de la reacción de radical carbonato con piridinas 3-monosustituidas.

Además de los mencionados hasta aquí, pueden generarse otras especies oxidantes a partir de iones inorgánicos como los radicales de cloro, en ambientes naturales con elevado contenido de iones cloruro [Buxton y col., 1999] y los radicales fosfato, a partir de los iones fosfato presentes en aguas con restos de detergentes y fertilizantes.

Resumidamente, entre las especies reactivas que se pueden encontrar en acuíferos naturales, en esta tesis se han estudiado al radical hidroxilo (Capítulo III) y al radical anión carbonato (Capítulo VI); además se ha evaluado la reacción con el oxígeno singlete y con el sensibilizador en estado excitado (Capítulo V). Asimismo, se ha estudiado la reacción con el radical anión sulfato como ejemplo de aplicación de tecnología de oxidación *in situ* (Capítulo IV).

VI-Objetivos

- Estudiar la reactividad química en medio acuoso de los insecticidas cloronicotinoides con radicales inorgánicos y estados excitados, denominados en conjunto especies reactivas de importancia ambiental, para evaluar la capacidad de los métodos abióticos en detoxificar las aguas contaminadas con estos insecticidas.

Para alcanzar este objetivo se plantearon los siguientes objetivos específicos, para cada una de las especies reactivas estudiadas

- Investigar la naturaleza de los intermediarios de corta vida generados durante el ataque de las especies reactivas a los insecticidas a fin de establecer los sitios de mayor reactividad de las moléculas.
- Identificar los productos de degradación primaria de los insecticidas.
- Postular los mecanismos de reacción involucrados.
- Evaluar la toxicidad de los insecticidas y de las mezclas de insecticidas con sus productos de degradación.

Capítulo II

Materiales y métodos utilizados

Capítulo II. Materiales y métodos utilizados

I-Reactivos utilizados y preparación de soluciones

Para la realización de esta tesis se han utilizado los siguientes reactivos, tal como se recibieron y sin purificación previa:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, HClO_4 , NaOH , NaClO_4 , Piridina (99,5%), peróxido de hidrógeno (330 g/L), todos de Merck.

D_2O , alcohol furfúrico ($\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2$), Rosa de Bengala [3,4,5,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodo fluoresceína disodio] ($\text{C}_{20}\text{H}_9\text{O}_5\text{Cl}_4\text{I}_4\text{Na}_2$), 3- cloropiridina (99%), 3- metoxipiridina (97%), 3-metilpiridina (99,5%) 3- cianopiridina (>97%), Imidacloprid, Tiacloprid, y Acetamiprid, todos de Sigma Aldrich.

El tiocianato de potasio usado fue Mallinckrodt.

El agua destilada se hizo pasar por un sistema Millipore (>18 $\text{M}\Omega$ cm, < 20 ppb de carbono orgánico). El valor de pH de las soluciones fue ajustado por adición de HClO_4 o NaOH y medido con un pHmetro Consort modelo C832. Cuando fue necesario, la fuerza iónica fue ajustada por adición de NaClO_4 .

Para la determinación de las masas se utilizó una balanza electrónica marca A&D modelo ER-182A cuya precisión es de $\pm 0,1$ mg.

Las medidas de absorbancia se realizaron con dos espectrofotómetros. Uno de doble haz Cary 3 UV-Visible (Varian, Australia), con ancho de banda entre 0,2 y 4,0 nm de acuerdo con el ancho de rendija seleccionado. Otro de simple haz HP 8452 con arreglo de diodos y ancho de rendija de 2 nm. Las celdas utilizadas fueron de cuarzo de 1,0 cm de camino óptico.

Se trabajó con soluciones de insecticidas de concentraciones $\leq 3 \times 10^{-4}\text{M}$, y de piridinas $\leq 1 \times 10^{-3}\text{M}$, las cuales se prepararon inmediatamente antes de los ensayos. En el caso de los experimentos realizados con piridinas, a menos que se indique lo contrario, la fuerza iónica de las soluciones fue de $1,6 \times 10^{-2}\text{M}$.

Para los ensayos de radical carbonato se utilizó un buffer de K_2CO_3 y KHCO_3 de pH 7,7.

En los experimentos de láser flash fotólisis se trabajó con concentraciones de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ de 5×10^{-2} M. En las experiencias de flash fotólisis convencional se trabajó con 5×10^{-3} M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ en experimentos con radical sulfato y $2,5 \times 10^{-2}$ M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ en los de radical carbonato.

Los fangos activados utilizados para ensayos de toxicidad fueron obtenidos de la plantas de tratamiento municipal de Alcoy (Este de España). La cantidad de sólidos suspendidos fue siempre mantenida en el rango de 1500-2000 mg/L. Las bacterias bioluminiscentes liofilizadas (*Vibrio fischeri*, NRRL B-11177) se obtuvieron de Macherey-Nagel y se mantuvieron a -18°C hasta que fueron utilizadas.

II-Experimentos de irradiación resueltos en el tiempo y generación de especies reactivas

Generalmente en los métodos resueltos en el tiempo la reacción es iniciada por una perturbación (por ejemplo, un pulso de luz) y los cambios en el sistema causados por esta perturbación son estudiados utilizando métodos espectroscópicos [Porter, 1974].

Hacia mediados de la década del 40 el progreso en cinética química estaba limitado por la deficiencia en técnicas para observar y estudiar radicales libres y otros intermediarios de corta vida cuya presencia podía ser deducida de estudios cinéticos y análisis de productos [Thrush, 2003].

En la técnica de flash fotólisis se genera una situación de no equilibrio en el sistema de reacción en un intervalo corto de tiempo. Permite obtener intermediarios inestables en concentraciones mayores de las que pueden ser obtenidas por otros métodos. Es aplicable a gases, líquidos y sólidos. En esta técnica, un reactivo es irradiado con un pulso intenso de luz infrarroja, visible o ultravioleta. La intensidad debe ser suficiente para producir un cambio medible en la composición química, pero de corto tiempo comparado con la reacción que quiere ser estudiada.

La técnica de flash fotólisis fue desarrollada en Cambridge por Norrish y Porter, la primera publicación de este tema del año 1949 trataba flash fotólisis en fase gaseosa y por este desarrollo fueron premiados los autores en el año 1967 con el premio Nobel. Aunque para el estudio de una gran variedad de reacciones químicas que ocurren en el intervalo de tiempo entre microsegundos y segundos, la técnica de flash fotólisis convencional es satisfactoria, el desarrollo del láser, ha transformado el tiempo de

resolución de la técnica y provisto una fuente de irradiación coherente y monocromática.

Las especies transientes que se producen por el pulso de excitación deben ser monitoreadas por espectroscopía flash o por espectrofotometría cinética. La primera, usa un segundo pulso de corta duración (espectroflash), la segunda utiliza un haz continuo que mide el cambio en absorbancia a una longitud de onda determinada luego del pulso de luz y así provee información sobre la cinética de las especies absorbentes a esa longitud de onda.

Existen varios materiales utilizados en la fabricación de láseres. Nd-YAG es un mineral sintético que consta de iones de Nd en una matriz de $Y_3Al_5O_{12}$ que se excita con una lámpara flash de xenón (láseres pulsados) o por una lámpara de arco de tungsteno para producir luz en la región infrarroja del espectro a 1064 nm. Esta frecuencia fundamental puede ser doblada, triplicada y cuadruplicada para emitir luz de 532, 355 y 266 nm. Los armónicos son separados usando un prisma o un divisor [Telle y col., 2007; Tønnesen, 2004].

Muchas técnicas diferentes pueden utilizarse para monitorear el progreso de una reacción fotoquímica: conductividad, espectrometría de masa, quimioluminiscencia son algunas de ellas. Sin embargo, la técnica más comúnmente usada es la espectrofotometría UV/visible.

Durante el desarrollo de esta tesis, los experimentos de flash fotólisis fueron llevados a cabo usando lámparas de flash convencional o de láseres como fuente de irradiación. El aparato convencional utilizado (Figura II A) es de la marca Xenon Corporation, Modelo 720C con óptica y electrónica modificada para aumentar la sensibilidad de detección. El pulso de luz se obtiene por la descarga de capacitores sobre las lámparas (L) que consisten en dos tubos de cuarzo conteniendo xenón a presión moderada y ubicados a ambos lados de la celda de reacción (C). La tensión de descarga de los capacitores se encuentra entre 0,8 y 7,2 kV y se fijó en 5 kV. Las lámparas, Xenon Corp. P/N 890-1128 (*full width at half maximum*, $FWHM \leq 20 \mu s$) poseen una distribución continua entre 200 y 600 nm y un máximo a 450 nm. La lámpara de análisis (LA) es una de alta presión de mercurio Osram HBO-100W.

La celda de reacción de cuarzo con diámetro interno de 1 cm posee una longitud de paso óptico de 10 cm. El haz de análisis es colectado por un monocromador (M) Bausch & Lomb de alta intensidad directamente acoplado a un fotomultiplicador (F)

cuya salida se conectó a un osciloscopio digital (O, HP 54600B). Los datos son almacenados en una PC. Cuando se requiere la emisión de las lámparas del flash es filtrada con una solución altamente concentrada del compuesto estudiado con el fin de evitar la fotólisis del sustrato.

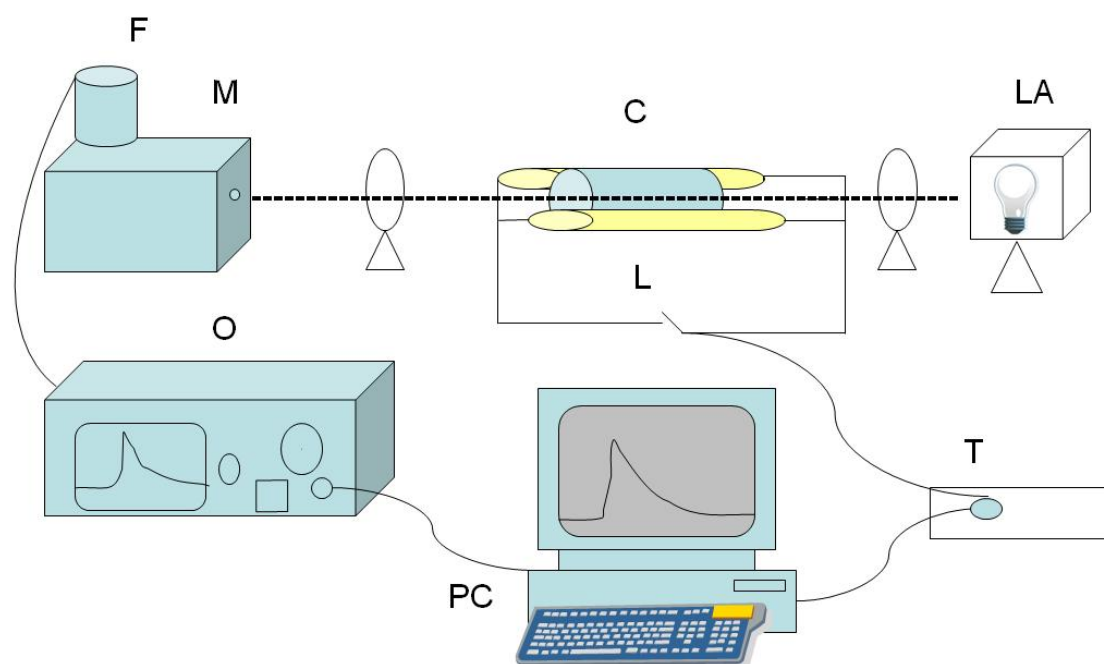


Figura II A. Disposición experimental del equipo de flash fotólisis convencional utilizado; L: lámparas; C: celda; LA: lámpara de análisis; M: monocromador; F: fotomultiplicador; O: osciloscopio; T: disparador.

Los experimentos de láser flash fotólisis fueron realizados con dos equipos. El primero de ellos es un equipo Litron de Nd: YAG del que se utilizó el cuarto armónico (2 ns FWHM y 6 mJ por pulso a 266 nm). El esquema del equipo se muestra en la Figura II B. El haz de análisis de una lámpara (LA) de 150 W de arco de xenón, pasa por la celda de cuarzo (C) de 1 cm de camino óptico se enfoca en un monocromador (M) PTI 1695 y se detecta con un fotomultiplicador (F) 1P28 PTM. Los decaimientos son promediados, almacenados en un osciloscopio (O) Agilent Infiniium 500MHz. En el caso de las experiencias con piridinas, las soluciones usadas, con una absorbancia de

0,3 a 266 nm, y la fotólisis del sustrato fue despreciable bajo estas condiciones experimentales.

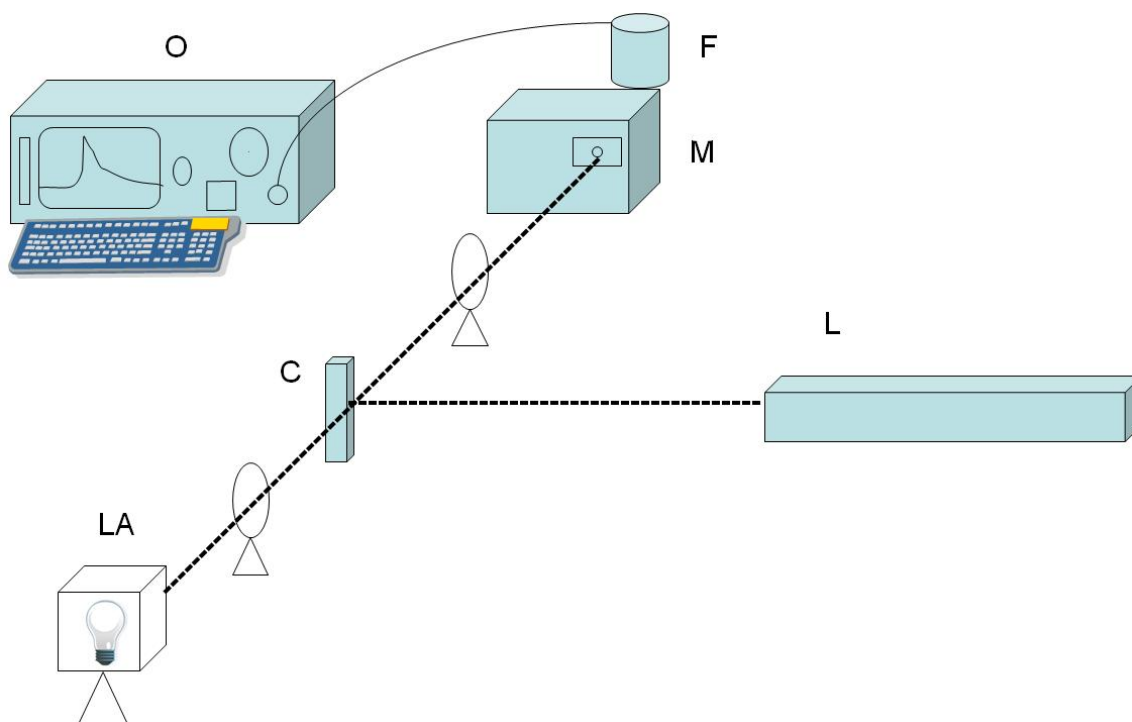


Figura II B. Esquema del equipo de láser flash fotólisis Litron utilizado; L: lámpara; C: celda; LA: lámpara de análisis; M: monocromador; F: fotomultiplicador; O: osciloscopio.

El segundo láser utilizado fue un Continuum, Surelite Nd:YAG. El sistema de descarga de las lámparas de flash utiliza un pulso negativo de 200 μ s de duración FWHM. El gas en las lámparas es xenón a una presión de 1 a 3 atmósferas. Se utilizaron las emisiones del segundo (532 nm) y cuarto armónico (266 nm) de la longitud de onda fundamental según fue necesario. El haz de luz es enfocado en un monocromador PTI 1695 y amplificado en un fotomultiplicador 1P28 PTM. La salida se conecta a un osciloscopio Tektronix 520A, 500MHz. Las señales obtenidas se analizaron en una PC.

Tanto en los experimentos de láser como flash fotólisis convencional donde se midieron cambios de absorbancia, los datos obtenidos se convirtieron en ΔA de acuerdo a la ecuación:

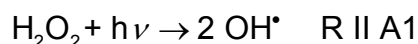
$$\Delta A = \log(I_0/I_t) \quad \text{Ec II A}$$

Donde I_0 es la intensidad de luz de análisis previo al pulso de luz, e I_t es la intensidad de luz transmitida luego del pulso de luz.

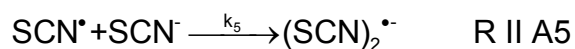
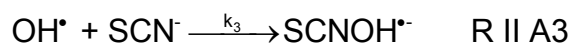
Métodos de generación de especies reactivas

Radical hidroxilo

Este radical fue generado mediante fotólisis UV ($\lambda < 260\text{nm}$) de soluciones conteniendo H_2O_2 en el equipo de flash fotólisis convencional.



Se conoce que el radical HO^{\bullet} reacciona con los halógenos y pseudohalógenos para dar productos de adición que generan radicales aniones tipo $\text{X}_2^{\bullet-}$. En particular, el SCN^- es un pseudohalógeno muy utilizado para calcular la reactividad de diversos sustratos con HO^{\bullet} [Baxendale y col., 1968; Gligorovski y Hermann, 2004; Kozicki y col., 2003; Kujawa y col., 1998]. Las reacciones que tienen lugar en estos sistemas se muestran a continuación (R II A1 a R II A5).



El radical SCN^{\bullet} posee un espectro con λ_{max} a 330 nm [Behar y col., 1972] y el $(\text{SCN})_2^{\bullet-}$ posee un máximo de absorción a 472 nm [Schuler y col., 1980]. Este mecanismo fue estudiado en detalle por varios autores quienes midieron $k_3 = 1,1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [Buxton y col., 1988] y $k_3 = 1,24 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [Chin y Wine, 1992] a 298 K.

En este método, los iones tiocianato son usados como *scavengers* que compiten por el HO^{\bullet} . Conociendo la constante de velocidad de reacción R II A3, la constante de velocidad de segundo orden entre el HO^{\bullet} y el reactivo de interés puede ser calculada a partir de la expresión:

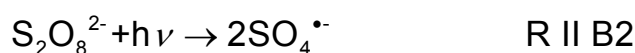
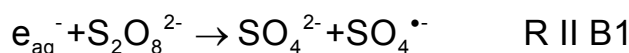
$$\frac{A_0}{A} - 1 = \frac{k_2}{k_3} \times \frac{[\text{Ins}]}{[\text{SCN}^-]} \quad \text{Ec II B}$$

donde A_0 es la absorción máxima del transiente $(\text{SCN})_2^{\bullet-}$ en ausencia de reactivo y A es la absorbancia de ese transiente en presencia de una cierta cantidad de reactivo.

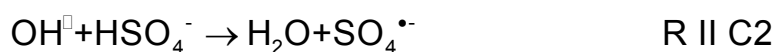
De la pendiente del gráfico de $(A_0/A)-1$ vs. $[\text{Ins}]/[\text{SCN}^-]$ se obtiene la constante de velocidad buscada.

Radical anión sulfato

El radical anión sulfato se produce por la reducción del anión peroxodisulfato con varios agentes reductores. Para estudios cinéticos se utiliza el electrón hidratado en experimentos de radiólisis de pulso (R II B1), y en el caso de esta tesis se ha utilizado la fotólisis UV, como se muestra en la reacción R II B2.



En las tecnologías *ISCO* se genera mediante catálisis con metales como Fe^{2+} , y en solución, en presencia de altas concentraciones de ácido sulfúrico por reacción con HO^\bullet , R II C1 y R II C2 respectivamente. También puede generarse mediante activación térmica [Mora y col., 2009].



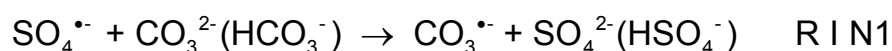
Oxígeno singlete y estados excitados del Rosa de Bengala

El oxígeno singlete puede formarse por vía química o fotoquímica. Un ejemplo de la primera es la reacción de peróxido de hidrógeno en medio alcalino con NaClO , $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, Br_2 , entre otros. Otra fuente química de O_2 ($^1\Delta_g$) es la descomposición térmica de endoperóxidos aromáticos.

La generación fotoquímica requiere la presencia de un fotosensibilizador, S, que transfiera energía al oxígeno en estado fundamental mediante colisiones. En este trabajo de tesis el oxígeno singlete se generó mediante la excitación de un sensibilizador, Rosa de Bengala. Como fuente de excitación se utilizó el segundo armónico de un láser Nd:YAG (Continuum) descrito anteriormente con emisión a 532 nm atenuada.

Radical anión carbonato

Para la generación del $\text{CO}_3^{\bullet-}$ se ha utilizado la fotólisis de soluciones conteniendo $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ y aniones carbonato/bicarbonato. Tal como se mencionó en la Introducción, la fotólisis de soluciones conteniendo peroxodisulfato produce radicales sulfato, que luego reaccionan con los aniones carbonato/bicarbonato para originar los radicales $\text{CO}_3^{\bullet-}$ tal como se muestra en las reacciones R II B2 y R I N1, ya planteadas anteriormente.



Determinación de las constantes de *quenching* total de $^1\text{O}_2$ y triplete del RB

La determinación de la constante de desactivación global de oxígeno singlete (k_t) se realizó mediante detección de la fosforescencia resuelta en el tiempo (TRPD) emitida por esta especie a 1270 nm. Se evaluaron, mediante esta técnica, los tiempos de vida del O_2 ($^1\Delta_g$) en ausencia (τ_Δ^0) y en presencia de *quencher* (en este caso, los insecticidas) (τ_Δ). Debido a que la intensidad de la señal de fosforescencia I es proporcional a la concentración de O_2 ($^1\Delta_g$) y decae exponencialmente con el tiempo siguiendo una cinética de primer orden, $I = I_0 \times e^{-t/\tau_\Delta}$ (donde I_0 es la intensidad de fosforescencia en ausencia de *quencher*, t es el tiempo), esta técnica permite evaluar la constante de velocidad de *quenching* total, $k_t = k_r + k_q$, a partir del gráfico $1/\tau_\Delta$ en función de la concentración de *quencher* [Ins]; Ec I G.

$$\frac{1}{\tau_\Delta} = \frac{1}{\tau_\Delta^0} + k_t [\text{Ins}] \quad \text{Ec I G}$$

La radiación emitida por la solución irradiada conteniendo insecticidas y sensibilizador es detectada perpendicularmente a la dirección del láser, usando un detector de germanio (Judson 116 8Sp, de 5 mm de diámetro) provisto de un sistema interno de filtros apropiados que colecta la irradiación en 1270 ± 50 nm. La señal eléctrica proveniente del detector es digitalizada por el osciloscopio (Tektronix 520A, 500MHz) y almacenada. Las señales se analizan luego en una computadora. Las soluciones fueron preparadas con D₂O y los valores de pD fueron calculados como $pD = pH + 0,4$ [Mártire y col., 1993].

La determinación de la velocidad de *quenching* del triplete del sensibilizador Rosa de Bengala (³RB*) por insecticidas fue determinada con el láser Continuum descrito anteriormente. El triplete, ³RB*, se generó excitando con una longitud de onda de 532 nm. Las señales fueron promediadas con 8 disparos. Las soluciones acuosas de insecticida fueron previamente burbujeadas con argón por 15 minutos para eliminar el oxígeno disuelto. La absorbancia del triplete se monitoreó a 620 nm para diferentes concentraciones de insecticidas.

III-Experimentos de irradiación continua

En los ensayos de irradiación continua el método utilizado para generar el HO• fue también la fotólisis de peróxido de hidrógeno con una lámpara de baja presión de mercurio que emite radiación a 254 nm.

Estos experimentos realizados en España se llevaron a cabo en un reactor cilíndrico de vidrio de un litro de capacidad sumergido en un baño termostatzado y fue burbujeadado con un flujo continuo de oxígeno (Figura II C). El reactor está equipado con una lámpara de inmersión axial Heraeus TNN 15/35 (baja presión de mercurio). El reactor fue cargado con 250 ml de una solución de insecticidas de 80 mg/L; eventualmente se agregó peróxido de hidrógeno 5×10^{-3} M. El pH de las soluciones se mantuvo cercano a la neutralidad. Periódicamente se extrajeron muestras para los análisis.



Figura II C. Reactor con lámpara de baja presión de mercurio utilizado para fotólisis continuas UV y UV/ H₂O₂.

Para la determinación de los productos de reacción de oxígeno singlete con los insecticidas y para la evaluación de la toxicidad de las mezclas, se fotolizaron soluciones utilizando un simulador solar (Figura II D) marca Oriel Instruments, modelo 81160 equipado con una lámpara de 300 W de xenón, cuyo espectro se ajusta al que llega a la superficie de la Tierra, y posee una irradiancia de 67 W / m^2 en la zona de 320 a 400 nm. Los experimentos se realizaron en un vaso cilíndrico abierto (7,5 cm diámetro y 8 cm alto) conteniendo 250 ml de la solución de insecticidas. Se mantuvo agitación magnética durante la reacción y el efecto de la evaporación fue corregido agregando suficiente cantidad de agua. La cubierta del simulador es una armazón de aluminio que contiene la lámpara de arco, el interruptor de la lámpara, el integrador óptico, lentes de colimación, compuerta y fuente de alimentación [Newport, 2009].

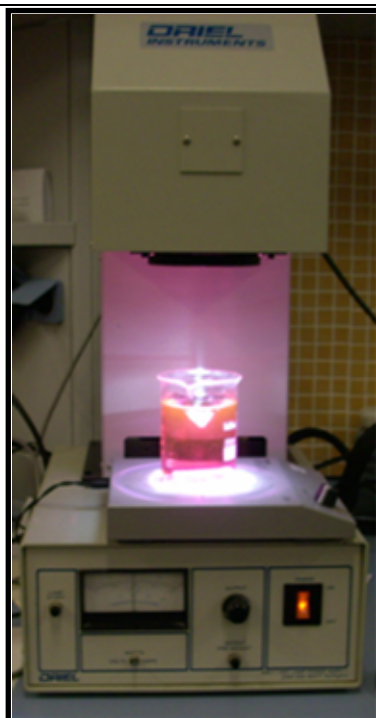


Figura II D. Simulador solar Oriel y vaso conteniendo la solución de insecticidas y Rosa de Bengala.

La evaluación de las constantes de *quenching* reactivo y físico del $O_2(^1\Delta_g)$, k_r y k_q , usualmente se realiza por competencia del *quencher* (Ins) con otro sustrato de referencia (R) para el cual se conoce la constante de *quenching* reactivo k_r^R . A partir de soluciones de R ó Ins de concentraciones conocidas, manteniendo constante la concentración de sensibilizador y la geometría del sistema, se mide el consumo de O_2 disuelto en función del tiempo de irradiación. También puede medirse la formación de producto en función del tiempo de irradiación, o la desaparición del *quencher*. En el caso de esta tesis, se siguió la concentración de los insecticidas y el consumo de oxígeno molecular en función del tiempo de irradiación.

La velocidad de consumo de oxígeno puede escribirse

$$-\frac{d[O_2]}{dt} = k_r \times [Q] \times [O_2(^1\Delta_g)]_{ss} \quad \text{Ec II C}$$

donde Q representa el *quencher* Ins, o la referencia, R. Integrando la ecuación de velocidad y considerando $[O_2(^1\Delta_g)]_{ss}$ constante, se llega a la expresión logarítmica,

$$\ln\left(\frac{[O_2]}{[O_2]_0}\right) = -k_{app}^i \times t \quad \text{Ec II D}$$

Ya que no se conoce $[O_2(^1\Delta_g)]_{ss}$, el valor de k_r^{ins} puede obtenerse comparando las pendientes (k_{app}^i) de las líneas rectas obtenidas al graficar $\ln([O_2]/[O_2]_0)$ vs. t en presencia de insecticida, k_{app}^{ins} , y en presencia del compuesto de referencia, k_{app}^R .

$$\frac{k_{app}^{ins}}{k_{app}^R} = \frac{k_r^{ins} \times [Ins]}{k_r^R \times [R]} \quad \text{Ec II E}$$

Para evaluar las constantes k_r^{ins} y calcular la estequiometría de reacción entre los insecticidas y 1O_2 las soluciones fueron irradiadas en un reactor cilíndrico de vidrio (125 ml) con una lámpara de cuarzo-halógeno de 150W. Se colocó entre la celda y la lámpara un filtro de corte (450 nm) para que sólo el sensibilizador absorbiera la luz. El reactor posee en la parte superior un esmeril que permite el cierre hermético cuando se coloca el soporte del electrodo medidor de oxígeno. Este soporte está provisto de un pequeño buzo magnético colocado aproximadamente 1 cm debajo de la membrana del electrodo. Se monitoreó el consumo de O_2 disuelto con un electrodo galvánico acoplado a un instrumento multiparamétrico Consort C932. La sustancia elegida como referencia fue alcohol furfúrico, cuya constante de velocidad de reacción se conoce ($k_r^R = 1,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ [Miskoski 1993]) y es independiente del pH. Se trabajó con concentraciones de sustrato de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ para conservar la condición de pseudoprimer orden. Como sensibilizador se utilizó Rosa de Bengala, un colorante ampliamente usado por sus propiedades fotofísicas y fotoquímicas [Neckers, 1989]. El mismo se agregó en forma tal que la absorbancia a la longitud de onda de irradiación del experimento, 532 nm, fuera del orden de 0,5-0,6. Las soluciones se prepararon con agua destilada, el pH de las mismas se ajustó con KOH o HClO₄ según corresponda. Además, en experimentos en las mismas condiciones, se siguió la cinética de consumo de insecticidas por HPLC. Debido a que el consumo de O_2 disuelto se debe realizar en un recipiente cerrado, se siguió su cinética de consumo, y a distintos tiempos finales se detuvo la irradiación y se determinó la variación de la concentración de insecticidas por HPLC. El equipo utilizado fue un HP1050 que se describirá a continuación.

IV-Análisis de los productos de reacción

Cromatografía líquida y gaseosa

La concentración de cada insecticida fue determinada por medio de cromatografía líquida con dos equipos diferentes. El primero de ellos es el equipo HP1050 Series con un detector de longitud de onda múltiple e inyector automático utilizado en los laboratorios de Argentina. El mismo se encuentra equipado con una columna C18 Restek modelo Pinnacle II (250 mm X 2,1 mm de diámetro interno y tamaño de partícula 5 μm) y usando una mezcla de acetonitrilo/agua 25/75(v/v) con 0,1% de ácido acético como eluente a flujo constante de 0,5 ml por minuto. El volumen de inyección fue de 20 μl . Y el segundo, un Perkin Elmer XL Autosystem (Figura II E) equipado con un detector de arreglo de diodos y un inyector automático, utilizado en España. Para este último se utilizó una columna de fase reversa LiChrospher[®] 100 RP-18 (5 μm) de la marca Merck, con una mezcla isocrática de acetonitrilo (35%) y H_2SO_4 1×10^{-3} M (65%) como eluente con un flujo de 1 mL/min.

En ambos equipos la detección de los insecticidas se realizó a 270 nm para IMD y 240 nm para THIA y ACT.



Figura II E. Equipo de cromatografía líquida de alta resolución Perkin Elmer.

Los productos de reacción fueron detectados e identificados tanto por cromatografía líquida de alta eficiencia-espectrometría de masa (HPLC-MS) en ensayos realizados

en Argentina; como por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa (GC-MS), equipo ubicado en España.

El equipo HPLC-MS Agilent 1100 posee arreglo de diodos e ionización electrospray (ESI), detección de cuadrupolo simple y está equipado con una columna C18 Restek modelo Pinnacle II (250 mm × 2,1 mm de diámetro interno y tamaño de partícula 5 μm.) y usando una mezcla de acetonitrilo/agua 1/1(v/v) como eluente a flujo constante de 0,5 mL por minuto. Los límites de detección fueron normalmente de 1 ppm. El detector de masa estaba equipado con una interfase electrospray en modo positivo con detección de masas entre 50 y 300 amu. Las muestras para la detección de productos fueron obtenidas irradiando con 10 pulsos de luz soluciones saturadas en aire de concentraciones 5×10^{-2} M H₂O₂ y 1×10^{-3} M de los insecticidas en los ensayos con radical OH[•] y soluciones saturadas de aire conteniendo 5×10^{-3} M S₂O₈²⁻ y 2×10^{-3} M de piridinas o 1×10^{-3} M de insecticidas irradiadas con diez pulsos de luz en los ensayos con radical SO₄^{•-}. Los sustratos orgánicos remanentes en las soluciones fueron extraídos con una mezcla 1:1 CH₂Cl₂: MeOH, la fase orgánica fue separada y evaporada a 1/3 de su volumen y luego diluido con la misma fase móvil. El volumen de inyección fue de 10 μL.

Para los análisis GC-MS, las muestras fueron previamente concentradas por extracción en fase sólida (SPE): 100 mL de las soluciones acuosas se hicieron pasar por un cartucho LiChrolut EN 200 mg (Merck). Los sustratos orgánicos fueron recuperados pasando 3 mL de metanol. Los extractos metanólicos fueron inyectados en un cromatógrafo GCMS-QP2010S (Shimadzu, Figura II F) equipado con una fuente de ionización de impacto de electrones y un analizador cuadrupolar. Las muestras se inyectaron en modo split con una temperatura de inyector de 200 °C. La temperatura se incremento de 60°C a 250°C con una velocidad de 5°C/min. Se utilizó helio (Praxair) como gas portador. La columna utilizada fue Meta X5 Teknokroma de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro y recubrimiento interno (fase estacionaria) de 0,25 μm.



Figura II F. Equipo de cromatografía gaseosa con detector de masas utilizado.

Carbono orgánico total

El carbono orgánico total (TOC) fue determinado con un aparato Shimadzu modelo TOC-V CSH, mostrado en la Figura II G. Posee una válvula de inyección automática, un horno con un catalizador de platino sobre un soporte de alúmina, trampa para halógenos y deshumidificador. El gas portador usado fue oxígeno de alta pureza.



Figura II G. Equipo analizador de carbono orgánico total.

V-Ensayos biológicos

Estos ensayos fueron realizados en las instalaciones del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Universidad Politécnica de Valencia, en Alcoy, España.

Respirometría

La medida de la respirometría se basa en el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos contenidos en los fangos activos.

Los ensayos respirométricos continuos fueron llevados a cabo usando un respirómetro de fangos activados BM3-LAB (Neurtek) equipado con un sensor de oxígeno (WTW-Cell Ox). La velocidad de consumo de oxígeno, (*Oxygen Uptake Rate*, OUR) fue obtenida por la diferencia en la concentración de oxígeno en los fangos cuando son bombeados al sensor a través de dos caminos de diferente longitud. Los experimentos de inhibición de la velocidad de consumo de oxígeno se realizaron de acuerdo con la modificación del test de OECD 209: 500 mL de fango activado se llevan a su tasa máxima de respiración (*maximum Oxygen Uptake Rate*, OUR_{max}) por agregado de 1 g de acetato de sodio sólido. Luego se adiciona 250 mL de la solución acuosa de los insecticidas y se mide el consumo final de oxígeno (OUR_f). La inhibición se calculó como:

$$inh(\%) = \frac{OUR_{max} - OUR_f}{OUR_{max}} \times 100 \quad \text{Ec II F}$$

La dilución de los fangos por la adición de una muestra líquida es responsable de una disminución en la OUR como se determina en los experimentos blanco (inh_B); de forma que la inhibición corregida se calcula con la Ecuación II G.

$$corr.inh(\%) = \frac{inh - inh_B}{100 - inh_B} \times 100 \quad \text{Ec II G}$$

Inhibición de luminiscencia de *Vibrio fischeri*

Esta técnica es mucho más sensible que la respirometría de fangos activos y puede notar variaciones muy pequeñas en la toxicidad, por el contrario, no se pueden extrapolar los resultados obtenidos a lo que puede pasar en un reactor biológico. Su gran ventaja es el uso de una variedad de bacterias cuya respuesta es la misma en cualquier período de tiempo y en cualquier lugar por lo que se pueden comparar los resultados.

Los ensayos de luminiscencia fueron llevados a cabo de acuerdo a la norma estandarizada ISO 11348-3, usando la bacteria liofilizada *V. fischeri*. Las bacterias fueron reconstituidas usando una solución salina provista por Macherey-Nagel. La luminiscencia fue medida con un luminómetro BioFix® Lumi-10 Macherey-Nagel GmbH & Co. KG que trabaja a una longitud de onda entre 380-630 nm (Figura II H). Las cubetas de medida utilizadas fueron de 50 x 12 mm. La toxicidad de 500 µL de solución conteniendo una 80 mg/L de cada insecticida fue determinada luego de 15 minutos de incubación con 500 µL de solución de bacterias reconstituídas a 15 ° C. Se realizó un blanco de la suspensión de bacterias con 2% NaCl, y un control con una solución de 2,2 mg/L de ZnSO₄.7H₂O que produce una inhibición conocida. Las muestras fueron neutralizadas antes del análisis. Cuando fue necesario, el remanente de H₂O₂ en las soluciones se eliminó por adición de enzima catalasa.



Figura II H. Luminómetro utilizado para los ensayos con bacterias *Vibrio fischeri*.

La inhibición de la luminiscencia de las bacterias (INH %) debido a la presencia de un tóxico se determina como:

$$\text{INH}\% = 100 - \left(\frac{IT_{15}}{IT_0 \times \frac{IB_{15}}{IB_0}} \right) \times 100 \quad \text{Ec II H}$$

donde, IB_0 y IT_0 son las luminiscencias del blanco y la muestra a tiempo cero $t = 0$, respectivamente, y IB_{15} y IT_{15} son los valores de luminiscencia del blanco y la muestra medida luego de 15 minutos de exposición, respectivamente [Parvez y col., 2006]. La concentración efectiva de tóxico (mg/L) que causa un 50% de reducción de la luz luego de 15 minutos de exposición se designa EC_{50} .

VI-Métodos de cálculo

Análisis de regresión bilineal

Para cada una de las condiciones experimentales, se obtuvieron varios perfiles de decaimiento a diferentes longitudes de onda de detección, se obtiene así absorbancia como una función de la longitud de onda y el tiempo. Se aplicó a la matriz experimental de absorción, un análisis de regresión bilineal, que tiene en cuenta la linealidad de la absorbancia con el coeficiente de absorción y la concentración, para obtener información del número mínimo de especies y su perfil de concentración relativa y espectro de absorción [San Román y Gonzalez, 1989]. La absorbancia puede escribirse en forma matricial como $[a]=[\varepsilon][c]$, donde $[a]$ es la matriz de absorbancia, $[\varepsilon]$ la de coeficientes de absorción y $[c]$ la de concentración. Esta ecuación puede ser considerada como una función lineal de las concentraciones a una longitud de onda constante o como función lineal de los coeficientes de absorción a tiempo constante. El procedimiento se basa en un cálculo alternativo de las matrices $[\varepsilon]$ y $[c]$ por regresión lineal en forma iterativa hasta convergencia. Se asigna en forma inicial un valor a la matriz $[\varepsilon]$ o $[c]$. Se aplica la condición de mínimos cuadrados para calcular ya sea la matriz resultante $[c]$ o $[\varepsilon]$ y se repite en forma iterativa. Se incluye una matriz de error que permite calcular una matriz de absorbancia corregida $[a^c]$. El número de especies se selecciona como el mínimo número de especies que permite una aproximación razonable entre $[a^c]$ y $[a]$.

Cálculo del espectro de los intermediarios con la teoría funcional de densidad dependiente del tiempo TD-DFT

Los cálculos de los espectros fueron realizados por el Dr. Carlos J. Cobos en el INIFTA.

Se ha demostrado que la generalización de la TD-DFT proporciona resultados notables para las energías de transición de estados electrónicamente excitados de una gran cantidad de moléculas [Wiberg y col., 1998]. En particular, la teoría da una descripción bien balanceada para moléculas conjugadas y sistemas de capa abierta,

como los estados excitados de radicales [Hirata y Head-Gordon 1999]. En este estudio, se empleó la aproximación O3LYP que combina el funcional de intercambio local OPTX [Hoe y col., 2001] con el funcional de correlación LYP [Lee y col., 1988]. Para una comparación más confiable con los experimentos, los efectos del solvente se evaluaron con el modelo del conductor continuo polarizable, CPCM [Barone y Cossi, 1998], usando para el agua una constante dieléctrica de 78,39. Esta es una aproximación conveniente en tanto y en cuanto no haya interacciones específicas entre el soluto y las moléculas del solvente. Todos los cálculos se realizaron con el programa Gaussian 03 [Frisch y col., 2004]. Primero, se optimizaron todos los parámetros estructurales de cada molécula en estado fundamental (sin restricciones de simetría) con el funcional O3LYP/6-31G(d) usando métodos de gradiente analítico. En todos los casos, se obtuvieron frecuencias vibracionales positivas, indicando que las estructuras moleculares derivadas corresponden a especies estables. En un segundo paso se calcularon las energías electrónicas para las transiciones verticales, las longitudes de onda asociadas a los máximos de las bandas, λ_{\max} , y las fuerzas del oscilador. Para las piridinas se utilizó el nivel de teoría CPCM-O3LYP/6-311++G(d,p) y para los insecticidas el CPCM-B3LYP/6-311++G(d,p). El valor del operador $\langle S^2 \rangle$ no fue superior a 0,8 el cual es cercano al valor exacto de 0,75 esperable para estados dobletes. Esto indica que la contaminación de spin debido a estados excitados es muy pequeña para los intermediarios investigados.

Los cálculos DF-DFT no tienen en consideración el ensanchamiento vibracional. Por lo tanto, para compararlos con los resultados experimentales, se obtuvieron espectros simulados representando cada transición electrónica con funciones gaussianas centradas en el máximo λ_{\max} . Finalmente, los espectros completos se obtuvieron sumando todas las transiciones.

Con el objeto de investigar la exactitud de las predicciones en los espectros de los intermediarios formados durante la reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con piridinas 3-sustituidas, primero se calcularon los reactivos, los cuales tienen espectros conocidos. Para hacer coincidir los datos calculados con los experimentales, se requirieron pequeños corrimientos de la λ_{\max} calculada. Además, en ausencia de bases teóricas para poder reproducir la forma de los espectros, se eligieron diferentes valores de ancho, σ , a la altura $1/e$ de la banda gaussiana. De esta manera, para la piridina, 3-cloropiridina, 3-cianopiridina, 3-metoxipiridina y 3-metilpiridina se requirieron corrimientos $\Delta\lambda_{\max}$ de 27, -3, 7, 15 y 6 nm y valores de σ de 1600, 3200, 2400 y 1600 cm^{-1} respectivamente. Los

coeficientes de absorción resultantes son entre un 5%, para 3-metoxipiridina, y un 37%, para 3-metilpiridina, mayores que los experimentales. Teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos, los espectros de los aductos de hidroxipiridinas se estudiaron con el mismo nivel de teoría. Por simplicidad, se empleó un valor de σ de 1600 cm^{-1} para todos los intermediarios piridínicos. Por otra parte, para todos los intermediarios formados entre radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ y los insecticidas se utilizó el valor $\sigma = 2400 \text{ cm}^{-1}$.

VII-Ecuaciones utilizadas para el ajuste de las señales

Los perfiles de absorbancia de los transientes observados en los experimentos de flash fotólisis, se ajustaron con cinéticas de primer orden, segundo orden, u orden mixto a una longitud de onda dada (ver Apéndice para la deducción de las ecuaciones).

Para cinética de primer orden: $A(\lambda, t) = A_0(\lambda, 0) \times \exp(-a \times t) + d(\lambda)$ Ec. II I

Donde A_0 es el cambio de absorbancia observado inmediatamente luego del pulso de luz, a es la constante de primer orden y $d(\lambda)$ corresponde a la absorción de especies de vida larga que se forman después de la desaparición del transiente.

Para cinética de segundo orden: $A(\lambda, t) = \frac{1}{\left(\frac{1}{A_0(\lambda, 0)}\right) + c(\lambda) \times t}$ Ec II J

Donde A_0 tiene el mismo significado, y a partir de $c(\lambda) = 2k/\epsilon l$ puede calcularse la componente de segundo orden ($2k / \epsilon$).

Para una cinética de orden mixto: $A(\lambda, t) = \frac{a}{b(\lambda) \times \exp(a \times t) - c(\lambda)} + d(\lambda)$ Ec II K

donde $b(\lambda) = (a / A_0) + c(\lambda)$.

Parte B

Resultados

Capítulo III

Estudio de la reacción de insecticidas
cloronicotinoides con radical hidroxilo y
fotólisis UV

Capítulo III. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides con radical hidroxilo y fotólisis UV.

I-Fotólisis UV de los insecticidas

Como se mencionó el capítulo introductorio, la fotólisis de los contaminantes puede ser una vía de decaimiento importante para los mismos. Por tal motivo, es necesario tener en cuenta su influencia cuando se trabaja con radiación para generar las especies oxidantes por acción de la luz UV como es el caso de esta tesis.

Se irradiaron soluciones acuosas de los insecticidas $(0,33-1) \times 10^{-3}$ M con luz UV (254 nm). Las mismas muestran la disminución de la concentración de los insecticidas con el tiempo de fotólisis. En la Figura III A se muestra que, para alcanzar el 90 % de disminución se necesitan de 3 a 4 horas de irradiación, mientras que se observó menos del 3% de remoción de TOC en todos los casos. Las constantes de velocidad de consumo de pseudo primer orden, k_{UV} , se obtienen de las pendientes de los gráficos $\log [Ins]$ vs. tiempo, y se muestran en la Tabla III A. Se calcularon los coeficientes de extinción a 254 nm, $\epsilon_{254 \text{ nm}}$, de cada insecticida a partir de espectros de absorción, estos resultados se muestran en la Tabla III A. Con los mismos y considerando que la irradiación de los tres insecticidas se realizó en idénticas condiciones, los rendimientos cuánticos de fotólisis a 254 nm, $\phi_{254 \text{ nm}}$, de THIA y ACT relativos a IMD, pueden ser calculados con la Ecuación III A (ver Apéndice).

$$\frac{\phi_{254}^{THIA,ACT}}{\phi_{254}^{IMD}} \cong \frac{k_{UV}^{THIA,ACT}}{k_{UV}^{IMD}} \quad \text{Ec III A}$$

De esta forma, $\phi_{254 \text{ nm}}^{THIA} = 0,27 \times \phi_{254 \text{ nm}}^{IMD}$ y $\phi_{254 \text{ nm}}^{ACT} = 0,84 \times \phi_{254 \text{ nm}}^{IMD}$. Asumiendo que $\phi_{254 \text{ nm}}^{IMD}$ coincide con el valor publicado para su máximo de absorción del IMD $\phi_{270 \text{ nm}}^{IMD} = (9 \pm 2) \times 10^{-4}$, [Redlich y col., 2007] los valores de $\phi_{254 \text{ nm}}^{THIA}$ y $\phi_{254 \text{ nm}}^{ACT}$ estimados se reportan en la Tabla III A. El valor estimado para $\phi_{254 \text{ nm}}^{THIA}$ está de acuerdo con el valor $3,5 \times 10^{-4}$ informado para la fototransformación de THIA en agua con luz de $\lambda > 290 \text{ nm}$ [Krohn, 2001].

Tabla III A. Valores de coeficientes de extinción a 254 nm, $\epsilon_{254 \text{ nm}}$, constante de degradación de pseudo primer orden debido a la fotólisis a 254 nm, k_{UV} , y el rendimiento cuántico estimado a 254 nm, $\phi_{254 \text{ nm}}$, obtenidos para los diferentes insecticidas.

| <i>Insecticida</i> | $\epsilon_{254 \text{ nm}} / M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ | $k_{UV} (s^{-1})$ | $\phi_{254 \text{ nm}}$ |
|--------------------|--|----------------------|--|
| IMD | 10910 ± 30 | $9,2 \times 10^{-4}$ | $(9 \pm 2) \times 10^{-4}$ [Redlich y col., 2007] |
| THIA | 13210 ± 30 | $2,5 \times 10^{-4}$ | $\sim 2 \times 10^{-4}$ |
| ACT | 15447 ± 40 | $1,5 \times 10^{-4}$ | $\sim 7 \times 10^{-4}$ |

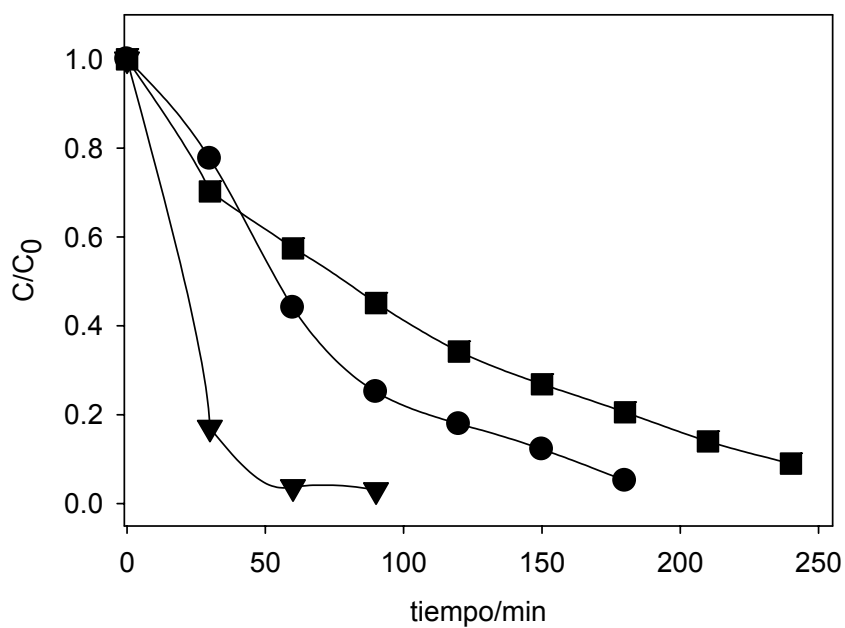


Figura III A. Decrecimiento de la concentración de los insecticidas ($3,3 \times 10^{-4} \text{ M}$) en experimentos de fotólisis con luz de 254 nm (▼) IMD, (■) THIA, (●) ACT.

II-Radical hidroxilo. Experimentos de fotólisis resueltos en el tiempo.

La determinación de las constantes de velocidad para la reacción de los insecticidas IMD, THIA y ACT con los radicales HO· (R II A2) se llevó a cabo mediante el método competitivo con SCN⁻ descrito anteriormente [Kozicki y col., 2003].



Se fotolizaron soluciones conteniendo 5×10^{-2} M de H₂O₂ y 1×10^{-3} M de KSCN en ausencia y con cantidades crecientes de cada insecticida. De forma de tener en cuenta el efecto de filtro interno debido a la absorción de luz por el insecticida, se colocó en la camisa externa de la celda una solución con la mitad de la concentración de insecticida de la solución a fotolizar.

La Figura III B muestra los perfiles de absorbancia del radical anión (SCN)₂⁻ a 480 nm en soluciones en ausencia y presencia de distintas concentraciones de THIA. Del ajuste de estas trazas por una cinética de primer orden se obtienen los valores de A₀ y A. Estos datos se graficaron de acuerdo a la Ecuación II B (Capítulo II) para obtener la constante k₂ como se muestra en la Figura III C para cada uno de los insecticidas.

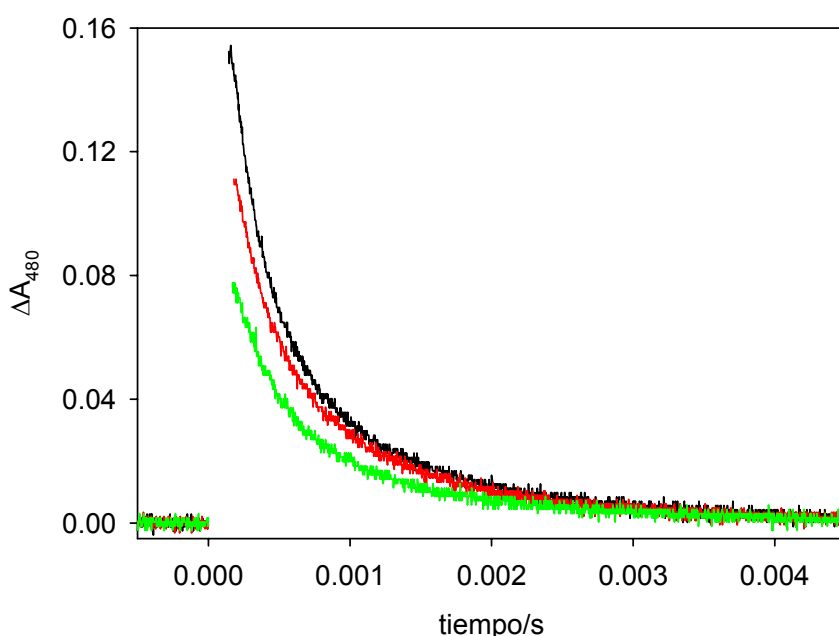


Figura III B. Perfiles de absorbancia para la especie (SCN)₂⁻ a 480 nm en ausencia (traza negra) y presencia de $1,5 \times 10^{-5}$ M (traza roja) y $1,3 \times 10^{-4}$ M (traza verde) de THIA.

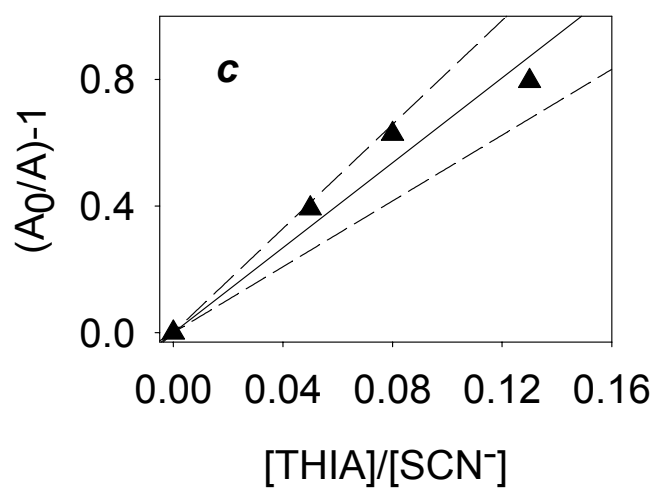
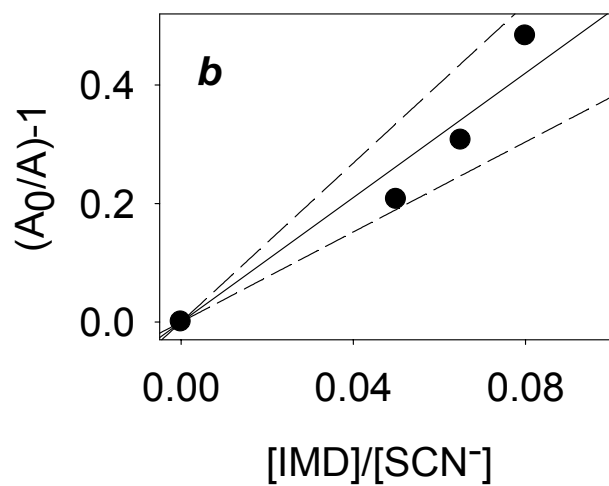
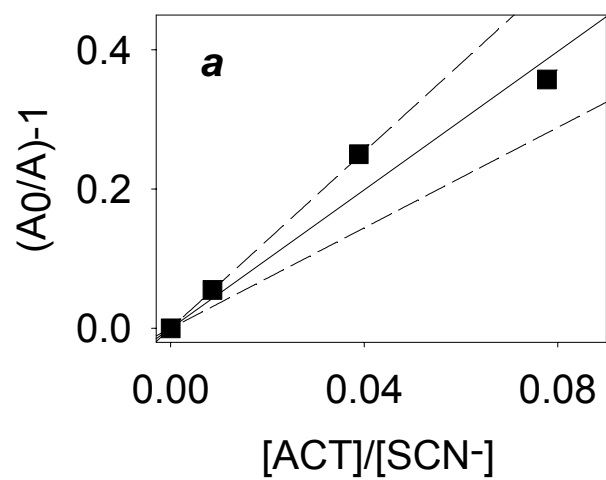


Figura III C. Gráficos A_0/A vs. $[\text{Insecticida}]/[\text{SCN}^-]$ obtenido con soluciones de pH 7 conteniendo 1×10^{-3} M KSCN, 5×10^{-2} M H_2O_2 y cantidades variables de insecticidas para (a) ACT; (b) IMD y (c) THIA.

Tomando el valor $k_3 = 1,1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, [Buxton y col., 1988] los valores de las constantes k_2 obtenidos para los tres insecticidas son difusionales y se muestran en la Tabla III B.

Tabla III B. Valores de constantes de velocidad k_2 para la reacción de insecticidas con radical hidroxilo a $20 \pm 3^\circ\text{C}$.

| <i>Insecticida</i> | $k_2(\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$ |
|--------------------|------------------------------------|
| <i>IMD</i> | $(6 \pm 1) \times 10^{10}$ |
| <i>THIA</i> | $(7,5 \pm 1) \times 10^{10}$ |
| <i>ACT</i> | $(5,5 \pm 1) \times 10^{10}$ |

III-Radical hidroxilo. Experimentos de fotólisis continua en presencia de H_2O_2

Con el fin de investigar los productos de degradación de los insecticidas iniciada por $\text{HO}\cdot$ y la toxicidad de las mezclas de reacción, se realizaron experimentos de irradiación continua en presencia de 5×10^{-3} M H_2O_2 . La Figura III D muestra que el 90 % de los insecticidas fueron eliminados luego de 30-45 minutos de fotólisis con H_2O_2 . Se observa además que, las velocidades de degradación de ACT y THIA se ven claramente acelerada por el peróxido de hidrógeno, aunque menos del 1% de la luz sea absorbida por el mismo en las condiciones experimentales usadas ya que $\epsilon_{254 \text{ nm}}(\text{H}_2\text{O}_2) = 19,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Las velocidades de degradación de THIA y ACT resultan un orden de magnitud mayor en presencia de H_2O_2 que en ausencia de la misma, indicando que hay una pequeña contribución de la fotólisis de los insecticidas en experimentos con H_2O_2 . Las velocidades de degradación de ACT y THIA son del mismo orden bajo las mismas condiciones experimentales de fotólisis con H_2O_2 , como es de esperar por sus constantes de velocidad con los radicales $\text{HO}\cdot$ mostradas en la Tabla III B. El decaimiento más rápido observado en idénticas condiciones para IMD se atribuye a la contribución de la fotólisis del mismo. Es posible estimar esta contribución con los datos obtenidos en la fotólisis en presencia de H_2O_2 y la constante

de velocidad de IMD con HO \cdot . Tomando el valor $k \sim 1,1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para la constante de velocidad de pseudo primer orden para ACT y THIA con HO \cdot , calculada del ajuste de la Figura III D, y $k_2 \sim 6,5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, la concentración de estado estacionario de radicales HO \cdot en estos experimentos fue del orden de $1,2 \times 10^{-14} \text{ M}$. Teniendo en cuenta esta concentración de estado estacionario y los valores de k_2 y k_{UV} para IMD de las Tablas III A y B, se puede predecir que la constante aparente de primer orden para IMD en experimentos de irradiación continua en presencia de H $_2$ O $_2$ es $k_{app} = (1,7 \pm 0,3) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Este valor concuerda con el obtenido del ajuste de la traza correspondiente en la Figura III D, $(1,2 \pm 0,5) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

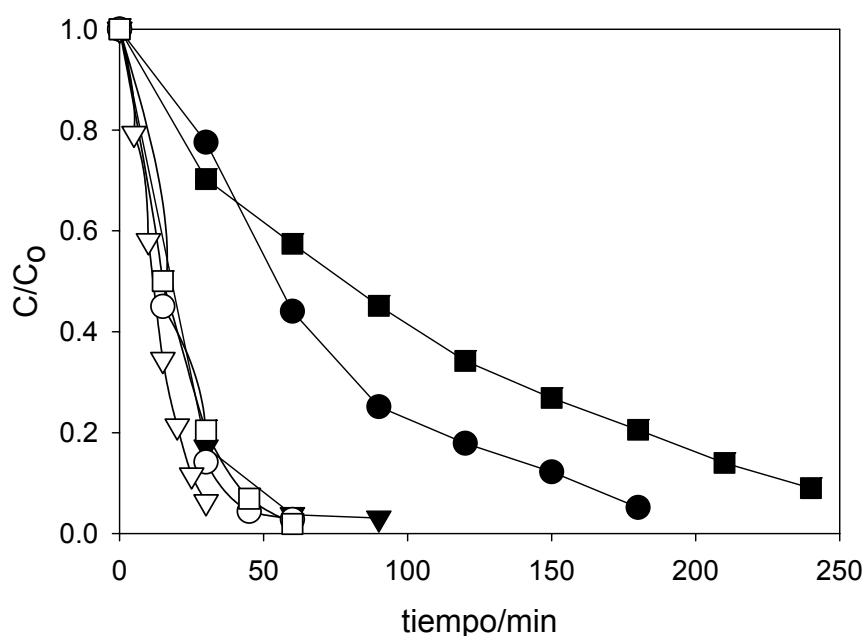


Figura III D. Consumo de los insecticidas en soluciones de concentración inicial $3,3 \times 10^{-4} \text{ M}$ en experimentos de fotólisis con luz de 254 nm, en ausencia y presencia de $5 \times 10^{-3} \text{ M H}_2\text{O}_2$ (símbolos llenos y vacíos, respectivamente) (\blacktriangledown) IMD, (\blacksquare) THIA, (\bullet) ACT.

La concentración estacionaria de HO \cdot obtenida fue aproximadamente un orden de magnitud mayor que la concentración de radicales HO \cdot encontrada en reservorios acuáticos (ver Capítulo I). Aún así, es lo suficientemente baja para asegurar principalmente la formación de productos de oxidación primaria. Esto también se ve

sustentado por el hecho de que las medidas de TOC muestran menos de un 3 % de disminución incluso luego de 3 horas de irradiación. En consecuencia, las moléculas de insecticida se oxidan sólo parcialmente, sin llegar a mineralizarse a CO₂, H₂O y sales inorgánicas.

IV-Identificación de productos estables de reacción

Con el fin de detectar los intermediarios formados inmediatamente luego de la reacción R II A2, se irradiaron con 10 pulsos de luz soluciones acuosas conteniendo 5×10⁻³M H₂O₂ y 1×10⁻³ M de los insecticidas. Para detectar los productos de oxidación subsecuentes, las mismas soluciones fueron irradiadas en forma continua durante 3 horas. La Tabla III C muestra los picos y fragmentos detectados en el espectrómetro de masa para los productos de degradación de los tres insecticidas.

Tabla III C. Productos de degradación formados luego de 10 pulsos de luz en presencia de H₂O₂, 3 h de irradiación continua en presencia de H₂O₂, y 3 h de fotólisis continua con luz de 254 nm de soluciones acuosas de IMD, THIA, y ACT. R_t(min) son los tiempos de retención y m/z las relaciones masa/carga.

| <i>Insecticida</i> | <i>m/z (10 pulsos/H₂O₂)</i> | <i>m/z (3h irrad./ H₂O₂)</i> | <i>m/z (3h fotólisis 254 nm)</i> | <i>Asignación de productos</i> |
|--------------------|---|---|--|---|
| IMD | 272 (271+ H ⁺), R _t = 1,7 | | | hidroxiimidacloprid, compuesto 3 , Esq. III A. |
| | | | 239, 211, 126, 99, R _t = 39,5 | N-(1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N-nitroso-2-imidazolidinimina, compuesto 1 , Esq. III A. |
| | | 225, 211, 197, 182, 169, 140, 126, 113, 99, R _t = 39,2 | | Mezcla de compuestos oxidizados 4a y 4b , Esq. III A. |
| | 212 (211+ H ⁺), R _t = 1,98 | 211, 168, 140, 126, 99, R _t = 37,4 | 211, 126, 99, R _t = 37,4 | N-(1-(6-cloro-3-piridil-metil)imidazolidin-2-ona), compuesto 2 Esq. III A. |
| | | 157, 140, 112, R _t = | 157, 140, 112, R _t | Acido 6-cloronicotínico |

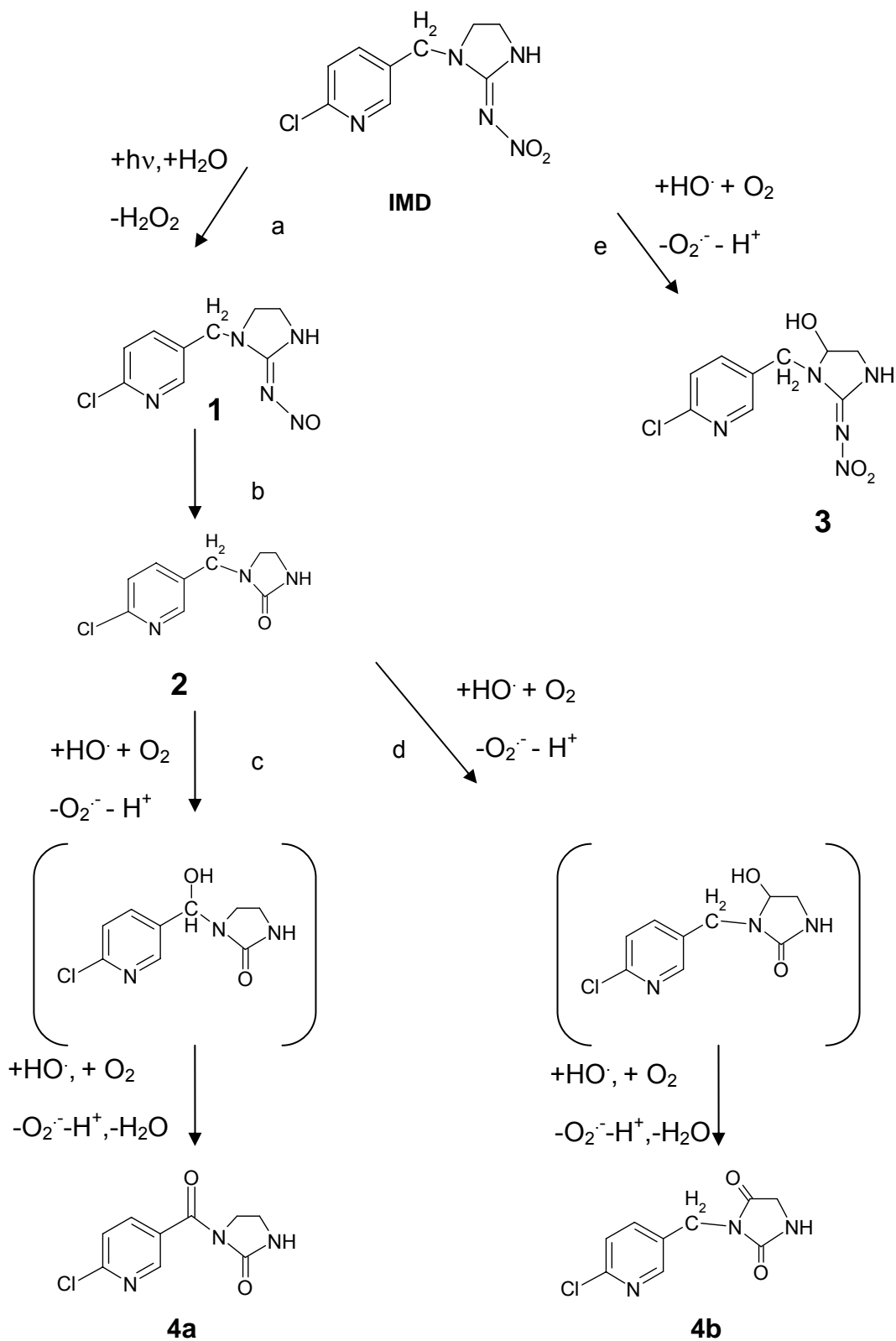
| | | | | |
|-------------|---|--|--------------------------------------|--|
| | | 21,6 | = 21,6 | |
| | | 141, 140, 112, R _t = 15,0 | | Aldehído 6-cloronicotínico. |
| THIA | 285 (284+H ⁺), R _t = 4,3 | | | di-hidroxitiacloprid, compuesto 6 , Esq. III B. |
| | 269 (268+ H ⁺), R _t = 2,7 | | | 3-[(6-cloro-3-piridinil)metil]-4-hidroxi-2-tiazolidinilideno} cianamida compuesto 5 , Esq. III B. |
| | | 242, 214, 182, 167, 126, R _t = 36,8 | | Compuesto 7 , Esq. III B. |
| | | 157, 140, 112, R _t = 21,6 | 157, 140, 112, R _t = 21,6 | Acido 6-cloronicotínico |
| ACT | 209 (208 + H ⁺), R _t = 2,6 | | | N'-ciano-N-metil acetamidina, compuesto 8 , Esq. III C. |
| | | 157, 140, 112, R _t = 21,6 | 157,140,112, R _t = 21,6 | Acido 6-cloronicotínico |
| | | 156, 140, 112, R _t = 15,0 | 156, 140, 112, R _t = 15,0 | Aldehído 6-cloronicotínico. |
| | | 97, 82, 67, R _t = 18,6 | 97, 82, 67, R _t = 18,6 | N-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N'-ciano acetamidina, compuesto 9 , Esq. III C. |

Productos de degradación de Imidacloprid: En base a los intermediarios detectados, en el Esquema III A se propone un mecanismo probable para la formación de los primeros productos de fotólisis y los primeros pasos de oxidación de IMD mediada por HO[•]. Debido a que la irradiación de soluciones acuosas conteniendo H₂O₂ e IMD muestra la contribución de ambas, la fotólisis de IMD y de H₂O₂, ambos procesos contribuyen a la formación de los productos observados y se tratarán conjuntamente.

Dos productos principales de fotólisis, N-1-[(6-cloro-3-piridinil)metil]-N-nitroso-2-imidazolidinimina (compuesto **1**) y N-1-(6-cloro-3-piridil-metil)imidazolidin-2-ona

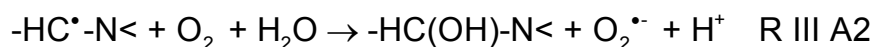
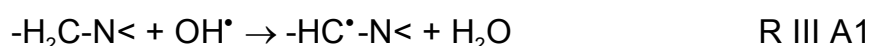
(compuesto **2**), fueron detectados luego de tres horas de fotólisis con luz de 254 nm. Los productos observados concuerdan con los publicados para la fotólisis visible en agua y en solventes orgánicos. [Moza y col., 1998; Schippers y Schwack, 2008; Wamhoff y Schneider, 1999]. De acuerdo a los productos observados y la evidencia publicada en la literatura [Krohn y Hellpointer, 2002], la principal vía de fotólisis bajo estas condiciones experimentales involucra la fotoreducción del grupo nitro al derivado nitroso, compuesto **1** (vía *a* en Esquema III A). Una posterior reorganización de la molécula de nitroso-imidazolidinimina en el compuesto **1** a iminodiazohidróxido y pérdida de nitrógeno molecular (vía *b* en Esquema III A) que genera el derivado imidazolidin-2-ona compuesto **2**, tal como fuera postulado por Schippers [Schippers y Schwack, 2008].

Esquema III A. Vías primarias de oxidación por radical HO· y fotoquímica según los productos observados para IMD. Los compuestos entre corchetes se proponen pero no fueron observados.

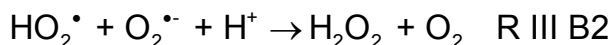
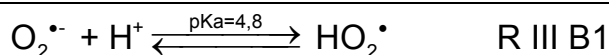


La conversión de IMD al compuesto **2** no puede ser explicada por el ataque del radical HO· al grupo C=N-NO₂, ya que involucraría una adición electrofílica desfavorable al átomo de carbono del grupo imino que presenta una densidad de carga positiva debido a su estructura resonante C⁺-N=N(O)-O⁻. Entonces, considerando que el compuesto **2** es un producto de fotólisis importante de IMD, se sugiere que éste es el principal mecanismo que lleva a su formación (vías *a* y *b*) en soluciones fotolizadas conteniendo H₂O₂. La oxidación subsiguiente mediada por HO· del compuesto **2** en el grupo metileno que une ambos heterociclos genera el producto **4a** (vía *c*). Por otro lado, la oxidación mediada por HO· del compuesto **2** en el grupo metileno del heterociclo (posición 5), da el producto **4b** (vía *d*). Una oxidación posterior de los productos **4a** y **4b** conduce a la formación del aldehído 6-cloronicotínico y el ácido 6-cloronicotínico. La oxidación de IMD al compuesto **3** (vía *e* en Esquema III A) involucra el ataque de HO· al grupo metileno del heterociclo (posición 5).

Debido a que el IMD muestra propiedades básicas débiles [Krohn y Hellpointer, 2002], el mecanismo de oxidación mediada por HO· en los grupos α al nitrógeno amínico en soluciones acuosas oxigenadas, podría ser similar al propuesto por von Sonntag y col y Das y col. para aminas terciarias no protonadas [Das y col., 1987; von Sonntag y Schuchmann, 1997]. El mecanismo involucra una abstracción de hidrógeno inicial por radicales HO· para dar H₂O y un radical α-aminoalquílico (R III A1). Estos radicales se conocen por sus propiedades reductoras [Hiller y Asmus, 1983] y pueden reducir el oxígeno molecular a radical anión superóxido, O₂^{·-}, [von Sonntag y Schuchmann, 1997] oxidándose a hidroximetilamina luego de la adición de agua (R III A2).



Este mecanismo es el que da origen al compuesto **3**. Los radicales superóxido formados se recombinan para dar oxígeno molecular y H₂O₂, reacciones R III B1 y R III B2 [Gonzalez y col., 2004]. Un mecanismo similar, que involucra a los radicales reductores α-hidroxi-alquílicos [Gonzalez y col., 2007], y que conduce a la generación del correspondiente oxo-derivado, es decir, compuestos **4a** y **4b**, puede plantearse para la oxidación mediada por HO· de la molécula hidroximetilamina (-CH(OH)N<).



La conversión de IMD al compuesto **2** y posterior oxidación a ácido 6-cloronicotínico ha sido propuesta en estudios de degradación del insecticida por procesos foto-Fenton y basados en fotocatalisis solar con TiO₂ [Malato y col., 2001]. Todos los productos de oxidación detectados han sido identificados como metabolitos en la degradación biológica de IMD [Dai y col., 2006; Dai y col., 2007; Guez y col., 2003; Krohn y Hellpointer, 2002; Schulz-Jander y col., 2002].

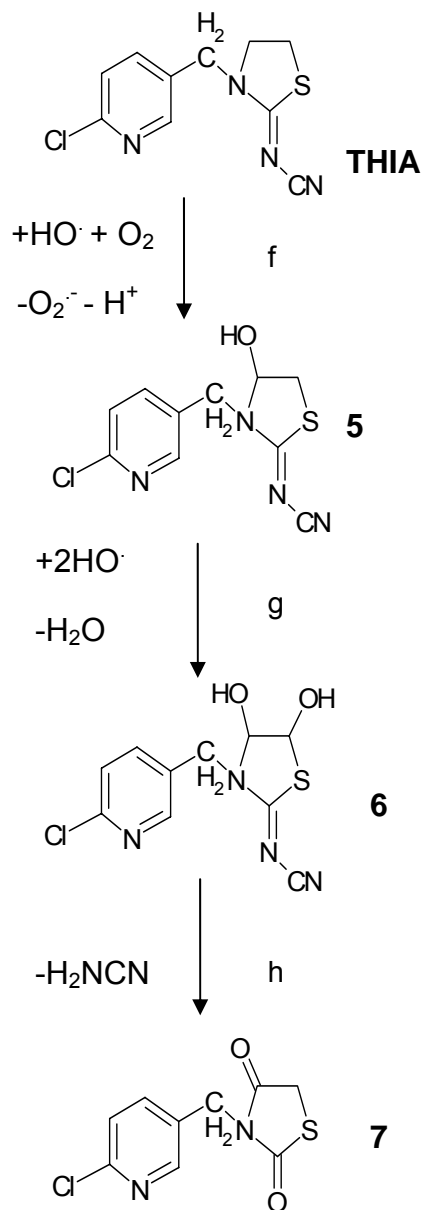
Puede concluirse que, de acuerdo a los productos de fotólisis y oxidación observados, la molécula de piridina es la parte menos reactiva del IMD, ya que permanece intacta en condiciones de oxidación media y bajos niveles de fotólisis.

Productos de oxidación de Tiacloprid: Los productos primarios detectados son los derivados mono y di hidroxilados de THIA. El producto observado con peso molecular 268 se asigna al compuesto **5** (Esquema III B), ya conocido como un metabolito oxidado de THIA [Klein, 2001]. La hidroxilación en el grupo metileno unido al anillo de piridina se desprecia por la naturaleza de los productos de oxidación siguientes. Tal como se discutió para IMD, el THIA también presenta baja basicidad [Jeschke y col., 2001]. Por lo tanto, el mecanismo propuesto conlleva la abstracción de hidrógeno de la posición 5 del anillo tiazolidínico para generar el radical α -aminoalquílico. Este radical reacciona con oxígeno molecular para dar el derivado monohidroxilado **6**, vía *f* en el Esquema III B, como se discutió anteriormente y se muestra en las reacciones R III A1 y A2. Una abstracción de hidrógeno posterior de la posición 4 en el compuesto **5**, seguido de una adición de HO \cdot genera el derivado dihidroxilado **6**, vía de reacción *g*. La deshidratación de **6** y ya sea, la hidrólisis del grupo imino [Smith y March, 2007] o posterior oxidación del grupo cianoimino por HO \cdot (de la que no se ha encontrado evidencia en la literatura), pueden conducir a la formación del compuesto **7**, vía de reacción *h*. El pico más importante, que aparece luego de las 3 h de reacción muestra tiempos de retención y fragmentos de masa idénticos a los encontrados para el ácido 6-cloronicotínico. Este compuesto puede formarse por la oxidación del compuesto **7**.

Luego de 3 horas de fotólisis con luz de 254 nm se observa por GC- MS un consumo parcial de THIA y la formación de ácido 6-cloronicotínico. Esta información es

insuficiente para elucidar un mecanismo de fotólisis. Se ha publicado que los productos de fotólisis de THIA se disipan rápidamente bajo luz UV [Gupta y col., 2008].

Esquema III B. Vías primarias de oxidación observadas para tiacloprid.



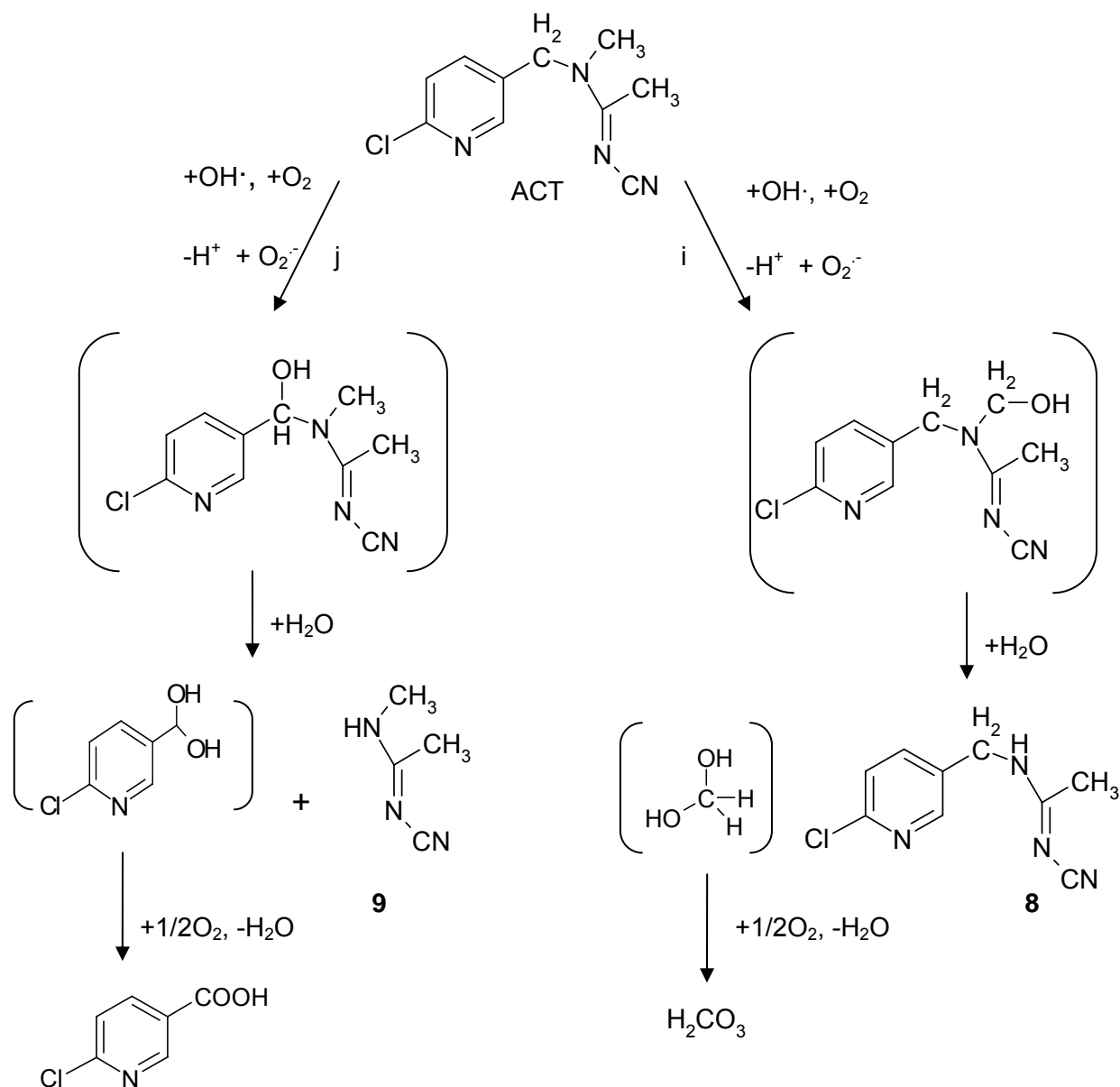
Productos de oxidación de Acetamiprid: Basados en los productos detectados y considerando la baja basicidad que presenta el ACT [EPA, 2009], se proponen dos vías de oxidación *i* y *j*, en el Esquema III C que conducen a N-1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N'-ciano acetamidina, compuesto **8**; y a ácido 6-cloronicotínico y N'-ciano-

N-metil acetamidina, compuesto **9**, respectivamente. Ambas vías involucran una abstracción de hidrógeno inicial por radical HO· del carbono α al nitrógeno de la amina de ACT (del grupo metilo en la vía *i*, y del grupo metileno puente en la vía *j*) para dar los radicales α -aminoalquilo, los cuales, luego de oxidarse con oxígeno molecular producen las correspondientes hidroximetilaminas, como se ha visto anteriormente. Una hidrólisis posterior de estos compuestos conduce a la formación de aminas secundarias (compuestos **8** y **9**) y a los aldehídos hidratados (formaldehído y cloronicotinaldehído, no detectados) [Das y col., 1987]. En condiciones oxidantes, los hidratos de aldehído se oxidan fácilmente a los ácidos correspondientes (ácido carbónico y ácido cloronicotínico). En la literatura se encontró que la demetilación de ACT por la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* también genera N'-ciano-N-metilacetamidina, compuesto **8** [Chen y col., 2008]. Una fuerte oxidación del compuesto **8** puede conducir a la formación de 6-cloronicotinamida.

Luego de 3 horas de fotólisis de ACT con luz de 254 nm se observa la ruptura del insecticida para formar 6-cloronicotinamida y cantidades menores de ácido 6-cloronicotínico. Tal como se observó para THIA, los productos primarios de fotólisis parecen disiparse rápidamente bajo irradiación con luz UV. La información obtenida es insuficiente para dilucidar el mecanismo de fotólisis.

Como se observó para IMD y THIA, el ataque del radical HO· al ACT tiene lugar principalmente en el grupo metilo y metileno puente de la molécula, el radical no ataca el anillo de piridina.

Esquema III C. Principales vías de oxidación observadas para Acetamiprid. Los compuestos en corchetes se proponen pero no han sido detectados.



V-Toxicidad de los insecticidas y de las aguas contaminadas con los insecticidas y sus productos de degradación con HO.

Los valores de EC_{50} basados en *V. fischeri* fueron calculados de los valores de INH% obtenidos para las diferentes concentraciones de los insecticidas como se muestra en la Figura III E. La Tabla III D presenta los valores de EC_{50} determinados.

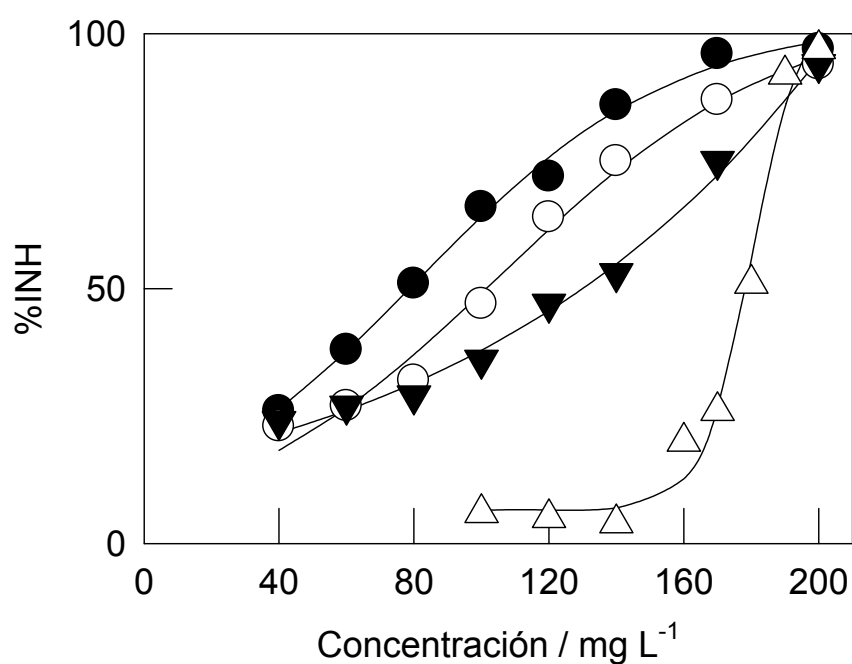


Figura III E. Inhibición de la luminiscencia de *V. fischeri* vs. concentración de insecticida, (●) THIA, (○) IMD, (▼) ACT, y (△) ácido 6-cloronicotínico.

Tabla III D Valores de EC₅₀ luego de 15 minutos de exposición frente a *V. fischeri* para los tres insecticidas, y valores de INH% para soluciones 80 mg/L de insecticidas antes y después de la fotólisis en presencia y ausencia de H₂O₂ hasta la desaparición de insecticida. CI_{95%} es el intervalo de confianza.

| <i>Insecticida</i> | <i>Solución de Insecticida (INH%)</i> | <i>Fotólisis 254 nm (INH%)</i> | <i>Fotólisis 254 nm en presencia de H₂O₂ (INH%)</i> | <i>EC₅₀(CI_{95%}) en mg/L</i> |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---|--|
| IMD | 32 ± 7 | 30 ± 15 | 60 ± 12 | 101 (96 – 110) |
| THIA | 51 ± 11 | 87 ± 15 | ---- | 79 (68 – 90) |
| ACT | 28 ± 6 | 21 ± 4 | 32 ± 7 | 129(120 – 145) |
| ácido 6-cloronicotínico | ----- | ----- | | 178 (170 -185) |

La INH% de soluciones de 80 mg/L de cada insecticida antes y después de la fotólisis (254 nm) en presencia y ausencia de H₂O₂, hasta una degradación > 99% de los insecticidas, fueron evaluadas y se muestran en la Tabla III D.

La tendencia creciente en la toxicidad (decrecimiento de EC₅₀) basado en *V. fischeri* es ACT < IMD < THIA. Si bien la toxicidad de una sustancia puede variar dependiendo del organismo blanco, la tendencia hallada concuerda con la publicada para el efecto inhibitorio de los insecticidas sobre la enzima citosólica de hígado de conejo DT-diaforasa [Schulz-Jander y col., 2002] y también con los descriptos para *Caenorhabditis elegans* y *Eisenia fetida* [Gomez-Eyles y col., 2009].

La evolución de los valores de INH% observados luego de la fotólisis y el ataque de HO· a los insecticidas indican que la toxicidad de los productos primarios es similar a la de los insecticidas correspondientes, ya que no se observa una detoxificación importante en ningún caso. Luego de la fotólisis la concentración de los insecticidas es despreciable (menor a 5 mg/L), pero las medidas de TOC no decrecen significativamente del valor inicial. Por lo tanto, la toxicidad observada puede adjudicarse a la presencia de intermediarios tóxicos en la solución.

Se publicó que los metabolitos primarios de IMD presentan efectos tóxicos para microorganismos y animales [Suchail y col., 2001] por ejemplo, el metabolito oleofínico (Figura III F) encontrado en plantas tratadas con IMD, que se forma luego de la deshidratación del compuesto **3** en el Esquema III A, es más tóxico a los insectos que el propio IMD.

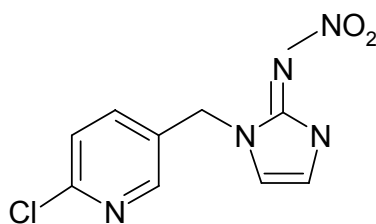


Figura III F. Metabolito oleofínico del IMD.

Ensayos de toxicidad oral aguda y crónica de 5-hidroxiimidacloprid y el metabolito oleofínico en *Apis mellifera* muestran una toxicidad cercana al IMD [Suchail y col., 2001]. Se ha publicado además que en ensayos con *Periplaneta americana* L., los metabolitos hidroxi y dihidroxiimidacloprid poseen mayor actividad insecticida que IMD [Kagabu y col., 2004]. Podemos afirmar que, dado que los productos observados para bajos niveles de oxidación de los insecticidas son muy similares estructuralmente con

los insecticidas de partida, deben ser los responsables del mantenimiento de la toxicidad luego de la oxidación y fotólisis de IMD. En general, los estudios de toxicidad publicados del ácido 6-cloronicotínico muestran una baja toxicidad, lo que coincide con los altos valores de EC_{50} hallados con *V. fischeri* [Suchail y col., 2001].

Se ha informado que, tanto la demetilación y la degradación de ACT, contribuyen a la débil bioeficiencia de ACT en aplicaciones en suelos [Chen y col., 2008]. Estos resultados muestran la formación del producto demetilado luego de la reacción con $HO\cdot$ para dar el compuesto **8** (Esquema III C). Soluciones conteniendo el compuesto **8** y productos de oxidación superiores muestran menor toxicidad que ACT, lo que está de acuerdo con lo observado por Chen y colaboradores [Chen y col., 2008].

Soluciones de los tres insecticidas fueron sometidas a ensayos respirométricos [García-Ripoll y col., 2007]. La inhibición de la respiración de los fangos activados observada estuvo alrededor de un 10% para los tres insecticidas. La toxicidad observada es del orden del error experimental y, por lo tanto, no es útil para seguir los cambios de toxicidad por oxidación de los insecticidas. La baja sensibilidad de los fangos activados puede atribuirse a una alta resistencia a los contaminantes [Gutiérrez y col., 2002]. Sin embargo, los bajos valores determinados en este caso contrastan con las altas inhibiciones encontradas con pesticidas fosforados. Estas diferencias podrían ser atribuidas a la elevada selectividad de los neonicotinoides frente a insectos. Sin embargo, la combinación de los resultados de los ensayos de fangos activados y *V. fischeri* indican que, si bien ni los insecticidas ni sus productos de degradación primarios interfieren en la actividad de una planta de tratamiento de aguas residuales, si resultan potencialmente peligrosos para la vida acuática.

VII-Conclusiones parciales

El radical hidroxilo reacciona con IMD, THIA y ACT, reacción R II A2, con velocidades controladas difusionalmente. De acuerdo con las estructuras de los productos primarios de oxidación detectados, los sitios preferidos de ataque del HO \cdot en los tres insecticidas son los átomos de carbonos vecinos al nitrógeno amínico (posición 5 en IMD y THIA, grupo CH $_3$ unido al N en ACT, y metileno puente, ver Figura III G).

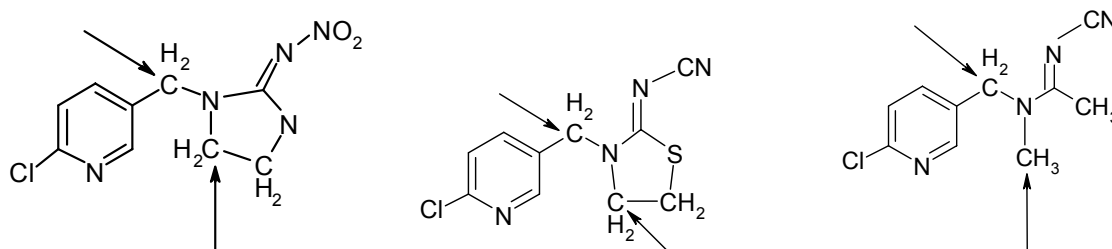


Figura III G. Estructuras de los insecticidas (IMD, THIA Y ACT, de izquierda a derecha) con los sitios preferidos de ataque del HO \cdot marcados con flechas.

El mecanismo de abstracción inicial de hidrógeno por radical HO \cdot al grupo metilo o metileno vecino al N de la amina, es apoyado por los valores publicados de las constantes de velocidad de estas reacciones, [Hiller y Asmus, 1983; Ross y col., 1998] que son del orden de los encontradas para la reacción de HO \cdot con los insecticidas. No tiene lugar el ataque del radical HO \cdot al anillo de piridina. De hecho, las constantes de velocidad de adición de HO \cdot a piridinas sustituidas son menores, del orden de 10 9 para piridina y 3-metilpiridina [Solar y col., 1993] indicando que la oxidación del anillo de piridina es cinéticamente menos favorable. Para mayores grados de oxidación todos los insecticidas generan ácido 6-cloronicotínico como intermediario, lo que concuerda con estas últimas conclusiones.

Capítulo IV

Estudio de la reacción de insecticidas
cloronicotinoides y piridinas sustituidas
con radical sulfato

Capítulo IV. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides y piridinas sustituidas con radical sulfato.

I-Radical anión sulfato

Se fotolizaron soluciones acuosas conteniendo $S_2O_8^{2-}$ 0,02 M saturadas en aire de pH 2,5 y 9. Del análisis de las trazas adquiridas en el rango de 320 a 530 nm, se obtuvo el espectro de una especie transiente que coincide con el publicado para el radical sulfato, tal como se muestra en la Figura IV A.

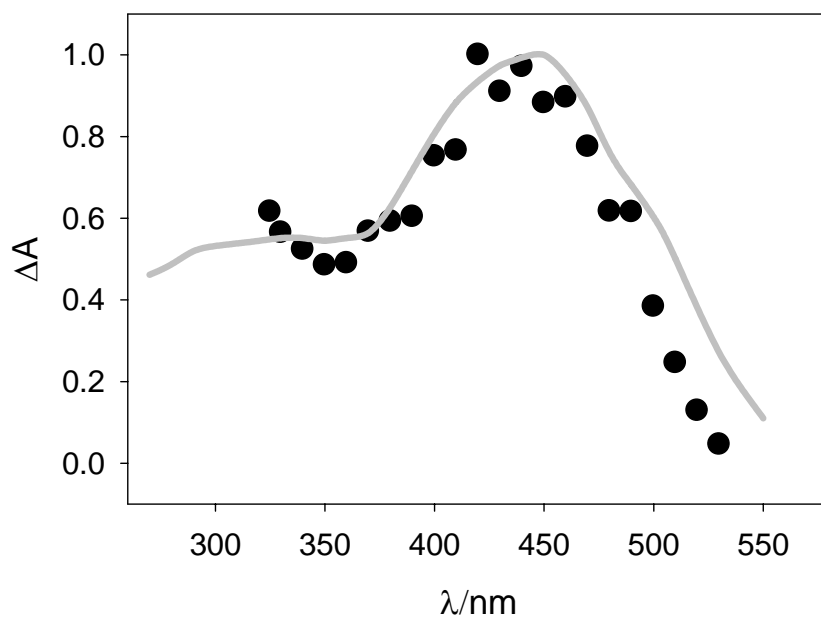


Figura IV A. Espectro del radical sulfato obtenido 97 μ segundos después de irradiar con un pulso de luz, soluciones 0,02M de peroxodisulfato. La línea sólida representa el espectro de bibliografía para el radical sulfato [David Gara y col., 2008; McElroy y Waygood, 1990]

A-Experimentos con piridinas monosustituidas

II- Constantes de velocidad de reacción de piridinas e iones piridinio

Se estudio la cinética y el mecanismo de la reacción de radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ con piridina (Py), 3-cloropiridina (3-ClPy), 3-cianopiridina (3-CNPy), 3-metoxipiridina (3-MeOPy) y 3-metilpiridina (3-MePy). En general, se llamaran a estas piridinas, de aquí en más, XPy, donde X representa el sustituyente.

La fotólisis de soluciones de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ en presencia de bajas concentraciones ($< 5 \times 10^{-5}$ M) de las piridinas sustituidas muestran trazas de absorción a longitud de onda de detección $\lambda > 350$ nm, cuyo espectro inmediatamente luego del pulso de luz también concuerda con el del radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ pero con velocidades de decaimiento mayores (ver Recuadro **a** de Figura IV B). La absorbancia experimental A, puede ajustarse a una cinética de primer orden, Ecuación II I, donde a representa la constante de velocidad de primer orden (ver Capítulo II)

$$A(\lambda, t) = A_0(\lambda, 0) \times \exp(-a \times t) + d(\lambda) \quad \text{Ec II I}$$

La constante obtenida a partir de este ajuste a, representa la constante de velocidad aparente, k_{app} . Esta constante es independiente de la longitud de onda λ y aumenta linealmente con la concentración analítica de sustrato, $[\text{XPy}]_0$, tal como se muestra en las Figuras IV Ba y IV Bb para experimentos con soluciones de pH 2,5 y 9, respectivamente. Una pequeña absorbancia remanente [$d(\lambda)$ en Ec. II I] se asocia a especies con tiempo de vida mayor, principalmente los radicales orgánicos formados a partir de la reacción del $\text{SO}_4^{\bullet-}$ con las piridinas, reacción R IV A.



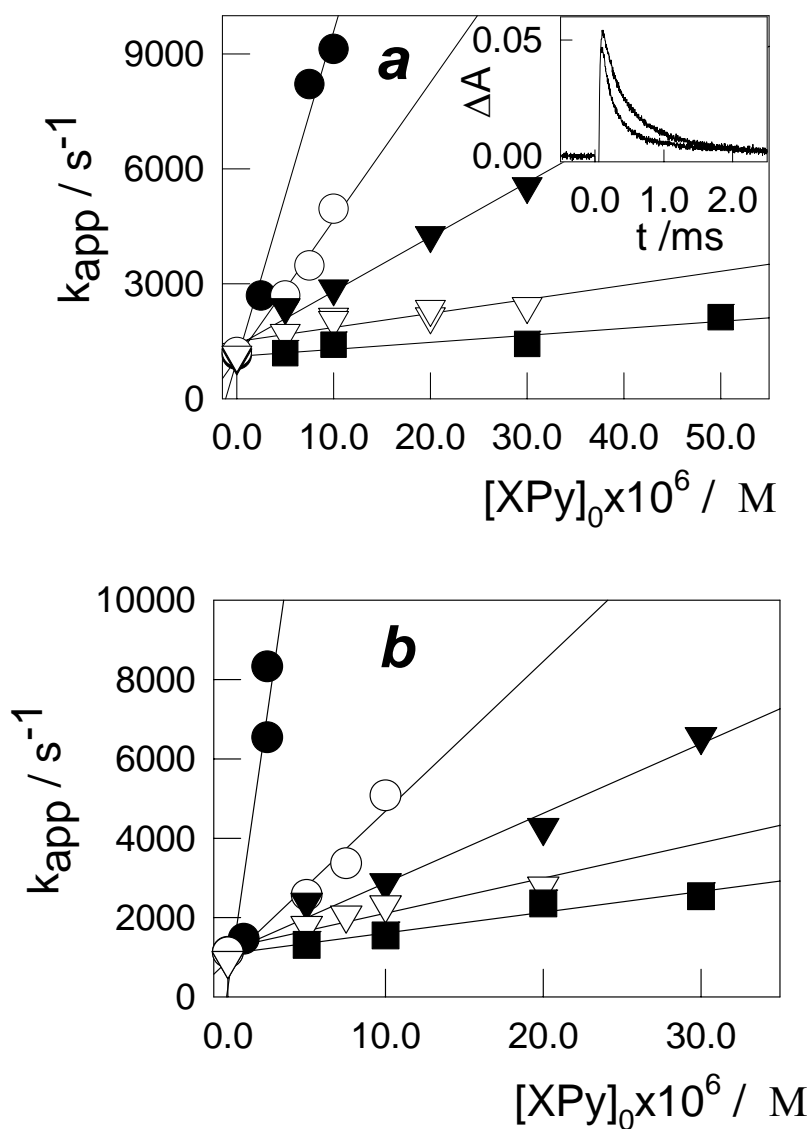


Figura IV B. Constante de velocidad aparente, k_{app} , vs. $[XPy]_0$ para 3-metoxipiridina (●), 3-metilpiridina (○), piridina (▼), 3-cloropiridina (▽), y 3-cianopiridina (■). Soluciones de (a) pH 2,5 y (b) pH 9. Recuadro a: Cambio de absorbancia obtenido a 450 nm para experimentos con soluciones acuosas de 5×10^{-3} M $S_2O_8^{2-}$ de pH 2,5 en ausencia y en presencia de 5×10^{-6} M 3-metoxipiridina (trazas superior e inferior respectivamente).

Los pK_a de las piridinas sustituidas que se muestran en la Tabla IV A dependen

fuertemente del sustituyente [Albert y Serjeant, 1971; Williams, 2005]. Los experimentos con soluciones de pH 9 dan información de la reacción de radicales sulfato con las piridinas. Sin embargo, los experimentos realizados a pH 2,5 brindan información de la reacción de los radicales sulfato con los iones piridinio con X = -OCH₃, -CH₃, -H y sólo parcialmente para -Cl (pK_a = 2,84) y -CN (pK_a = 3,71). Se evitaron soluciones de menor pH ya que por debajo de pH 1 se forma el ácido conjugado del radical sulfato (HSO₄[•]) cuyo espectro es idéntico al del radical sulfato. Las pendientes de las líneas rectas que se muestran en las Figuras IV Ba y Bb representan la constante de velocidad absoluta para las reacciones de radicales SO₄^{•-} con los iones piridinio y las piridinas sustituidas, k_{XPyH^+} y k_{XPy} , respectivamente, excepto para los sustituyentes cloro y ciano. Para los iones 3-cloro y 3-ciano piridinio los valores para las constantes de velocidad absoluta se obtuvieron a partir de la Ecuación IV A (ver Apéndice para su deducción) asumiendo un equilibrio ácido base rápido y tomando las pendientes *s* de las líneas en la Figura IV Ba. La Tabla IV A presenta todas las constantes de velocidad absoluta calculadas.

$$k_{XPyH^+} = (s - k_{XPy}) \times \frac{K_a}{[H^+]} + s \quad \text{Ec IV A}$$

Tabla IV A. Valores de pKa, parámetros de Hammett y constantes de velocidad a pH 2,5 y 9 para las diferentes piridinas sustituidas.

| Sustituyente | pK_a | σ_p⁺ | k_{XPy} (M⁻¹s⁻¹) I=1,6x10⁻²M | k_{XPyH⁺} (M⁻¹s⁻¹) I=5x10⁻²M |
|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|--|---|
| CH₃O- | 4,88 | -0,780 | (2,5±1)x10 ⁹ | (8,6±0,8)x10 ⁸ |
| CH₃- | 5,68 | -0,310 | (4,0±1)x10 ⁸ | (3,6±0,5)x10 ⁸ |
| H- | 5,17 | 0,000 | (1,8±0,2)x10 ⁸ | (1,4±0,1)x10 ⁸ |
| Cl- | 2,84 | 0,110 | (1,0±0,2)x10 ⁸ | (3,3±0,3)x10 ⁷ |
| CN- | 3,71 | 0,700 | (5,0±0,1)x10 ⁷ | (1,4±0,2)x10 ⁷ |

Se investigó la influencia de la fuerza iónica en la constante de velocidad de la reacción R IV A para piridina, k_{HPy} , e ion piridinio, k_{HPyH^+} . La constante de velocidad k_{HPy} no depende, dentro del error experimental de la fuerza iónica para $I < 0,4$ M, tal como se muestra en la Tabla IV B. Por el contrario, k_{HPyH^+} , se incrementa por el decrecimiento de la fuerza iónica como se muestra en la Ecuación IV B, y como es de esperarse para la reacción acuosa de dos iones de carga opuesta con $\log k_{HPyH^+}^0 = 8,3$, el logaritmo de la constante de velocidad a fuerza iónica cero.

$$\log k_{HPyH^+} = 8,3 - 0,41 \times I^{1/2} \quad \text{Ec IV B}$$

Tabla IV B. Influencia de la fuerza iónica en las constantes de velocidad de piridina e ion piridinio con SO_4^{2-} .

| Fuerza Iónica, I | $k_{\text{HPy}}(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$ | $k_{\text{HPyH}^+}(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$ |
|-------------------------|--|---|
| 0,016 | $(1,8 \pm 0,2) \times 10^8$ | - |
| 0,05 | - | $(1,4 \pm 0,1) \times 10^8$ |
| 0,1 | $(1,8 \pm 0,2) \times 10^8$ | $(1,5 \pm 0,1) \times 10^8$ |
| 0,2 | $(1,8 \pm 0,2) \times 10^8$ | $(1,1 \pm 0,2) \times 10^8$ |
| 0,4 | $(1,9 \pm 0,3) \times 10^8$ | $(1,0 \pm 0,2) \times 10^8$ |

Para estudiar en forma cuantitativa el efecto del sustituyente en el anillo de piridina se realizó un análisis de Hammett. Este tratamiento es una correlación de energía libre que asigna un valor σ a cada grupo sustituyente teniendo en cuenta los efectos electrónicos (resonancia y carga) cuando ese grupo está unido a un anillo. La constante ρ depende del tipo de reacción y describe la susceptibilidad de la reacción al sustituyente. Este tratamiento ha sido usado y correlaciona bien para muchas reacciones y grupos funcionales [Smith y March, 2007].

Se han utilizado los valores σ^+ ya que son una buena opción para la correlación de Hammett en reacciones donde un sustituyente dador de electrones interacciona con una carga positiva en desarrollo en el estado de transición, como es el caso de estas reacciones. Como es de esperar para una especie electrofílica como el radical sulfato, los valores de k_{XPy} y k_{XPyH^+} , decrecen con el poder atractor de electrones del sustituyente. La Tabla IV C también muestra los parámetros sigma de Hammett, σ_P^+

[Segura, 1985; Smith y March, 2007]. El efecto del sustituyente se representa cuantitativamente en un gráfico logarítmico de Hammett de la constante de velocidad absoluta *versus* σ_p^+ [Gonzalez y Mártire, 1999], como se muestra en las Figuras IV C y D. Los gráficos usando los parámetros σ_m^+ o σ_o^+ no dan una buena correlación como la observada para los valores de σ_p^+ .

Las pendientes ρ^+ de las líneas rectas en la Figura IV C y D son, dentro del error experimental, coincidentes ($\rho^+ = -1,1 \pm 0,3$) a pesar de que la reactividad del radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ decrece con las diferentes familias de compuestos derivados de benceno > piridina > ion piridinio.

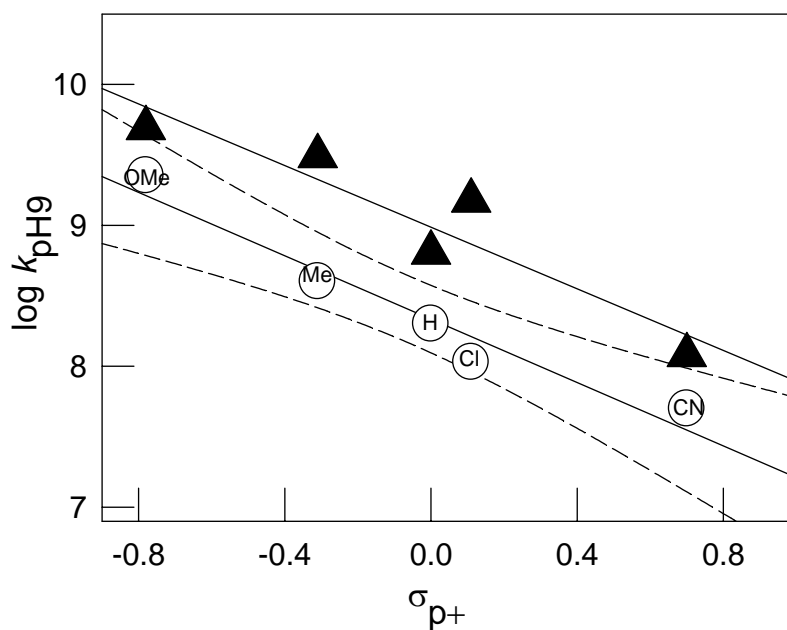


Figura IV C. Gráfico logarítmico de k_{XPy} (\circ) vs. σ_p^+ . Las abreviaciones H, Me, OMe, Cl y CN representan a los sustituyentes hidrógeno, metilo, metoxi, cloro y ciano respectivamente. Se muestran además, las constantes de velocidad publicadas [Neta y col., 1988] para la reacción entre los correspondientes bencenos sustituidos y los radicales sulfato (\blacktriangle). Las líneas sólidas representan la correlación lineal entre $\log k$ y σ_p^+ ($|r| = 0,93$). Las curvas punteadas muestra el intervalo de confianza del 95 %.

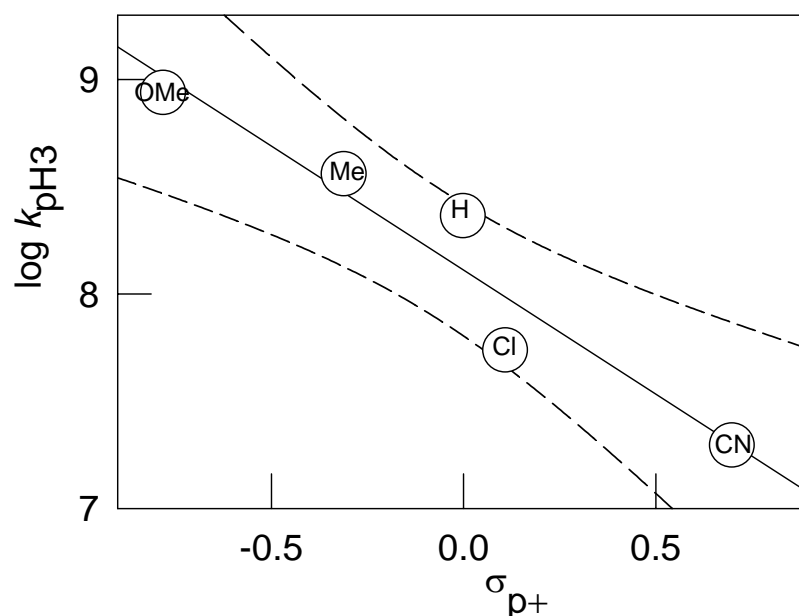


Figura IV D. Gráfico logarítmico de k_{XPyH^+} vs. σ_{p^+} . Las abreviaciones **H**, **Me**, **OMe**, **Cl** y **CN** representan a los sustituyentes hidrógeno, metilo, metoxi, cloro y ciano respectivamente. La línea sólida representa la correlación lineal entre $\log k$ y σ_{p^+} ($|r| = 0,917$). Las curvas punteadas muestra el intervalo de confianza del 95 %.

III-Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con piridinas 3-sustituidas e iones piridinio

Con el fin de caracterizar los radicales orgánicos formados en la reacción R IV A, se irradiaron soluciones 5×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ saturadas en argón y aire de $\text{pH} > 7$ con concentraciones de piridinas $\geq 5 \times 10^{-5}$ M ya sea con una lámpara convencional de flash o con un láser ($\lambda_{\text{exc}} = 266$ nm). En estas condiciones el tiempo de vida del radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ es < 2 μs . Dependiendo de la naturaleza del sustituyente, el transiente que se observa muestra un máximo de absorción en el intervalo de longitudes de onda de 300 a 400 nm. El espectro del transiente se muestra en las Figuras IV E, F,

G (principal), G (recuadro), y H, para 3-metoxipiridina, 3-metilpiridina, piridina, 3-cloropiridina, y 3-cianopiridina, respectivamente.

Para cada piridina sustituida, se tomaron varios perfiles de decaimiento a diferentes longitudes de onda de detección en el intervalo de longitudes de onda de 290-560 nm. Se aplicó el análisis de regresión bilineal a la matriz de absorbancia para obtener información del número mínimo de especies. Para los experimentos con flash fotólisis convencional, el análisis bilineal muestra que los datos obtenidos para las diferentes piridinas pueden ser descriptas por dos especies absorbentes: un transiente orgánico presente 100 μ s luego del pulso de luz, cuyo decaimiento da un producto estable de menor absorbancia, como se representa para 3-metoxipiridina en el recuadro de la Figura IV E.

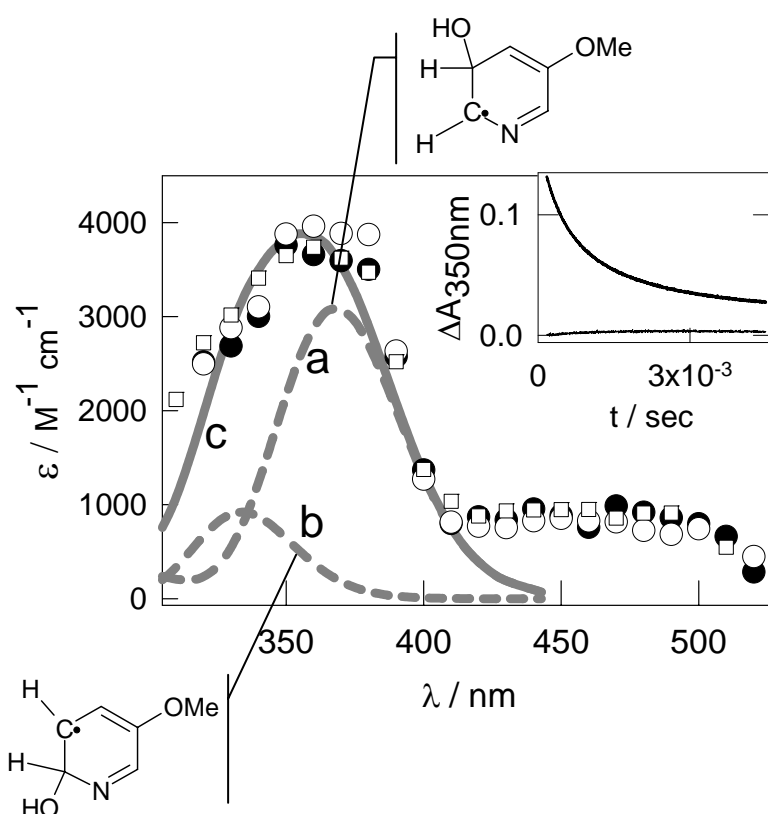


Figura IV E. Espectros de absorción de los transientes observados en experimentos de flash fotólisis convencional con soluciones saturadas con aire (O) y argón (●) de pH 7 y 5×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ y 5×10^{-5} M 3-metoxipiridina. Las líneas punteadas representan los espectros

calculados mediante TD-DFT para los aductos 3-hidroxi-5-metoxipiridina (línea **a**) y 2-hidroxi-5-metoxipiridina (línea **b**). Las estructuras de los hidroxiaductos se muestran en las llamadas. La línea sólida **c** representa la combinación lineal $\mathbf{a}+2,6\times\mathbf{b}$. Recuadro: Contribución a las trazas de absorción a 350 nm del transiente y el producto estable (trazas superior e inferior respectivamente) para experimentos saturados con argón de la figura principal. Se muestra superpuesto a la curva experimental el ajuste a una ley de segundo orden.

Considerando que todo el radical sulfato que se forma reacciona con las piridinas para formar el transiente orgánico, es posible estimar el límite inferior para el coeficiente de absorción del transiente orgánico a partir de su máximo de absorbancia. Estos resultados se muestran en la Tabla IV C. La concentración de radicales sulfato se calcula a partir de las trazas obtenidas en ausencia de piridinas bajo idénticas condiciones experimentales considerando $\epsilon_{450\text{nm}} = 1600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [McElroy y Waygood, 1990].

Tabla IV C. Constantes de decaimiento del aducto de hidroxipiridina (k_3), longitud de onda del máximo de absorción (λ_{max}) y límite menor para el coeficiente de absorción a λ_{max} (ϵ) calculado. Se muestran además aquellos valores de coeficientes de absorción previamente publicados, *[Solar y col.,1993],**[Cercek y Ebert,1967].

| Sustituyente | $2 \times k_3/\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ | $\lambda_{\text{max}}, (\epsilon/\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ |
|-------------------------|--|---|
| CH₃O- | $(2,7\pm 0,3)\times 10^8$ | 350(>3790) |
| CH₃- | $(3,2\pm 1,5)\times 10^8$ | 320(>990, 2700*) |
| H- | $(7,5\pm 1)\times 10^8$ | 320(>1060, 2400**, 4900*) |
| Cl- | $(1,0\pm 0,2)\times 10^9$ | 320(>3400) |
| CN- | $(3,3\pm 0,5)\times 10^9$ | 350(>1350) |

Los decaimientos de los transientes orgánicos siguen, en todos los casos, una ley de segundo orden, como se muestra en las Figuras IV E (recuadro), F (recuadro), y H (recuadro) para 3-metoxipiridina, 3-metilpiridina y 3-cianopiridina, respectivamente. A partir del coeficiente calculado en el máximo de absorción, se obtienen la constante de velocidad de recombinación $2 \times k_3$ para cada transiente orgánico y también se muestra en Tabla IV C.

Para 3-metilpiridina y piridina, el espectro de los transientes y las velocidades de decaimiento están de acuerdo con los publicados para los aductos de radical HO \cdot , o radicales hidroxiciclohexadienilos de piridinas, correspondientes [Solar y col., 1993] (ver Figuras IV F y G) y pueden ser asignados a estas especies. Sin embargo, el límite menor de los coeficientes de absorción obtenidos son la mitad de los valores informados por Solar y colaboradores.

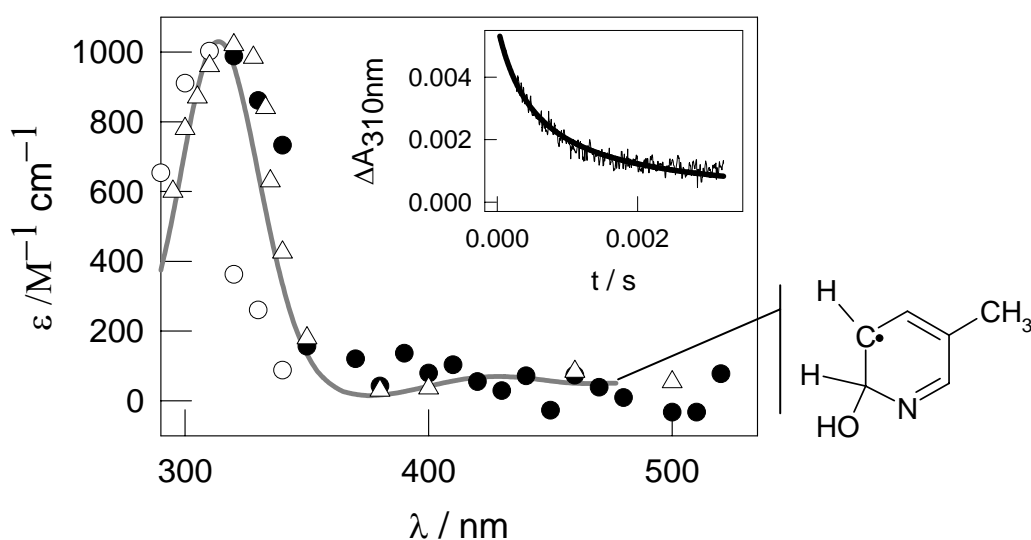


Figura IV F. Espectro de absorción del transiente observado en experimentos de pH 9 y (○) 1×10^{-3} M $S_2O_8^{2-}$, 1×10^{-3} M 3-metilpiridina, saturadas con argón (experimentos con láser), y (●) 5×10^{-3} M $S_2O_8^{2-}$, 1×10^{-4} M 3-metilpiridina, saturadas con aire (experimentos con flash fotólisis convencional). (Δ) Espectro publicado para el aducto de hidroximetilpiridina [Solar y col., 1993]. La línea sólida representa el espectro calculado por TD-DFT del aducto de 2-hidroxi-5-metilpiridina. Se muestra además su estructura. Recuadro: Traza de absorción obtenida en soluciones saturadas en argón a 310 nm en el experimento de láser de la figura principal. La traza sólida corresponde al ajuste de una ley de segundo orden.

Los espectros de absorción de los transientes y las velocidades de decaimiento de los mismos, en experimentos saturados en argón y en aire, resultan coincidentes como puede verse en las Figuras IV E a H. Los perfiles de decaimientos de los transientes fueron ajustados a cinéticas de orden mixto, primero y segundo, con el fin de evaluar su reactividad frente a oxígeno. Se obtuvieron residuos aceptables para el ajuste de primer orden si la constante es menor a 1000 s^{-1} .

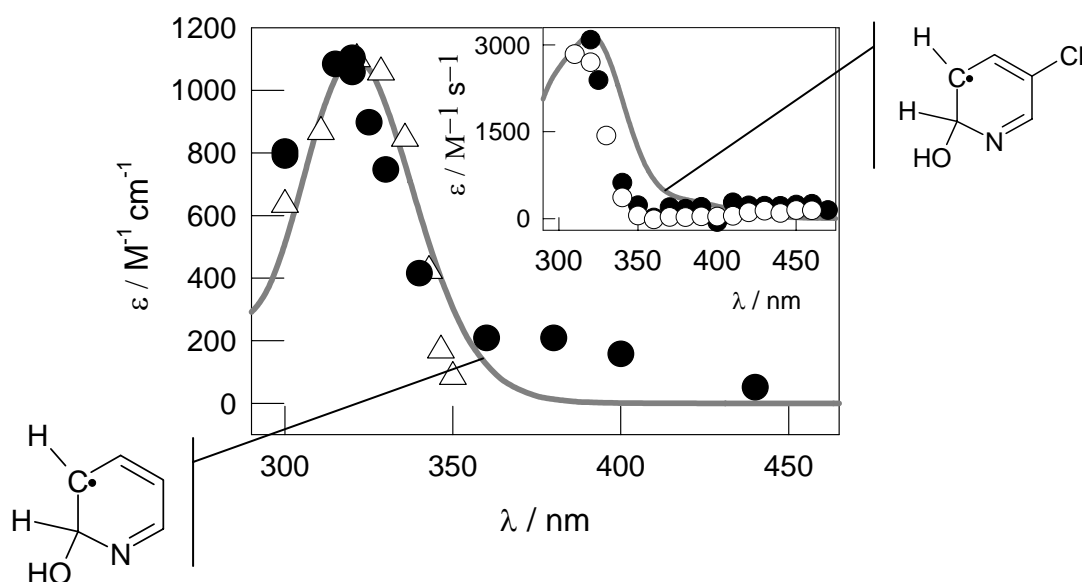


Figura IV G. Espectro de absorción del transiente (●) observado en experimentos de irradiación en soluciones saturadas con argón $5 \times 10^{-3} \text{ M S}_2\text{O}_8^{2-}$ de $\text{pH} > 7$ conteniendo $6 \times 10^{-4} \text{ M}$ de piridina. (Δ) Espectro normalizado reportado para el aducto hidroxipiridina [Solar y col., 1993]. La línea sólida representa el espectro normalizado del aducto 2-hidroxipiridina calculado por TD-DFT. Recuadro: Espectro de absorción del transiente observado en experimentos con soluciones $5 \times 10^{-3} \text{ M S}_2\text{O}_8^{2-}$ de $\text{pH} 7$ con $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ of 3-cloropiridina en soluciones saturadas con (○) aire y (●) argón. La línea sólida representa el espectro normalizado del aducto 2-hidroxí-5-cloropiridina calculado por TD-DFT. Se muestran las estructuras de los aductos en ambos casos.

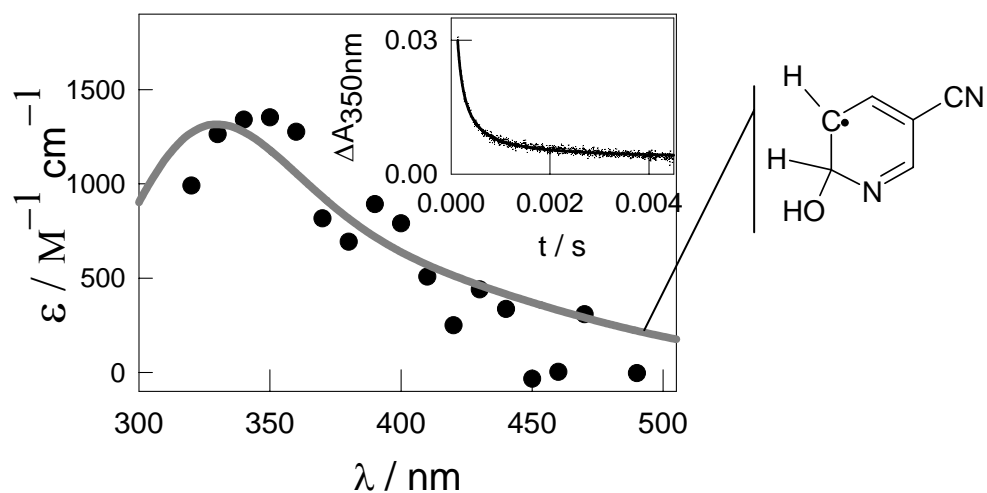
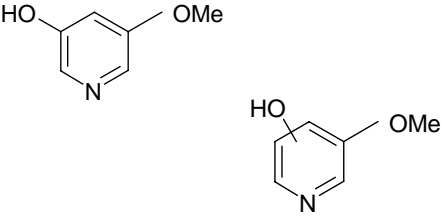
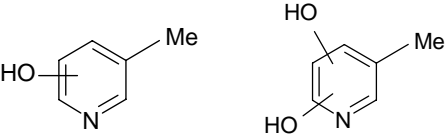
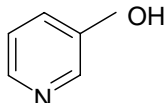
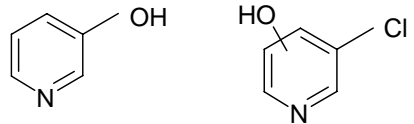
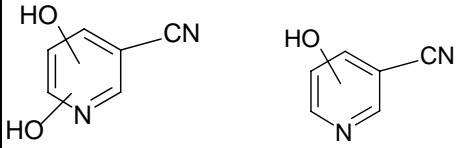


Figura IV H. Espectro de absorción del transiente observado en experimentos de irradiación con soluciones de pH 7 saturadas con aire conteniendo 5×10^{-3} M $S_2O_8^{2-}$ y 5×10^{-4} M 3-cianopiridina. La línea sólida representa el espectro normalizado del aducto 2-hidroxi-5-cianopiridina calculado por TD-DFT. Recuadro: Absorción resuelta en el tiempo a 350 nm para los experimentos en la figura principal. La línea punteada representa el ajuste a ley de velocidad de segundo orden.

IV- Identificación de productos estables de reacción de $SO_4^{\cdot-}$ con piridinas

Los principales productos formados en experimentos saturados en aire son los piridinolos sustituidos, como se muestra en la Tabla IV D para cada piridina.

Tabla IV D. Productos detectados mediante HPLC-MS y valores de tiempos de retención y m/z luego de la irradiación de soluciones acuosas de piridinas 1×10^{-3} M saturadas en aire.

| Sustituyente | Tiempos de retención (Rt, min) y principales picos de masa (m/z) | Estructuras |
|-------------------------|--|---|
| CH₃O- | Rt= 1,4min, m/z=148 (125+Na ⁺), 126 (125+H ⁺), 96 (95 +H ⁺) Rt= 1,3min, m/z=126(125+H ⁺), 96(95 +H ⁺) |  |
| CH₃- | Rt= 1,5min, m/z=110 (109+H ⁺) Rt= 1,5min, m/z=126(125+H ⁺) |  |
| H- | Rt= 1,4min, m/z=118 (95+Na ⁺), 96 (95 +H ⁺) |  |
| Cl- | Rt= 1,4min, m/z=118 (95+Na ⁺), 96 (95 +H ⁺) Rt= 1,1min, m/z=130 (129+H ⁺) |  |
| CN- | Rt= 1,3min, m/z =143 (120+Na ⁺) Rt= 1,3min, m/z =159 (136+Na ⁺) |  |

V- Conclusiones parciales

Los resultados previos muestran que la reacción de 3-metilpiridina y piridina con radicales sulfato resulta en la formación de los respectivos aductos hidroxipiridina. De la buena correlación entre $\log k_{XPy}$ y $\log k_{XPyH^+}$ y la constante del sustituyente, σ_p^+ , mostrada en las Figuras IV C y D respectivamente, puede esperarse que un mecanismo similar de reacción, que da lugar a la formación de los aductos hidroxipiridinas sustituidos, opere para todas las piridinas estudiadas. Debido a que los gráficos de Hammett dan la mejor correlación con el parámetro σ_p^+ , la adición del radical sulfato al anillo de piridina en la posición *para* al sustituyente y *orto* al átomo de N debe ser el sitio de ataque preferido.

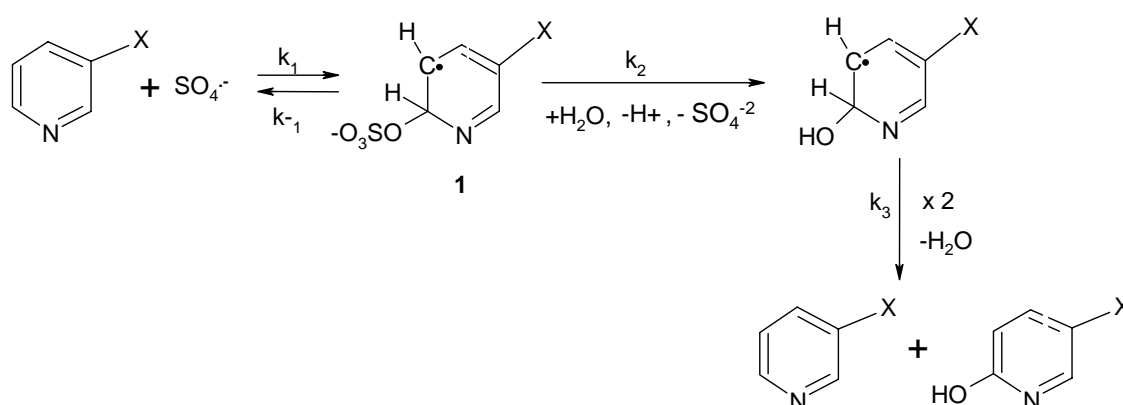
Los aductos de piridina y metilpiridinas poseen constantes de disociación ácido-base que son aproximadamente 0,5-0,6 unidades de pH menores que los valores de pKa de las piridinas correspondientes [Solar y col., 1993]. Los espectros de los transientes orgánicos que se muestran se obtuvieron en soluciones de pH >7 y, por lo tanto, se espera que los hidroxi-aductos observados se encuentren en su forma de base conjugada.

Para confirmar la hipótesis previa, se calcularon los espectros de los aductos 2-hidroxi-piridina-5 sustituidos mediante TD-DFT y se compararon en las Figuras IV E a H. La estrecha coincidencia que se obtuvo entre los espectros de transientes calculados y experimentales, excepto para 3-metoxipiridina, indican que se puede asignar estos transientes a los aductos de 2-hidroxipiridina correspondientes. El espectro del transiente observado para 3-metoxipiridina puede ser interpretado como la contribución de ambos aductos 2-hidroxi-5-metoxipiridina y 3-hidroxi-5-metoxipiridina en una relación 2,6:1 de acuerdo con la formación de los productos de reacción 2 o 4-hidroxi y 3-hidroxi-5-metoxipiridinas, tal como se ve en la Tabla IV D.

Los gráficos de tipo Hammett con pendientes $\rho^+ = -1,1 \pm 0,3$; Figura IV C y D, sugieren que los radicales $SO_4^{\cdot-}$ reaccionan por, transferencia electrónica y por adición [Gonzalez y Mártire, 1999]. La formación de los aductos de hidroxipiridina luego de la reacción con radical $SO_4^{\cdot-}$ puede ser explicado por esas vías de reacción.

El potencial de oxidación publicado para piridina en acetonitrilo - Bu_4NPF_6 (0,1 M) es 2,46 V vs. Fc/Fc^+ (Fc : ferroceno, E^0 (Fc/Fc^+ en agua) = +0,4 V vs. ENH [Barrette y col., 1984; Reitstöen y Parker, 1991] y, por lo tanto, el potencial de reducción de la piridina resulta 2,86 V vs. ENH. Considerando que el potencial de reducción del radical sulfato en agua es 2,5 V vs. ENH [Wardman, 1989] la reacción de transferencia electrónica desde la piridina al $\text{SO}_4^{\cdot-}$ es termodinámicamente desfavorable. Además, se conoce que los radicales $\text{SO}_4^{\cdot-}$ reaccionan selectivamente con los bencenos sustituidos por una vía de adición-eliminación para dar los radicales hidroxiciclohexadienilos (HCHD) [Rosso y col., 2003]. Por lo tanto, una vía probable de reacción sería la adición del radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ al anillo de piridina y posterior eliminación para dar el aducto ciclohidroxipiridina como se muestra en el Esquema IV A. Un mecanismo similar puede aplicarse a las piridinas protonadas.

Esquema IV A. Mecanismo de la reacción de radical sulfato con piridinas 3-sustituidas.



La adición de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ a las piridinas sustituidas involucra la formación de un aducto de sulfato (**1** en Esquema IV A, no observado) que luego de la eliminación de anión sulfato y adición de agua genera el aducto de OH. La desproporción de estos aductos, (k_3) en Esquema IV A, da lugar a la formación de los piridinolos correspondientes.

La diferencia en los mecanismos de reacción observados entre el radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ y el radical OH^{\cdot} (ver Capítulo III), se deben fundamentalmente, a la habilidad del radical

sulfato como grupo saliente. El anión SO_4^{2-} es mejor grupo saliente que el OH^- . Esta característica hace que el tiempo de vida del aducto piridina-sulfato sea muy corto, tal como se publicó para el aducto benceno-sulfato [Steenken, 1996]. Por lo tanto, el aducto con sulfato no puede observarse en la ventana de tiempo accesible con el equipamiento utilizado. Considerando el mecanismo propuesto en el Esquema IV A y asumiendo que la concentración del aducto del radical sulfato (1 en Esq IV A) se encuentra en un estado estacionario, se puede plantear que $k_3 = \frac{k_1 \times k_2}{k_{-1} + k_2}$. Si la reacción de hidrólisis es más rápida que la descomposición, o sea, $k_2 \gg k_{-1}$ entonces $k_3 = k_1$ tal como es de esperar por la fuerte dependencia de k_3 con el sustituyente unido al anillo piridínico.

La adición del radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ al anillo de piridina ocurre preferencialmente en la posición *para* al sustituyente y *orto* al nitrógeno. Además, la posible reacción del radical sulfato con el nitrógeno de la piridina puede descartarse puesto que no se observó entre los productos de reacción la formación de piridinas N-óxido. Estos resultados concuerdan con los publicados, donde no hay ningún indicio definitivo del ataque del OH^{\cdot} al nitrógeno [Dey y col., 2002; Steenken y O'Neill, 1978] y los resultados de los cálculos SCF MO publicados, indicando que la deslocalización del electrón desapareado en el aducto hidroxipiridina favorece su formación, más que la adición del radical hidroxilo al átomo de nitrógeno [Anthony y col., 1982].

Dey y colaboradores [Dey y col., 2002] sugieren que la vía preferida de reacción entre la 3-aminopiridina y radical sulfato es una transferencia electrónica. El potencial de oxidación de las piridinas sustituidas disminuye considerablemente con el aumento del poder dador de electrones del sustituyente [Reitstöen y Parker, 1991]. Debido a que el grupo NH_2 presenta poder dador de electrones mayor que los sustituyentes estudiados en este trabajo, la diferencia observada puede ser explicada si el potencial de reducción del catión radical de 3-aminopiridina es $< 2,4 \text{ V vs. NHE}$, y en consecuencia, la reacción de transferencia es termodinámicamente posible sólo para ese caso particular.

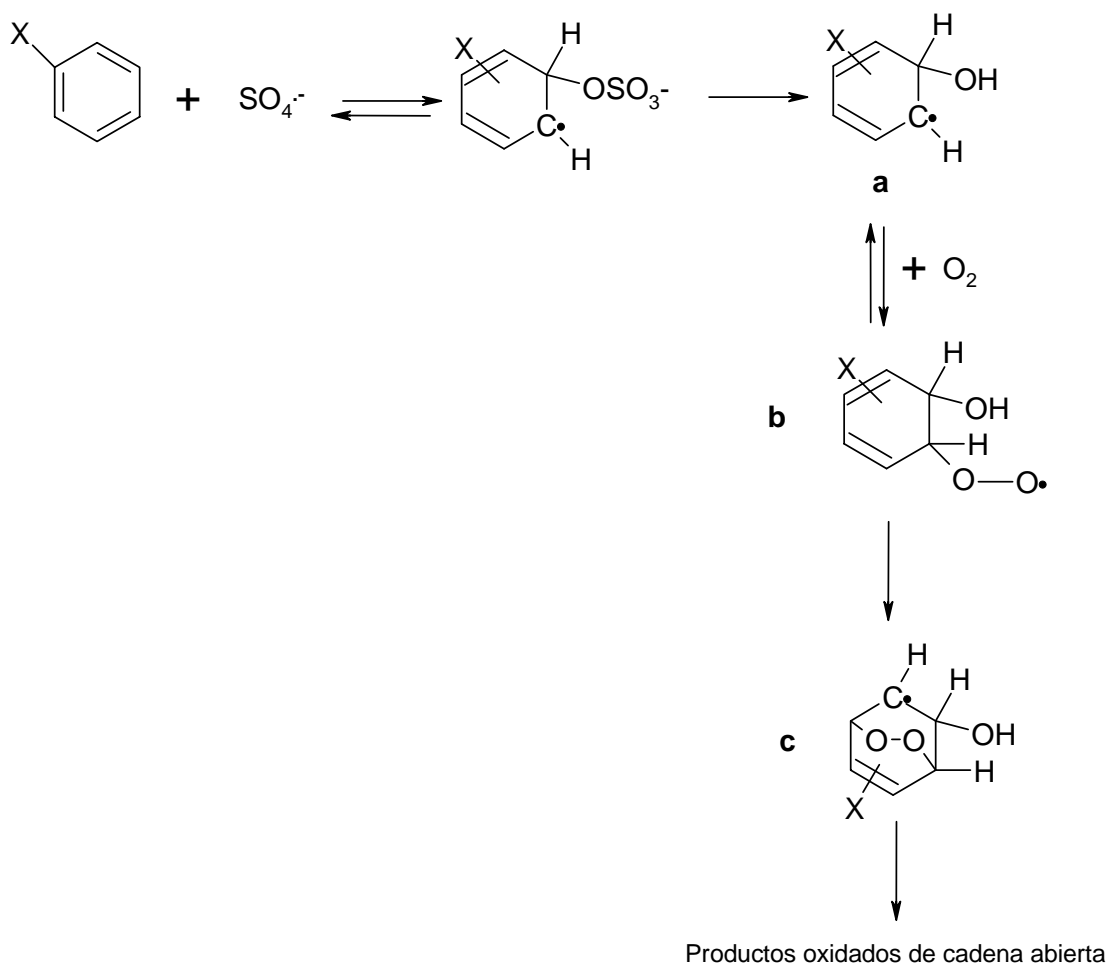
La abstracción de hidrógeno del grupo metilo en el caso de la 3-metilpiridina puede ser una vía posible de reacción que compite con la adición de radical sulfato al anillo de piridina. Sin embargo, los resultados obtenidos no presentan evidencia de

la formación de otro transiente orgánico distinto del aducto de hidroximetilpiridina, ni tampoco por la formación de productos oxidados en el grupo metilo o productos donde dos moléculas de piridina se encuentren unidas mediante un puente metileno. En consecuencia, la abstracción de hidrógeno no es significativa en este caso y la constante de abstracción de hidrógeno por sulfato a la 3-metilpiridina se espera que sea, $k_{H-abs} < 4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Asimismo, ha sido publicado que la abstracción de hidrógeno del grupo metilo de 3-metilpiridina por radicales HO[•] no es una vía de reacción importante [Solar y col., 1993].

La formación de 3-hidroxipiridina como producto en la reacción de 3-cloropiridina puede explicarse por la reacción del radical SO₄^{•-} en la posición *ipso* al Cl, la formación del isómero *ipso* del aducto hidroxipiridina, y posterior pérdida de HCl. Un mecanismo similar fue publicado para la reacción de radical sulfato con clorobenceno [Rosso y col., 2003].

Los resultados obtenidos muestran que tanto la formación como el decaimiento de los aductos de hidroxipiridinas 3-sustituídos no son sensibles, dentro del error experimental, a la presencia de oxígeno molecular en soluciones saturadas con aire. Por lo tanto, la oxidación de la molécula de piridina ocurre principalmente mediante la desproporción de los aductos hidroxipiridina para dar los correspondientes piridinoles como se muestra en el Esquema IV A. Por otro lado, se conoce que los radicales hidroxiciclohexadienilos (HCHD) obtenidos por la reacción de radical sulfato con bencenos monosustituídos (**a** en Esquema IV B) reaccionan en forma reversible con oxígeno molecular para producir radicales peroxilo (**b** en Esquema IV B), que luego de un reordenamiento a endoperóxidos (**c** en Esquema IV B) conduce a la formación de productos oxidados de cadena abierta [Caregnato y col., 2009; Rosso y col., 2003; von Sonntag y Schuchmann, 1997]. En consecuencia, se espera que los bencenos sustituídos sean más fácilmente mineralizados que las piridinas 3-sustituídas.

Esquema IV B. Mecanismo de la reacción de radical sulfato con bencenos sustituidos [Caregnato y col., 2009; Rosso y col., 2003; Von Sonntag y Schuchmann, 1997]



Considerando la concentración de oxígeno molecular en soluciones saturadas en aire ($[O_2] = 2,5 \times 10^{-4} M$), se estima que la constante de velocidad para la reacción de los transientes orgánicos con O_2 es $k_{OX} < 4 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$. La constante publicada para la reacción del hidroxi-aducto de 3-aminopiridina con O_2 es $k_{OX} = 7 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ [Dey y col., 2002]. Las constantes de velocidad de los radicales HCHD de bencenos con O_2 se incrementan con el aumento del poder dador de electrones del sustituyente [von Sonntag y Schuchmann, 1997]. Asumiendo un comportamiento similar para los aductos de hidroxipiridina, las constantes de velocidad para los aductos estudiados

en esta tesis deberían ser $< 7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, lo que concuerda con lo observado experimentalmente. Por otro lado, se publicó que la constante de velocidad para la reacción del hidroxi-aducto de 2-aminopiridina con O_2 es $k_{\text{OX}} = 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [Dey y col., 2002], indicando que la posición del sustituyente influncia fuertemente la facilidad de mineralización de la molécula de piridina.

B- Experimentos con insecticidas cloronicotinoides

VI-Constantes de velocidad de los insecticidas con $\text{SO}_4^{\bullet-}$

Los ensayos realizados con concentraciones de los insecticidas de $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ y peroxodisulfato 0,02 M muestran la formación de un único transiente al irradiar con luz de 200 a 600 nm, cuyo espectro coincide con el del radical sulfato Figura IV A.

El decaimiento del radical puede ajustarse en estas condiciones por una cinética de orden mixto, tal como se mencionó en el Capítulo I, y como se observa en la Figura IV I. Las trazas de absorción de soluciones de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-} 5 \times 10^{-3} \text{ M}$ en presencia de bajas concentraciones de insecticidas ($< 1 \times 10^{-5} \text{ M}$) a pH 3 y pH 9 muestran un espectro que coincide con el del radical sulfato pero con velocidades de decaimiento mayores (ver Figura IV I, recuadro).

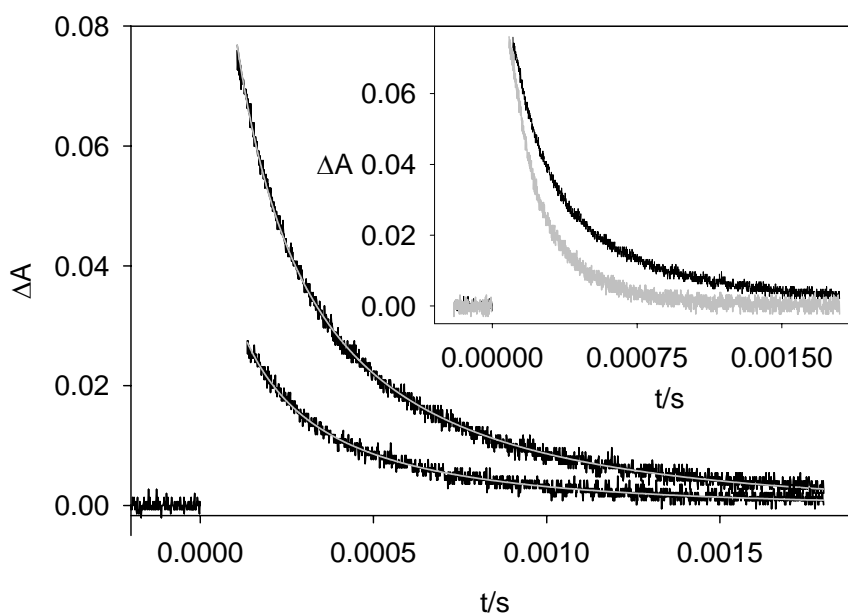


Figura IV I. Perfiles de absorbancia obtenidos a 450 nm (curva superior) y a 510 nm (curva inferior) en experimentos de flash fotólisis convencional para 2×10^{-2} M de peroxodisulfato de sodio. Las líneas grises muestran el ajuste de orden mixto. Recuadro: Trazas obtenidas a 450 nm para soluciones con 2×10^{-2} M de peroxodisulfato de sodio en ausencia (curva negra) y en presencia (curva gris) de 1×10^{-5} M de IMD.

La absorbancia de estas trazas en presencia de insecticidas puede ajustarse por una cinética de primer orden, Ecuación II I. De este ajuste de las señales obtenidas a 450 nm se obtiene la constante de velocidad de reacción aparente, k_{app}^{Ins} .

En la Figura IV J se observa que k_{app}^{Ins} depende linealmente con la concentración de insecticida para IMD, THIA y ACT, a pH 3 y pH 9. Los valores de las constantes de segundo orden obtenidas de las pendientes de las rectas se muestran en la Tabla IV E.

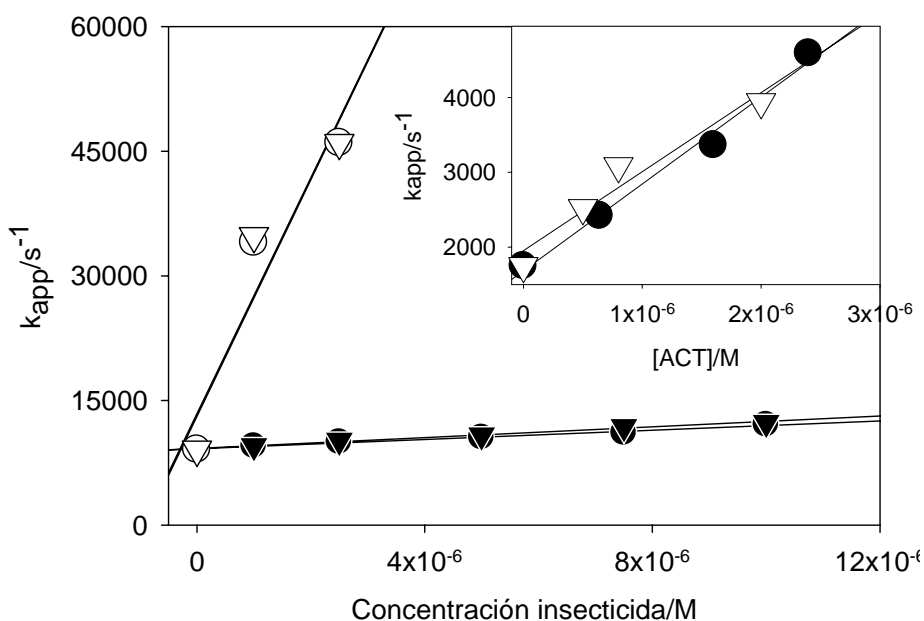


Figura IV J Gráfico de k_{app}^{Ins} vs. [Insecticida] obtenido para IMD (símbolo lleno) y THIA (símbolo vacío) con 5×10^{-3} M de $S_2O_8^{2-}$ a pH 3(○) y pH 9(▽).Recuadro: Gráfico de k_{app} vs. concentración de ACT obtenido en soluciones de $S_2O_8^{2-}$ 5×10^{-3} M a pH 9(▽) y pH 3(●).

Tabla IV E. Constantes de velocidad de segundo orden de los insecticidas IMD, ACT y THIA con radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ a pH 3 y pH 9.

| <i>Insecticida</i> | | <i>IMD</i> | <i>ACT</i> | <i>THIA</i> |
|---|-------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <i>k (M¹ s⁻¹)</i> | <i>pH 3</i> | $(3 \pm 1) \times 10^8$ | $(1,1 \pm 0,6) \times 10^9$ | $(3 \pm 1) \times 10^9$ |
| | <i>pH 9</i> | $(3,5 \pm 1) \times 10^8$ | $(1,0 \pm 0,8) \times 10^9$ | $(4,5 \pm 1) \times 10^9$ |

Las velocidades obtenidas a pH 3 y pH 9 son coincidentes, dentro del error experimental, para los tres insecticidas. Por lo tanto, los pK_a de los insecticidas deben encontrarse fuera del rango de pH estudiado.

VII-Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ con los insecticidas

Con el fin de caracterizar los radicales orgánicos formados se irradiaron soluciones conteniendo 5×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ saturadas en argón y aire de pH > 7 con concentraciones de insecticidas $\geq 1 \times 10^{-5}$ M con una lámpara convencional. La fotólisis de soluciones saturadas en aire de peroxodisulfato 5×10^{-3} M en presencia de cada uno de los insecticidas estudiados en concentración 2×10^{-5} M para IMD, 1×10^{-5} M THIA y 1×10^{-5} M para ACT da como resultado más de una especie transiente que absorben en la zona de 300 nm a 500 nm.

Tal como se realizó para las piridinas sustituidas, se tomaron varios perfiles de decaimiento en el intervalo de longitudes de onda de 300 a 500 nm. Se aplicó el análisis de regresión bilineal a la matriz de absorbancia para obtener información del número mínimo de especies. Con este análisis los datos obtenidos

experimentalmente pueden ser descriptos por dos especies absorbentes: un transiente orgánico con absorbancia máxima en 330-350 nm y 440-450 nm, presente 100 μ s luego del pulso de luz, cuyo decaimiento da un producto estable con máximo en la zona de 300-350 nm. Entonces, es posible plantear que el radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ reacciona con los insecticidas de acuerdo a la reacción R IV B.



Los espectros de los transientes obtenidos en soluciones saturadas en aire y en argón se muestran en las Figuras IV K, IV L y IV M para IMD, ACT y THIA respectivamente.

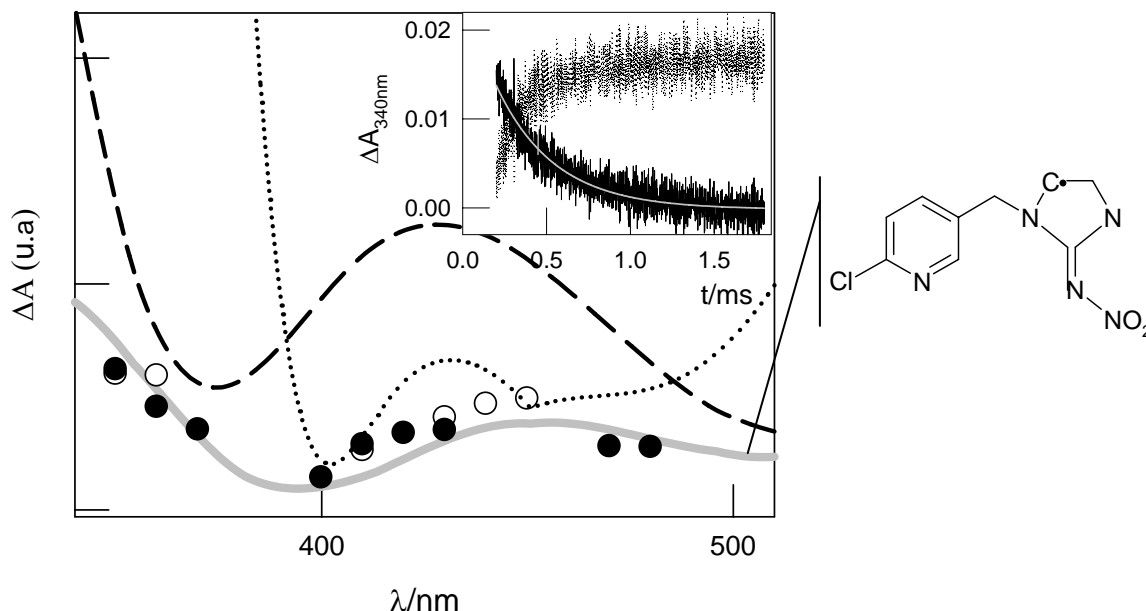


Figura IV K. Espectro de absorción del transiente observado en experimentos (○) 1×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, y 2×10^{-5} M IMD, saturadas con argón, y (●) 5×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, 2×10^{-5} M de IMD, saturadas con aire. La línea sólida representa el espectro calculado por TD-DFT del radical situado en el carbono α al nitrógeno. Se muestran además los espectros calculados mediante TD-DFT para el radical en el metileno puente (línea punteada) y para el radical catión en el nitrógeno (línea alternada). Recuadro: Contribución a la traza de absorción a 340 nm del transiente y el producto estable (línea superior e inferior respectivamente) en el experimento saturado en aire de la figura principal. En línea llena se muestra el ajuste de primer orden.

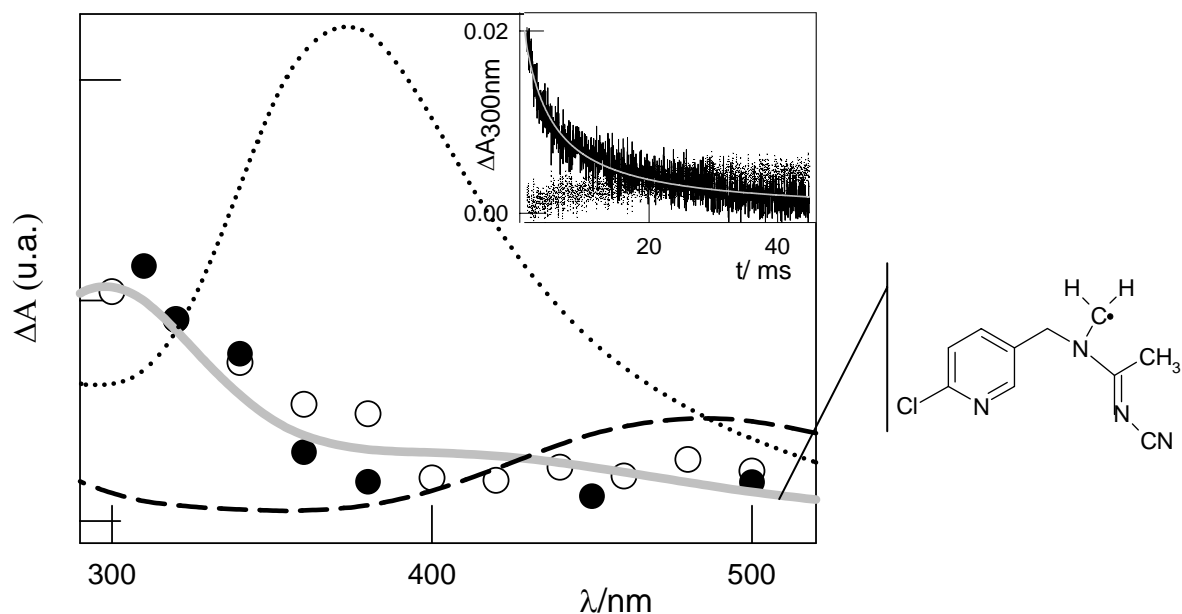


Figura IV L. Espectro de absorción del transiente observado en experimentos de flash fotólisis convencional con soluciones de pH 7 y 5×10^{-3} M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ y 1×10^{-5} M ACT saturadas con argón (○) y aire (●). La línea llena representa el espectro calculado mediante TD-DFT para el radical en el metilo α al nitrógeno de ACT. La línea punteada representa el espectro calculado para el radical en el metileno puente y la línea alternada esquematiza el espectro calculado para el radical catión en el nitrógeno amínico. Recuadro: Contribución a la trazas de absorción a 300 nm del transiente y el producto estable (trazas llena y traza punteada respectivamente) para experimento saturados con argón en la figura principal. Se muestra en gris el ajuste a una ley de segundo orden.

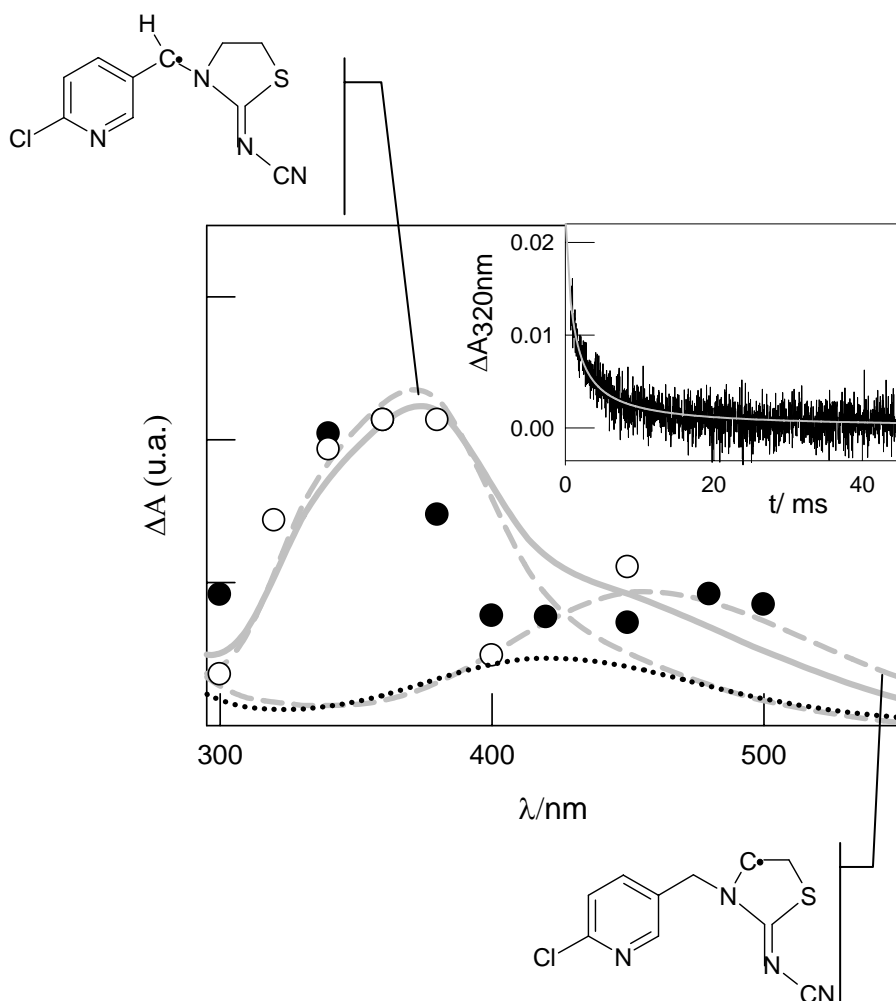


Figura IV M. Espectro de absorción del transiente observado en experimentos de flash fotólisis convencional con soluciones de pH 7 y 5×10^{-3} M $S_2O_8^{2-}$ y 1×10^{-5} M THIA saturadas con argón (○) y aire (●). Las líneas alternadas representan los espectros calculados mediante TD-DFT para el radical en el carbono *alfa* del heterociclo en THIA (línea **a**) y el radical en el metileno puente del THIA (línea **b**). La línea sólida **c** representa la combinación lineal $0,9 \times \mathbf{a} + 0,5 \times \mathbf{b}$. La línea punteada muestra el espectro calculado para el radical catión en el nitrógeno amínico. Recuadro: Contribución a la traza de absorción del transiente obtenida a 320 nm en el experimento con soluciones saturadas en argón. La traza gris corresponde al ajuste del decaimiento de ley de segundo orden.

Para todos los insecticidas se observa que, dentro del error experimental, los espectros de los transientes no dependen de la concentración de oxígeno disuelto en solución. Sin embargo, los perfiles temporales de los transientes dependen

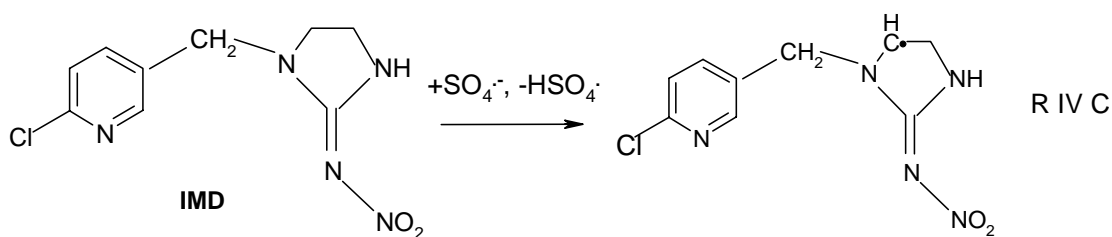
de la presencia de oxígeno. El decaimiento sigue una cinética de segundo orden en soluciones saturadas en argón, con una constante $2 \times k_{\text{rec}}/\epsilon(\lambda)$ (Capítulo II) y una ley de pseudoprimer orden en soluciones saturadas en aire. Si se considera que la concentración de oxígeno disuelto en soluciones saturadas en aire a 25 °C es $2,5 \times 10^{-4}$ M, y teniendo en cuenta la constante de decaimiento aparente de los transientes en soluciones saturadas en aire (obtenida del ajuste de las trazas de absorción de los transientes), es posible calcular la constante de velocidad absoluta de los transientes con oxígeno molecular k_{O_2} . Los valores obtenidos de $2 \times k_{\text{rec}}/\epsilon(\lambda)$ y k_{O_2} se presentan en la Tabla IV F.

Considerando que los transientes orgánicos son los únicos intermediarios formados luego de la reacción R IV B, puede asumirse que su concentración es igual a la de radicales sulfatos formados por fotólisis de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$. Al igual que se calculó para piridinas, la concentración de radical sulfato formada se calcula de las trazas de absorbancia en ausencia de insecticidas, pero en idénticas condiciones experimentales asumiendo $\epsilon_{450} = 1600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. De esta manera, se estima el límite inferior del coeficiente de absorción de los transientes orgánicos, ϵ^{min} , para cada insecticida, los cuales se muestran en la Tabla IV F. Tomando estos valores de ϵ^{min} es posible calcular la constante de recombinación absoluta de los transientes para cada insecticida ($2 \times k_{\text{rec}}$) cuyos valores son $2,6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $1,6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, y $6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para los transientes de IMD, ACT y THIA, respectivamente.

Tabla IV F. Constantes de decaimiento de segundo orden, $2 \times k_{\text{red}}/\varepsilon(\lambda)$, constantes de velocidad absoluta para la reacción con oxígeno molecular, k_{O_2} , límite inferior de los coeficientes de absorción, ε_{min} , y valores teóricos de los coeficientes de absorción, $\varepsilon^{\text{TD-DFT}}$, a una longitud de onda determinada λ , para los transientes orgánicos observados para cada insecticida e identificados como los radicales α -aminoalquílicos IMDR, THiar1 y THiar2, y ACTR en los Esquemas IV C, D y E, respectivamente.

| <i>Insecticida</i> | <i>IMDR</i> | <i>ACTR</i> | <i>THIAR1+THIAR2</i> |
|--|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| $2 \times k_{\text{red}}/\varepsilon(\lambda)$ (cm s ⁻¹) | 3×10^6 (350 nm) | $1,2 \times 10^5$ (300 nm) | 5×10^5 (320 nm) |
| k_{O_2} (M ⁻¹ s ⁻¹) | $1,2 \times 10^7$ | 5×10^5 | (4 - 6) $\times 10^5$ |
| $\varepsilon^{\text{min}}(\lambda)$ (M ⁻¹ cm ⁻¹) | 860 (350 nm) 270 (450 nm) | 1320 (300 nm) | 1200 (320 nm) |
| $\varepsilon^{\text{TD-DFT}}(\lambda)$ (M ⁻¹ cm ⁻¹) | 700 (350 nm) 380 (450 nm) | 1×10^4 (300 nm) | $1,45 \times 10^4$ (320 nm) |

Debido a la compleja estructura molecular de los insecticidas, es necesario evaluar distintos sitios de reacción con el radical sulfato. El ataque del radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ a la molécula de piridina de los insecticidas para dar un producto con el anillo piridínico hidroxilado se descarta ya que ni los productos de reacción, ni los espectros de los intermediarios justifican esta vía de reacción. Por otro lado, la abstracción de hidrógeno por parte del radical sulfato, también da lugar a los radicales α -aminoalquilo de los insecticidas tal como se muestra en la reacción R IV C para IMD.



Este mecanismo de abstracción de hidrógeno por radical sulfato ha sido publicado para alcoholes [Clifton y Huie, 1989] y para éteres y alcanos [Huie y Clifton, 1989]. Sin embargo, las constantes de velocidad de abstracción de hidrógeno de estos compuestos son del orden de 10^5 - 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, en contraste con los valores de constantes encontradas en esta tesis para radical sulfato y los insecticidas estudiados.

La transferencia electrónica desde el nitrógeno amínico al radical anión sulfato para dar el radical catión en el nitrógeno, ha sido publicada para aminas alifáticas [Padmaja y col., 1993], pirimidinas [Luke y col., 2003], ácido cianúrico [Manoj y col., 2002], purinas [Vieira y col., 1999], arginina [Ito y col., 2009] y triptófano [Bosio y col., 2005]. Considerando que los insecticidas poseen un nitrógeno en la molécula central de sus estructuras, esta transferencia electrónica es una vía de reacción que debe ser evaluada.

Es posible calcular la variación de energía libre estándar $\Delta_{ET}G^0$ para la reacción de transferencia electrónica entre los insecticidas y radical sulfato (Esquema IV B) a partir de la ecuación Ec IV C.

$$\Delta G_{ET}^0 = -n \times F \times [E^0(SO_4^{\bullet-} / SO_4^{2-}) - E^0(Ins^{\bullet+} / Ins)] \quad \text{Ec IV C}$$

donde n es el número de electrones transferidos, F la constante de Faraday y E^0 los potenciales redox del aceptor ($SO_4^{\bullet-}$) y del donador (Ins) respectivamente.

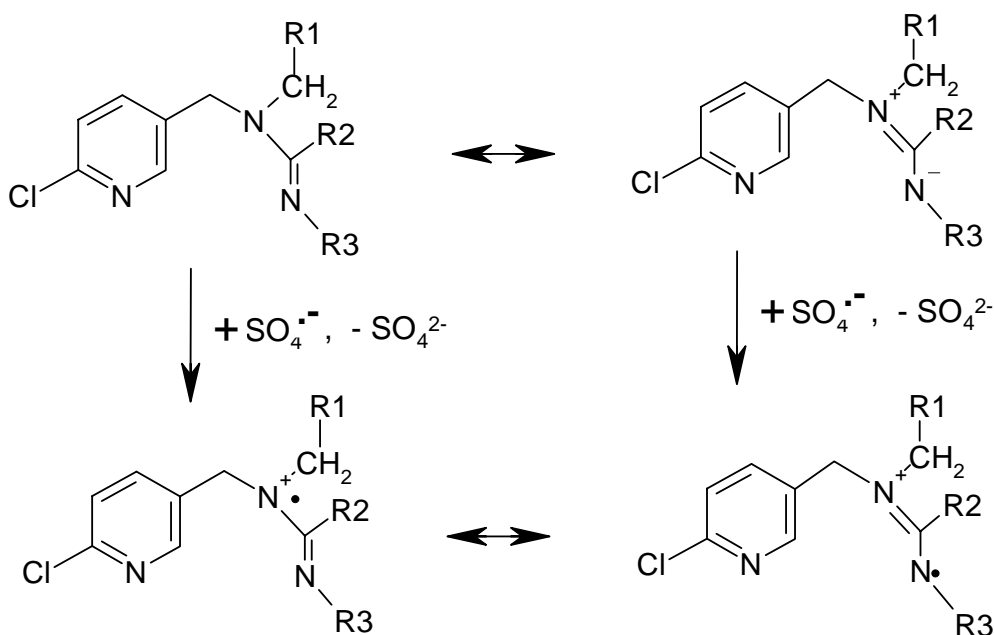
El potencial de reducción del radical sulfato se encuentra entre 2,5 y 3,1 V vs. ENH. Como se discutirá en el capítulo siguiente, es de esperar que los potenciales de reducción de los insecticidas sean menores a 1,2 V, y en consecuencia, $\Delta_{ET}G^0 < -96$ kJ/mol (considerando el menor potencial de reducción citado de radical sulfato). Por lo tanto, la reacción de transferencia electrónica de los insecticidas al radical sulfato se espera que sea termodinámicamente favorable.

Los valores obtenidos para las constantes de velocidad de insecticidas con $SO_4^{\bullet-}$ concuerdan con los valores de las constantes de transferencia electrónica de un nitrógeno amínico al radical sulfato [Padmaja y col., 1993].

El Esquema IV B muestra el mecanismo de transferencia electrónica propuesto para

los insecticidas teniendo en cuenta las estructuras resonantes de amidinas mencionadas [Aly y Nour-El-Din, 2008]

Esquema IV B. Reacción de transferencia electrónica desde el N de la molécula de amidina en IMD (con R1= -CH₂-, R2 = -NH-, y R3= -NO₂), ACT (con R1= -H, R2 = -CH₃, y R3= -CN) y THIA (con R1= -CH₂-, R2 = -S-, y R3= -CN).



Varios trabajos coinciden en que, si en la posición α al nitrógeno amínico existe un átomo de carbono con un hidrógeno, el mismo se pierde como H^+ a partir del catión radical y da lugar al radical α -aminoalquílico [Ito y col., 2009; Luke y col., 2003; Padmaja y col., 1993] que se encuentra estabilizado por la alta densidad electrónica en el par libre del nitrógeno adyacente. En el caso de los insecticidas es posible la pérdida de H^+ y la formación del radical α -aminoalquílico, a ambos lados del átomo de nitrógeno. Los radicales α -aminoalquilo muestran una absorbancia significativa alrededor de 500 nm y se conoce que dan lugar a reacciones de recombinación controladas difusionalmente en isoctano [Marriott y col., 1982] y a reacciones con oxígeno molecular [Hiller y Asmus, 1983; Lalevée y col., 2007] como se observó para los transientes de los insecticidas. Por lo tanto, se pueden identificar a los transientes observados con los radicales α -aminoalquílicos.

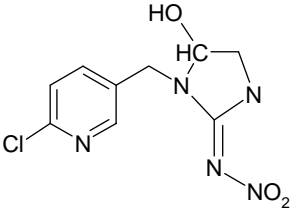
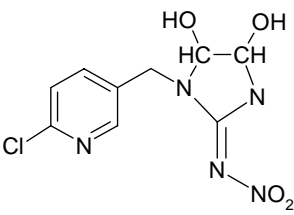
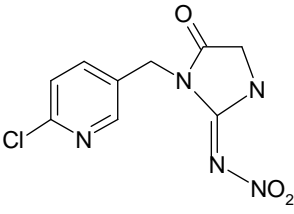
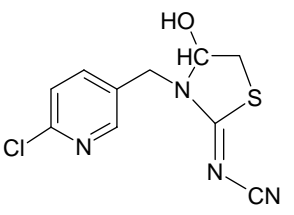
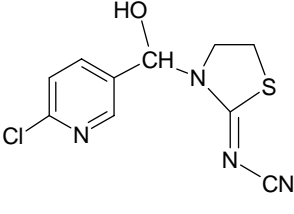
Para contribuir a la identificación de los transientes, se han calculado mediante TD-DFT los espectros de diferentes radicales α -aminoalquilos y los espectros de los radicales cationes en el nitrógeno amínico de los insecticidas. Estos resultados se muestran junto con los datos experimentales en las Figuras IV K, L y M. Se puede observar una muy buena coincidencia entre los espectros de los radicales α -aminoalquilos calculados en el heterociclo y los obtenidos experimentalmente, excepto para THIA. El transiente que se observa para THIA, puede ser interpretado como contribución de ambos radicales α -aminoalquilos: en el grupo metileno del heterociclo, **a** y en el metileno puente, **b**. La mejor coincidencia se obtiene con la combinación lineal de los espectros $0,9 \times \mathbf{a} + 0,5 \times \mathbf{b}$, (línea **c** en Figura IV M). Puede interpretarse que 1,8 moles de radicales α -aminoalquilos de THIA se encuentran situados en el grupo metileno del heterociclo por mol de radicales α -aminoalquilo situados en el metileno puente.

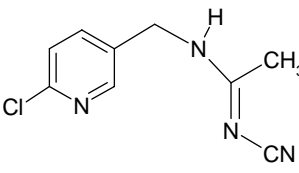
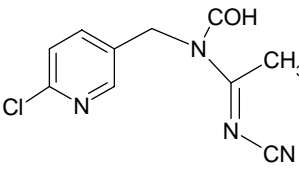
Los valores de k_{O_2} publicados para distintos radicales α -aminoalquilos se hallan entre $(0,04 - 3) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [Lalevée y col., 2007]. Por el contrario, para ACT y THIA se obtuvieron valores de $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, lo que sugiere que en estos compuestos el radical α -aminoalquilo es deficiente de electrones. Se ha sugerido que la interacción del electrón radicalario con el par de electrones en el nitrógeno en los radicales α -aminoalquilos da lugar a la absorción en el espectro hasta 500 nm y a una estabilización del radical [Marriott y col., 1982]. Es de esperar entonces que esta deslocalización del electrón en los radicales de THIA y ACT sea responsable de disminuir la constante de velocidad con oxígeno y la constante de recombinación.

VII-Identificación de productos estables de reacción de $SO_4^{\cdot -}$ con insecticidas

Los productos detectados mediante HPLC-MS para las soluciones saturadas con aire de insecticidas y radical $SO_4^{\cdot -}$ luego de 30 pulsos de luz se detallan a continuación en la Tabla IV G.

Tabla IV G. Productos de degradación formados luego de 30 pulsos de luz en presencia de $S_2O_8^{2-}$ de soluciones acuosas de IMD, THIA, y ACT. R_t son los tiempos de retención y m/z las relaciones masa/carga.

| <i>Insecticida</i> | <i>m/z</i> | <i>R_t(min)</i> | <i>Asignación de productos</i> | <i>Estructura</i> |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|--|---|
| IMD | 272(271+H ⁺) | 1,7 | N-[1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-4,5-dihidro-5-hidroxiimidazol-2-il]nitramida, compuesto 1 en Esq. IV C. |  |
| | 288(287+H ⁺) | 1,6 | N-[1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-4,5-dihidro-4,5-dihidroxiimidazol-2-il]nitramida, compuesto 3 en Esq. IV C. |  |
| | 270(269+H ⁺) | 2,1 | N-[1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-4,5-dihidro-5-oxoimidazol-2-il]nitramida, compuesto 2 en Esq. IV C. |  |
| THIA | 269(268+H ⁺) | 2,7 | 3-[(6-cloro-3-piridil-il)metil]-4-hidroxi-2-tiazolidinilideno cianamida compuesto 4 |  |
| | | | o 3-[(6-cloro-3-piridin-il)hidroxi-metil]-2-tiazolidinilideno cianamida, compuesto 5 en Esq. IV D. |  |

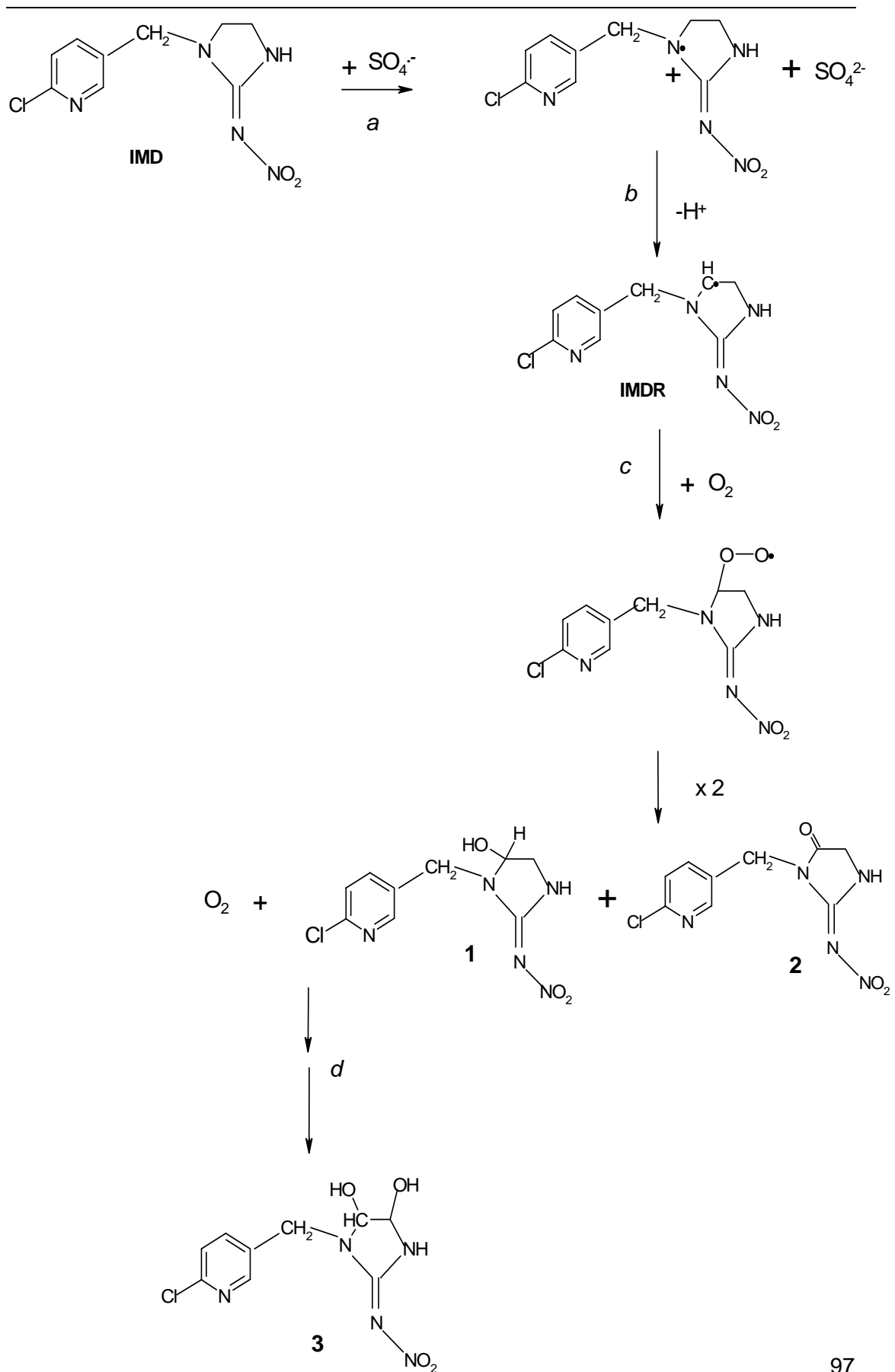
| | | | | |
|------------|--------------------------|-----|---|---|
| ACT | 209(208+H ⁺) | 2,6 | N-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N'-cianoacetamidina, compuesto 7 en Esq. IV E. |  |
| | 237(236+H ⁺) | 6,7 | N-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N'-ciano-N-formilacetamidina, compuesto 6 en Esq. IV E. |  |

Debido a que sólo se ha estudiado la formación de productos en soluciones saturadas en aire, los mecanismos que se plantean tienen en cuenta el oxígeno molecular.

Productos de oxidación de Imidacloprid: Teniendo en cuenta los espectros de los intermediarios obtenidos y los productos identificados se plantea el mecanismo de reacción que se muestra en el Esquema IV C. El mecanismo involucra la abstracción de un electrón por el radical sulfato para dar anión sulfato y el radical catión en el átomo de nitrógeno del IMD, vía de reacción *a*. Una posterior pérdida de H⁺ da lugar a la formación de un radical α -aminoalquilo (-HC-N<), vía *b*. Las propiedades reductoras de estos radicales α -aminoalquílicos [Hiller y Asmus, 1983] fueron enunciadas en el Capítulo III ya que también se forman en la reacción con radical OH[•], por un mecanismo de abstracción de hidrógeno [von Sonntag y Schuchmann, 1997]. La adición de oxígeno al radical alquílico genera un radical peroxilo, la combinación de dos de estos radicales da lugar a la formación del derivado monohidroxilado compuesto **1**, del derivado carbonílico, compuesto **2** (vía *c*) y oxígeno molecular. La oxidación en el metileno puente también daría lugar a la formación de productos con la misma relación m/z que los compuestos **1** y **2**, pero no se planteó la formación del radical α -aminoalquilo en el metileno puente ya que el espectro del intermediario calculado mediante TFD DT coincide con el del radical α -aminoalquilo en el heterociclo y no en el puente. Los mismos pasos que llevaron a la formación del compuesto **1** a partir del IMD, darían lugar a la formación del derivado

dihidroxiado, compuesto **3**, y otros compuestos más oxidados a partir del compuesto **1** (vía de reacción *d*).

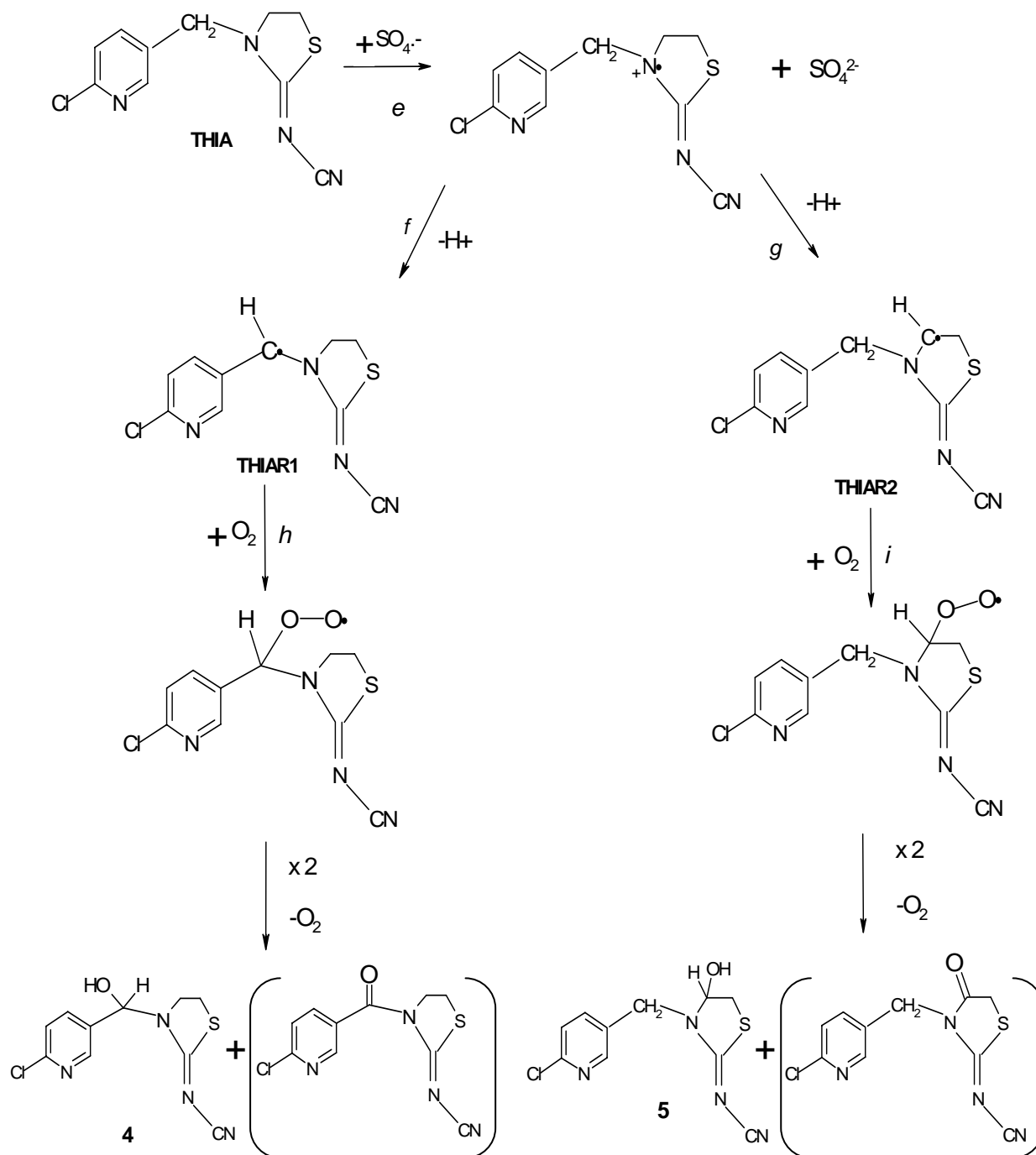
Esquema IV C. Principales vías de oxidación propuestas para la reacción de Imidacloprid con $\text{SO}_4^{\cdot-}$.



Productos de oxidación de Tiacloprid: Con la información obtenida para THIA, puede plantearse el Esquema IV D. En el caso de THIA, el espectro obtenido experimental puede ser explicado como una contribución de los espectros calculados mediante TD-DFT de los radicales formados tanto en el C *alfa* del heterociclo y el C *alfa* del puente metileno (ver Figura IV L). Por lo tanto, en el esquema de reacción se plantean ambas vías a partir del radical catión en el nitrógeno, vías *f* y *g* en el Esquema IV D.

La abstracción de un electrón por el radical sulfato da lugar a la formación del radical catión centrado en el nitrógeno del heterociclo (vía *e*). La posterior pérdida de protón da lugar a la formación del radical α -aminoalquílico en el metileno puente (vía de reacción *f*) o en el heterociclo (vía *g*). Estos radicales reaccionan con oxígeno molecular para dar peroxilos (vía *h* para el radical en el metileno puente y vía *i* para el radical en el heterociclo) que luego se recombinan para dar los productos hidroxilados **4**, **5** (3-[(6-cloro-3-piridil)metil]-4-hidroxi-2-tiazolidinilideno cianamida), y los productos carbonílicos correspondientes (no detectados), además de oxígeno. Los compuestos **4** y **5** poseen la misma relación masa/carga y deberían obtenerse en los cromatogramas dos picos el mismo valor de *m/z*. Sin embargo, no fue posible distinguir en el cromatograma ambos picos, y por ello, no se descarta la formación de ninguno de ellos.

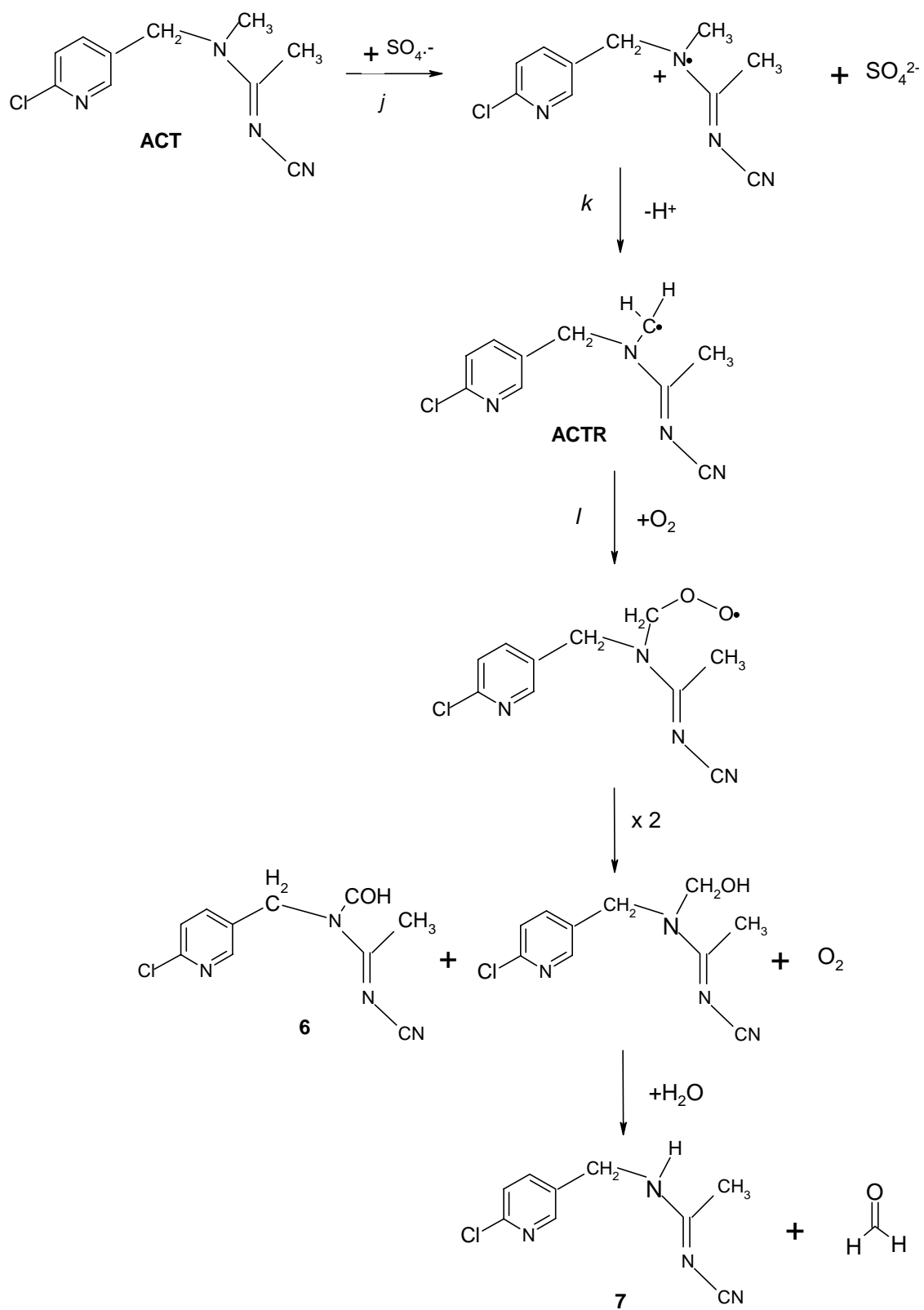
Esquema IV D. Vías primarias de oxidación por radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ según los productos observados para THIA. Los compuestos entre paréntesis se proponen pero no fueron observados.



Productos de oxidación de Acetamidrid: En el Esquema IV E se propone el mecanismo de reacción de ACT con radical sulfato. La formación del radical catión en el nitrógeno del heterociclo es el paso inicial de la reacción (vía *j*). La eliminación del protón da lugar al radical en el carbono α al nitrógeno (vía *k*), que luego de la

adición de oxígeno genera el radical peroxilo. Este radical se desproporciona (vía *I*) para dar el aldehído **6**; la hidroximetilamina (no detectada) y oxígeno molecular. Posteriormente, la hidroximetilamina se hidroliza para dar el ACT demetilado, compuesto **7**, y formaldehído; tal como se postuló en el Esquema III C para la reacción de ACT y radical OH[•].

Esquema IV E. Principales vías de oxidación observadas para Acetamidrid con radical sulfato.



En los mecanismos propuestos para la oxidación de los insecticidas se hallan involucrados radicales peroxilos, que absorben por debajo de 300 nm [von Sonntag y Schuchmann, 1997]. Sin embargo, debido a la fuerte absorción de las soluciones por debajo de 300 nm, estos radicales no pudieron ser detectados.

VIII-Conclusiones parciales

Debido a que los espectros teóricos calculados para los transientes de insecticidas coinciden con los de los radicales en el carbono *alfa* del heterociclo, para IMD y ACT, y como contribución del radical en carbono *alfa* del heterociclo y en el metileno puente para THIA, se presume que la pérdida de H⁺ del radical catión que se forma inicialmente en los tres insecticidas es un paso rápido en el mecanismo de reacción.

La formación del radical α -aminoalquilo podría darse por un mecanismo de abstracción de hidrógeno por parte del sulfato, sin embargo, debido a que las velocidades de reacción de los insecticidas son del mismo orden que las velocidades encontradas para la transferencia electrónica del par libre del nitrógeno de aminas sencillas al radical sulfato, se propone este mecanismo de reacción y no la abstracción de hidrógeno. Por otro lado, también se demostró que la variación de la energía libre para la transferencia de un electrón es negativa, y por lo tanto, este mecanismo de reacción es termodinámicamente posible.

No fue posible medir la toxicidad de las soluciones conteniendo los insecticidas y sus productos de oxidación con radical sulfato debido a la alta toxicidad generada por el anión peroxodisulfato remanente en la solución. Sin embargo, debido a que los intermediarios de reacción aquí observados no difieren de los encontrados para la reacción con radical hidroxilo, es esperable que no se produzca una detoxificación de las aguas conteniendo insecticidas y sus productos de oxidación primarios con radical sulfato.

Capítulo V

Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides con oxígeno singlete molecular y desactivación del triplete de rosa de bengala

Capítulo V. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides con oxígeno singlete molecular y desactivación del triplete de Rosa de Bengala.

I-Experimentos de láser flash fotólisis con detección de fosforescencia a 1270 nm

Para determinar la constante de velocidad de *quenching* total con oxígeno singlete k_t , fue conveniente preparar soluciones de los insecticidas en D₂O, tal como se comentó en el Capítulo II. Las trazas obtenidas fueron ajustadas a un decaimiento de primer orden de cuyo exponencial se obtuvo el tiempo de vida τ_Δ . El gráfico $1/\tau_\Delta$ vs. [Ins] (Ec I G) se muestra en la Figura V A para IMD, THIA y ACT.

$$\frac{1}{\tau_\Delta} = \frac{1}{\tau_\Delta^0} + k_t [\text{Ins}] \quad \text{Ec I G}$$

El valor de $\tau_\Delta^0 = 66 \mu\text{s}$ en D₂O se obtuvo de la ordenada al origen del mismo gráfico y coincide con el valor de literatura [Wilkinson y col., 1995]. Los valores de k_t para los tres insecticidas se obtuvieron de las pendientes de las regresiones lineales y se muestran en la Tabla V A.

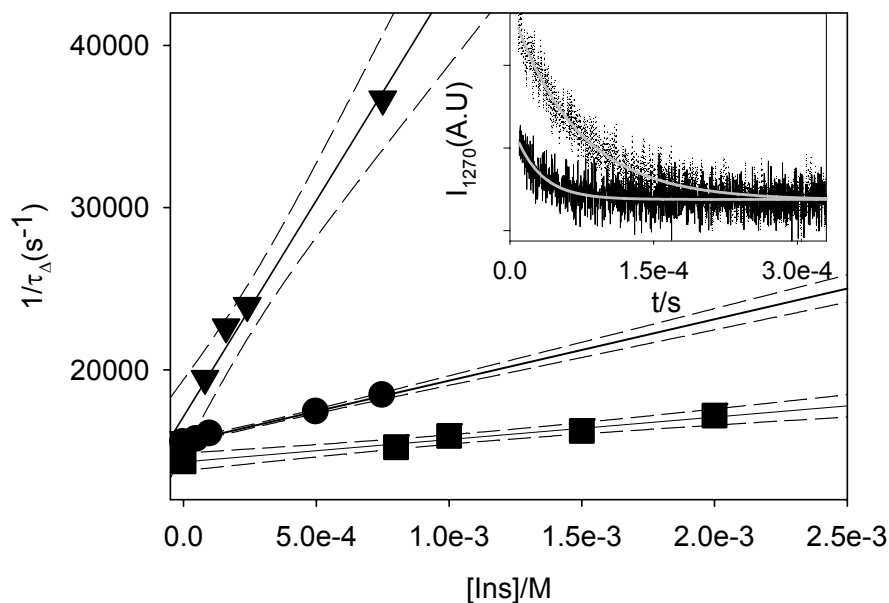
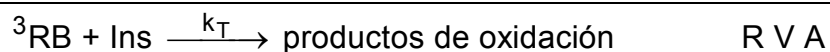


Figura V A. Gráfico de Stern-Volmer del *quenching* de fosforescencia a 1270 nm para soluciones en agua deuterada de THIA (▼), IMD (●) y ACT (■) a 25°C en presencia de Rosa de Bengala. Recuadro: Emisión de fosforescencia a 1270 nm, I_{1270} , obtenida en los experimentos de la figura principal con soluciones en ausencia y en presencia de $7,5 \times 10^{-4}$ M de THIA (trazas superior e inferior respectivamente). La línea sólida representa el ajuste de primer orden.

Tabla V A. Constantes absolutas de velocidad total, k_t , para la reacción de oxígeno singlete con los insecticidas estudiados, y constante de desactivación del triplete de Rosa de Bengala k_T .

| Insecticida | k_t ($M^{-1}s^{-1}$) | k_T ($M^{-1}s^{-1}$) |
|--------------|-----------------------------|---------------------------|
| Imidacloprid | $(5,5 \pm 0,5) \times 10^6$ | $(4,8 \pm 1) \times 10^7$ |
| Tiacloprid | $(3,9 \pm 1) \times 10^7$ | $(1,5 \pm 1) \times 10^8$ |
| Acetamiprid | $(1,3 \pm 1) \times 10^6$ | $(3,6 \pm 1) \times 10^7$ |

Las trazas de fosforescencia del oxígeno singlete muestran disminución en la intensidad de emisión inicial como puede verse en el recuadro de la Figura V A. Esto indica que el precursor de oxígeno singlete, el triplete del Rosa de Bengala (RB, ver R I F2), es capaz de reaccionar con los insecticidas, reacción R V A.



Con el fin de investigar la reacción del triplete de RB con los insecticidas, se realizaron experimentos de láser flash fotólisis irradiando soluciones de RB y los insecticidas libres de oxígeno.

II-Evaluación de la constante de desactivación del estado triplete del Rosa de Bengala

Se obtuvieron, en experimentos de láser flash fotólisis, trazas de absorción a 620 nm donde ${}^3\text{RB}$ posee su máximo de absorción. Del ajuste de los decaimientos de las trazas por una cinética de primer orden (Ec II I) puede obtenerse información del tiempo de vida del triplete en ausencia (τ^0) y en presencia (τ) de los insecticidas. La Figura V B muestra los gráficos de k_{app} vs. [Ins] para los tres insecticidas. De las pendientes de las líneas rectas se obtienen las constantes para la reacción del estado triplete de RB con los insecticidas, k_T que se muestran en la Tabla V A. Los valores de k_T pueden también calcularse a partir de los gráficos de emisión inicial de fosforescencia de oxígeno singlete en ausencia (P_0) y en presencia (P) de una dada cantidad de insecticida vs. la concentración del mismo, $P_0/P = 1 + k_T \times \tau^0 \times [\text{Ins}]$, donde τ^0 es el tiempo de vida de ${}^3\text{RB}$ en soluciones saturadas en aire en ausencia de insecticida. Los valores calculados de esta manera coinciden, dentro del error experimental, con los obtenidos a partir de la Figura V B.

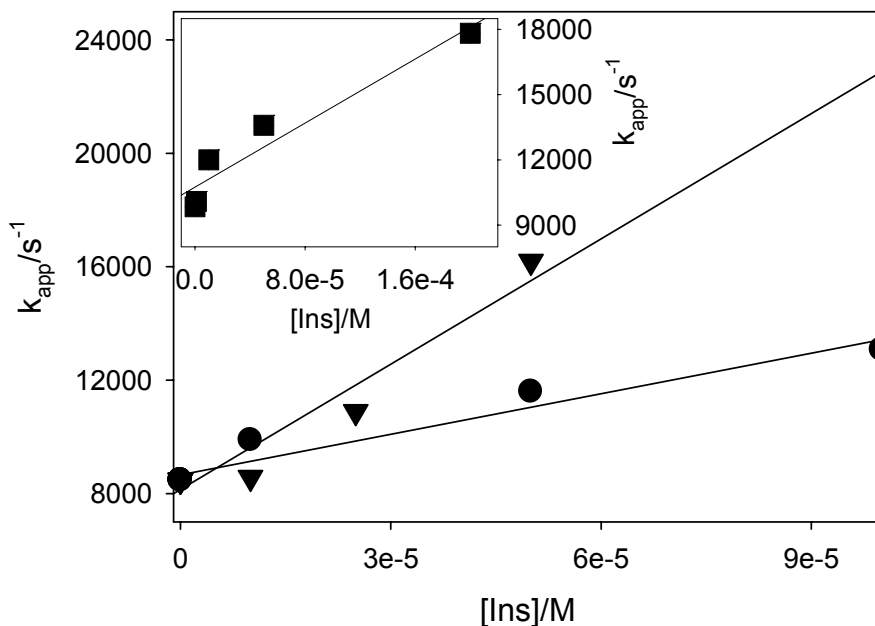


Figure V B. Constantes de reacción aparente, k_{app} , vs. [Ins] para soluciones acuosas saturadas en argón conteniendo 10 mg/L de RB y concentraciones variables de insecticidas: THIA (▼), IMD (●). Recuadro: Constante de reacción aparente, k_{app} vs. [Ins] para ACT (■) en presencia de 10 mg/L de RB.

La absorbancia inicial de ^3RB observada en diferentes experimentos no depende de la concentración de insecticida y, por lo tanto, puede descartarse cualquier reacción de los insecticidas con el estado excitado singlete del RB (^1RB), el precursor de ^3RB . Esta conclusión concuerda con el corto tiempo de vida < 1 ns de ^1RB [Lambert y Kochevar, 1997].

III- Experimentos de irradiación continua para la determinación de la constante de desactivación reactiva de oxígeno singlete

Los consumos de oxígeno molecular y de los insecticidas fueron medidos a diferentes tiempos de irradiación de soluciones acuosas inicialmente saturadas en aire conteniendo RB y los insecticidas.

Aunque las condiciones experimentales fueron optimizadas para minimizar la fotólisis de los insecticidas durante la irradiación de RB (ver Capítulo II) se realizaron experimentos en ausencia de RB. En la Figura V C se muestra los gráficos semilogarítmicos del consumo de los insecticidas en función del tiempo en presencia y

ausencia de RB. La disminución en la concentración de THIA y ACT es significativa sólo en presencia de RB, lo que indica que la contribución de la fotólisis de los insecticidas en estas condiciones es despreciable. Entonces, es posible obtener información de las constantes reactivas k_r a partir de estas pendientes. Sin embargo, el IMD presenta un consumo más rápido en ausencia de RB, indicando que la fotólisis del mismo es la vía de reacción principal en las condiciones experimentales usadas.

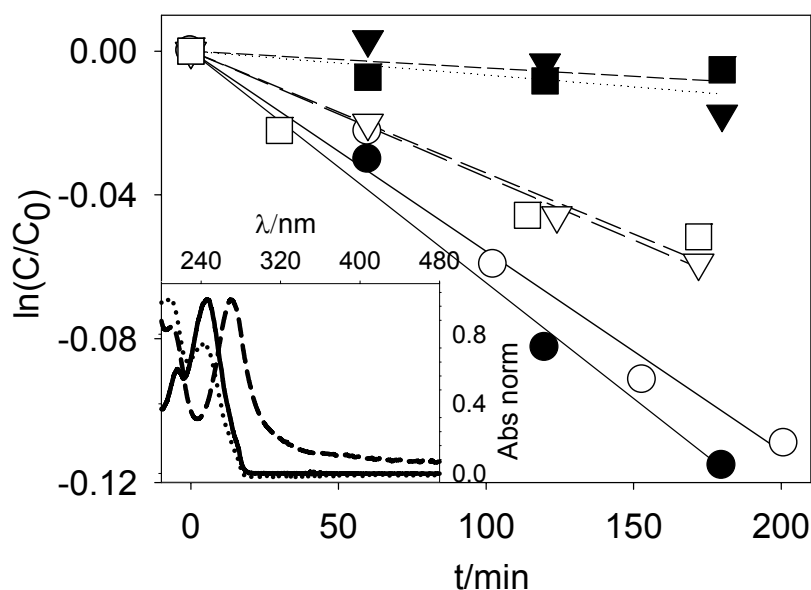


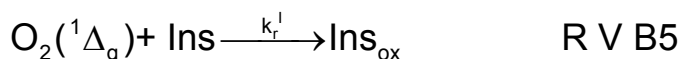
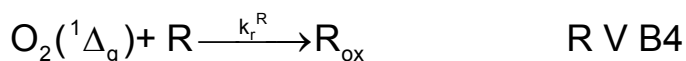
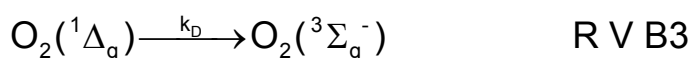
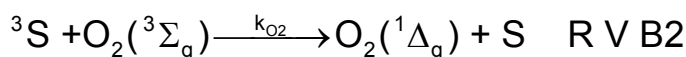
Figura V C. Gráficos semilogarítmicos de la concentración relativa de insecticidas vs. tiempo para soluciones acuosas saturadas en aire conteniendo $3,3 \times 10^{-4}$ M de IMD (●), THIA (▼) y ACT (■) irradiadas con luz de $\lambda > 480$ nm en ausencia (símbolos llenos) y presencia (símbolos vacíos) de 10 mg/L de RB. Recuadro: Espectros de absorción normalizados de los insecticidas, (---) IMD, (—) ACT y (···) THIA.

En el recuadro de la Figura V C se muestran los espectros de absorción normalizados de los tres insecticidas y puede observarse que IMD posee su máximo de absorción desplazado unos 30 nm más hacia el visible que ACT y THIA, y a diferencia de estos últimos, posee una absorbancia residual por encima de los 450 nm, rango donde fueron realizadas las experiencias de irradiación continua. Esta característica sería responsable del aumento de la fotólisis del IMD que se observa al irradiar con la luz

visible. Este comportamiento del IMD también se observó al inicio del Capítulo III donde se trató la fotólisis UV.

La pendiente del consumo de los insecticidas es proporcional a k_r si la reacción de O_2 ($^1\Delta_g$) con los insecticidas es la principal vía de consumo, sin embargo, este no es el caso de los insecticidas estudiados debido a la ocurrencia de la reacción con 3RB , R V A. La solución del sistema de ecuaciones diferenciales para el mecanismo propuesto en experimentos con insecticidas y con la referencia, lleva a una relación compleja para k_{app}^{ins}/k_{app}^R .

Se plantea nuevamente el mecanismo que involucra al estado excitado del sensibilizador (S) y al oxígeno singlete,



Considerando que en nuestras condiciones experimentales $k_D > k_r^R \times [R]$, $k_D > k_r \times [Ins]$, y $k_{O_2} \times [O_2] > k_T \times [Ins]$ se llega a la Ecuación V A (ver Apéndice para su deducción).

$$\frac{k_{app}^{ins}}{k_{app}^R} = \left(\frac{k_r}{k_r^R} + \frac{k_T \times k_D}{k_{O_2} \times [O_2] \times k_r^R} \right) \quad Ec V A$$

Los valores obtenidos de k_r a partir de la ecuación Ec V A tomando $k_{O_2} = 1,6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [Miller, 2005], $k_D = 2,5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ [Wilkinson y col., 1995], y $k_r^R = 1,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [Haag y

Hoigné, 1986] y los valores medidos para k_T (Tabla V A) son $(4 \pm 1) \times 10^7$ y $(9 \pm 6) \times 10^6$ $M^{-1}s^{-1}$ para THIA y ACT, respectivamente. Estos valores indican que el *quenching* de oxígeno singlete por los insecticidas es casi enteramente debido a la oxidación de los insecticidas (R V B5) y $k_t \cong k_r$. Por lo tanto, como los valores de k_t fueron medidos con mayor precisión que k_r , es recomendable estimar k_r con los valores de k_t .

IV-Identificación de productos estables y estequiometría de reacción con oxígeno singlete

La estequiometría de la reacción entre los insecticidas y el oxígeno singlete puede estimarse a partir de la pendiente del gráfico $[Ins]/[Ins]_0$ vs. $[O_2]/[O_2]_0$, siendo $[Ins]$ la concentración de los insecticidas a tiempo t y $[Ins]_0$ la concentración inicial (determinadas mediante HPLC) y $[O_2]$ la concentración de oxígeno disuelto a tiempo t y $[O_2]_0$ la concentración inicial (determinadas mediante el electrodo galvánico). En la Figura V D se muestran los gráficos para IMD (recuadro), THIA y ACT. El número de moléculas de oxígeno consumidas por molécula de IMD, THIA, y ACT son 1,9, 1,5 y 1,5 respectivamente, lo que indica un mecanismo de reacción complejo.

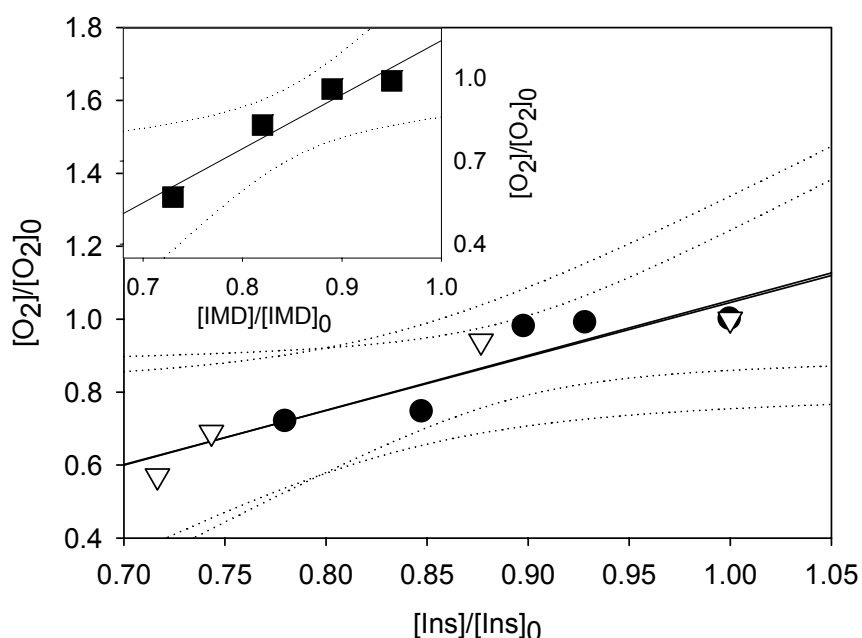


Figura V D. Gráfico de concentración relativa de oxígeno disuelto en función de concentración relativa a la inicial de insecticidas para ACT (●) y THIA (▽). Recuadro: Concentraciones

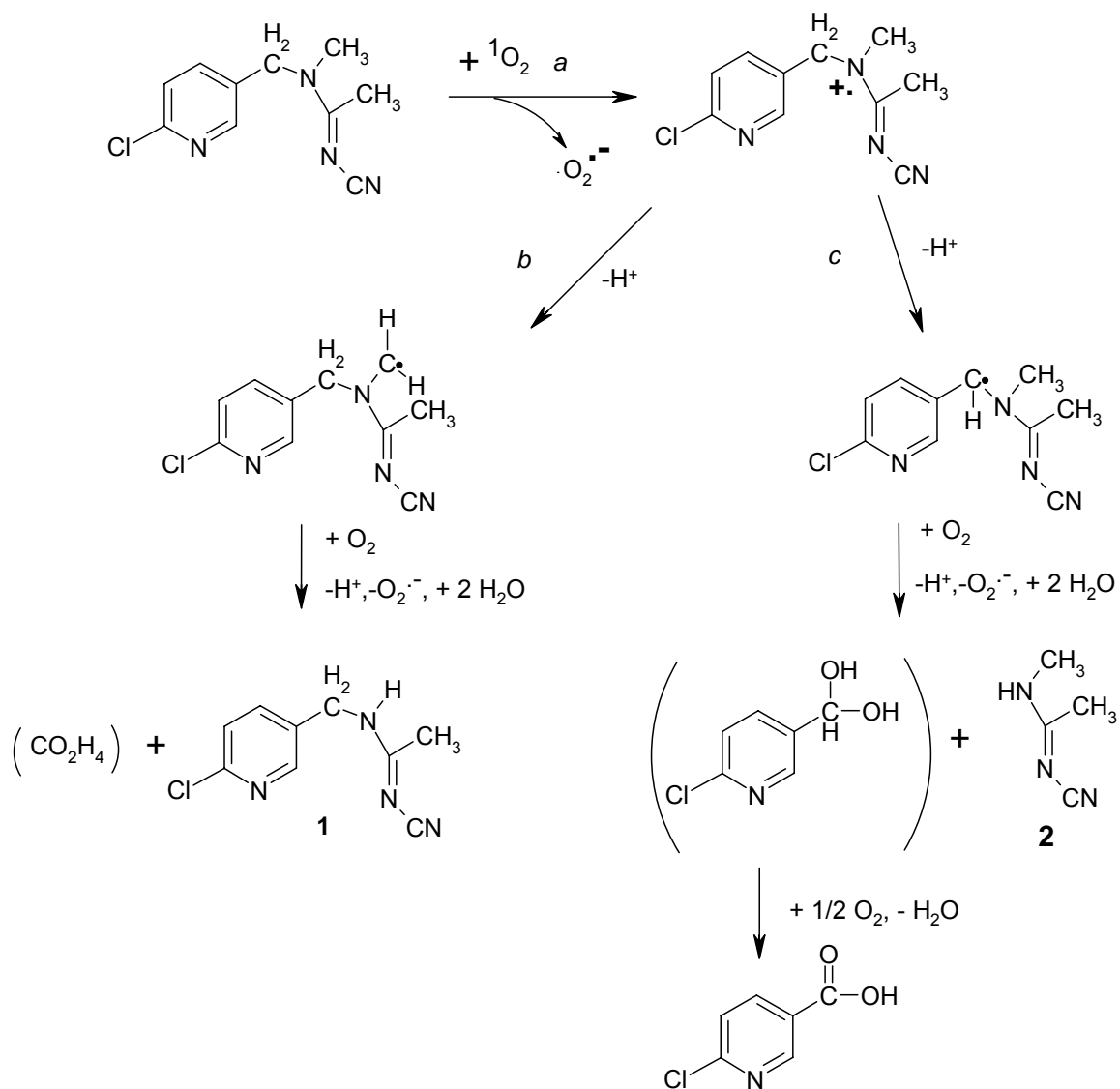
relativas de oxígeno disuelto vs. IMD. Las curvas punteadas muestra el intervalo de confianza del 95 %.

Los productos observados mediante GC-MS para los tres insecticidas fueron ácido 6-cloronicotínico y 6-cloronicotinamida. En el caso de ACT, también fue detectado N-1-[(6-cloro-3-piridil)metil]-N'-ciano acetamidina. Basados en los intermediarios detectados, se propone una vía para los primeros productos de oxidación con O_2 ($^1\Delta_g$) en los esquemas siguientes.

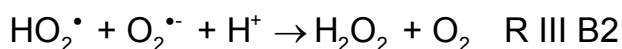
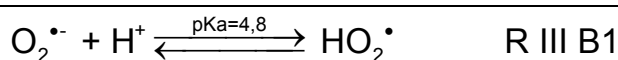
Productos de oxidación de ACT. Estos productos formados pueden ser explicados por una transferencia de carga que genera radicales aniones superóxido, $O_2^{\cdot-}$, y el radical catión de ACT (ver Esquema IV A, vía a) tal como se reportó para la reacción de O_2 ($^1\Delta_g$) con aminas sustituidas. La eliminación de H^+ [Das y col., 1987; von Sonntag y Schuchmann, 1997] produce un radical α -aminoalquílico, ya sea en el grupo metilo unido a la amina (vía b en Esquema IV A) o en el grupo metileno puente (vía c, Esq IV A). Se mencionó en los capítulos anteriores que los radicales α -aminoalquílicos ($-HC\cdot-N<$) poseen propiedades reductoras [Hiller y Asmus, 1983]. Son capaces de reducir entonces oxígeno molecular a radical superóxido [von Sonntag y Schuchmann, 1997] oxidándose a hidroximetilaminas luego de la adición de agua. Una hidrólisis posterior de estos compuestos lleva a la formación de aminas secundarias **1** y **2** en el Esquema V A, y a los hidratos de aldehído correspondientes (formaldehído y 6-cloronicotinaldehído, no detectados). En condiciones oxidantes, estos hidratos se oxidan a los ácidos equivalentes (fórmico y 6-cloronicotínico). Una oxidación más avanzada del compuesto **1** puede dar la formación de 6-cloronicotinamida. La naturaleza de los productos formados coincide con los observados para la reacción de oxígeno singlete con benzildimetil amina [Bacocchi y col., 2004].

El ataque del oxígeno singlete al ACT ocurre principalmente en el grupo amino de la molécula y no en el anillo piridina, como es de esperar por la baja reactividad reportada para $O_2(^1\Delta_g)$ con aminas sustituidas [Young y Brewer, 1976].

Esquema V A. Mecanismo para la reacción de ACT con $O_2(^1\Delta_g)$. Los compuestos estables entre paréntesis son propuestos, pero no han sido detectados.

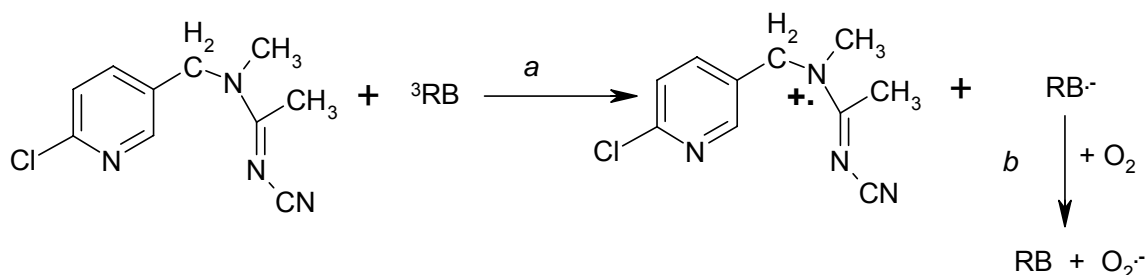


Tal como se mencionó en el Capítulo III, los radicales superóxido formados en estas reacciones se recombinan para dar oxígeno molecular y H_2O_2 , reacciones R III B1 y R III B2 [Gonzalez y col., 2004].



Según los resultados previos de este capítulo, el *quenching* de ^3RB por parte del insecticida también es una reacción importante en soluciones saturadas en aire y, por lo tanto, los productos observados deben poder explicarse a partir de esta reacción (R V A). El estado triplete de RB sufre reacciones de transferencia de carga, actuando como donador o aceptor de electrones [Lambert y Kochevar, 1997]. Ya que las aminas son excelentes donores de electrones [Darmanyan y col., 1998; Young y col., 1974], una transferencia de carga desde la amina al ^3RB también da lugar al radical catión de ACT, reacción *a* en Esquema V B. El radical anión de RB puede reaccionar con el oxígeno molecular para dar radical superóxido, reacción *b*. Las reacciones posteriores del radical catión de ACT en presencia de oxígeno son las mismas que las mostradas en el Esquema V A.

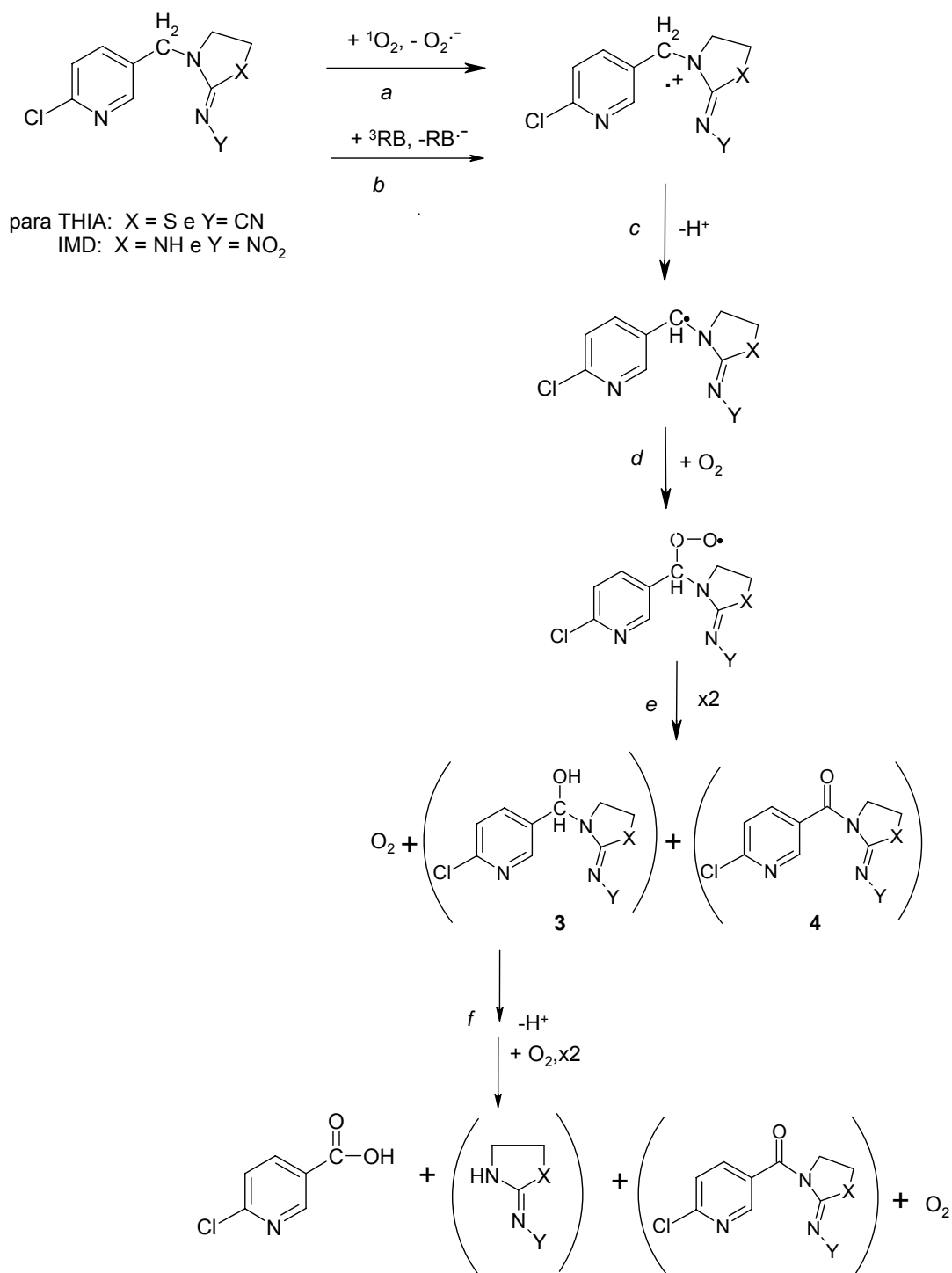
Esquema V B. Mecanismo de reacción de ACT y el triplete de Rosa de Bengala (^3RB).



Productos de oxidación de IMD y THIA. Ya que las reacciones de IMD y THIA con oxígeno singlete y ^3RB también llevan a la formación de ácido 6-cloronicotínico y 6-cloronicotinamida, se espera un mecanismo similar que el observado para ACT. El Esquema V C muestra la transferencia de carga que lleva a la formación del radical catión de IMD y THIA por la reacción con oxígeno singlete o con ^3RB (reacciones *a* y *b* en Esquema V C, respectivamente). Una posterior eliminación de H^+ genera un radical α -aminoalquílico en el metileno puente (reacción *c*). La adición de oxígeno al radical alquílico genera un radical peroxilo (vía *d*), la combinación de dos de estos radicales da lugar a la formación del derivado monohidroxilado compuesto **3**, del derivado

carbonílico, compuesto **4** y oxígeno molecular (vía e). Los mismos pasos que llevaron a la formación de los compuestos **3** y **4** a partir del IMD, darían lugar a la formación del ácido 6-cloronicotínico (vía de reacción f). La formación del radical α -aminoalquílico en el grupo metileno del heterociclo puede ser una vía posible de reacción que genera 6-cloronicotinamida luego de la oxidación de productos intermedios parcialmente oxidados. Sin embargo, como no se observaron otros intermedios con la técnica de GC-MS utilizada, estas reacciones no se muestran en el Esquema V C.

Esquema V C. Mecanismo de reacción de IMD y THIA con oxígeno singlete y ^3RB . Los compuestos estables en paréntesis son propuestos, pero no detectados.



La variación de energía libre estándar ΔG^0 para la reacción de transferencia electrónica que involucra el estado excitado triplete ^3RB (reacción a del Esquema V B y reacción b del Esquema V C) puede ser expresada según la Ecuación IV C, que

relaciona los potenciales redox E^0 del aceptor (RB) y del donador (I), y la energía del triplete de RB, ΔE_{00} en J mol^{-1} [Braslavsky, 2007]. El término de trabajo electrostático w tiene en cuenta la atracción coulombica en los productos ($\text{RB}^{\cdot-} / \text{I}^{\cdot+}$). Los símbolos e y N_A representan la carga del electrón y el número de Avogadro.

$$\Delta_{ET}G^0 = N_A \times ((e \times E^0(\text{I}^{\cdot+}/\text{I}) - e \times E^0(\text{RB}/\text{RB}^{\cdot-})) + w(\text{I}^{\cdot+}\text{RB}^{\cdot-})) - \Delta E_{00} \quad \text{Ec. IV C}$$

Debido a que el potencial de reducción para RB es $E^0(\text{RB}/\text{RB}^{\cdot-}) = -0,54 \text{ V vs. ENH}$ y que la energía de su estado triplete es $168,56 \text{ kJ mol}^{-1}$ [Lambert y Kochevar, 1997], cualquier *quencher* de ^3RB con un potencial de reducción menor que $1,23 \text{ V vs. NHE}$ puede sufrir una transferencia del *quencher* a ^3RB . Ya que se observó que ^3RB reacciona con los insecticidas es de esperar que los potenciales de oxidación de los mismos se encuentren por debajo de $1,2 \text{ V}$. El término w contribuye en forma exergónica a $\Delta_{ET}G^0$.

V-Toxicidad de las aguas contaminadas con los insecticidas y sus productos de oxidación con oxígeno singlete

La toxicidad de la mezcla de RB y los insecticidas en presencia de oxígeno fue determinada antes y después de 3 hs de irradiación. La tendencia que se observa para la toxicidades iniciales están de acuerdo con los valores de EC_{50} descritos en el Capítulo III: $\text{ACT} < \text{IMD} < \text{THIA}$ y se muestran en la Tabla V B. Las inhibiciones medidas luego de 3 horas de irradiación fueron mayores que las iniciales, 67% en todos los casos. Sin embargo, estas soluciones contienen $\sim 10 \text{ mg/L}$ de RB, cuyo intenso color pudo interferir en los ensayos de toxicidad. Por lo tanto, la inhibición de la luminiscencia de *V. fischeri* por una solución de esa concentración de RB fue determinada antes y después de 3 horas de irradiación. Aunque los valores de toxicidad obtenidos son significativos (ver Tabla V B), no toda la toxicidad observada para las soluciones de insecticidas tratadas puede atribuirse al RB. Entonces, se puede concluir que no se observa detoxificación de la solución de insecticidas por reacción con oxígeno singlete. Este resultado concuerda con lo visto en el Capítulo III para el radical hidroxilo, en cuyo mecanismo se observaron intermediarios similares.

Tabla V B. Valores de INH% para soluciones de insecticidas (80 mg/L) antes y después de la irradiación visible en presencia de 10 mg/L de RB.

| Compuesto | EC₅₀(CI_{95%}) en mg/L | Solución del sustrato (INH%) | Fotólisis visible del compuesto en presencia de RB (INH%) |
|------------------|--|-------------------------------------|--|
| IMD | 101 | 32 | 67 |
| THIA | 79 | 51 | 67 |
| ACT | 129 | 28 | 67 |
| RB | --- | 23 | 16 |

VI- Conclusiones parciales

Los valores calculados de las constantes de velocidad reactiva entre el O₂ (¹Δ_g) y los insecticidas, k_r , son aproximadamente tres órdenes de magnitud menores que los determinados para la reacción con el radical hidroxilo (ver Tabla III B, Cap III). Por el contrario, la concentración en estado estacionario de O₂ (¹Δ_g) en aguas naturales es varios órdenes de magnitud mayor que la de HO·, y en consecuencia, la reacción de los insecticidas con ¹O₂ es de importancia en sistemas acuáticos naturales. En aguas expuestas a la luz solar, la concentración de estado estacionario de oxígeno singlete es del orden de 10⁻¹² - 10⁻¹³ M [Zepp, y col 1977]. Los valores de k_r calculados indican que la vida media de ACT, IMD, y THIA, debida a la reacción con oxígeno singlete en reservorios acuáticos naturales se encuentra entre 7 horas y 21 días. Aunque la velocidad de reacción de ¹O₂ con los insecticidas sea baja, la vida media de los insecticidas en aguas naturales debido a estas reacciones son del mismo orden que las más reactivas con HO· y por lo tanto, ésta también es una vía de degradación abiótica significativa en aguas naturales.

Los insecticidas IMD, ACT, y THIA reaccionan con oxígeno singlete y el estado triplete del RB con constantes de velocidad en el rango de 1×10⁶ a 4 ×10⁷ M⁻¹ s⁻¹ para ¹O₂ y

de 4×10^7 a $1,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para ^3RB . Ambas reacciones involucran una transferencia de carga desde los insecticidas a $^1\text{O}_2$ o ^3RB , característica de las aminas terciarias. La reacción de los insecticidas con estados tripletes excitados posee consecuencias importantes a nivel ambiental, ya que la absorción de luz de 355 nm por la materia orgánica disuelta da lugar a estados tripletes con energías de $\sim 160 \text{ kJ mol}^{-1}$ [Bruccoleri y col., 1990; Bruccoleri y col., 1993]. Los resultados de este capítulo muestran que estos tripletes pueden iniciar en forma eficiente la degradación de los insecticidas en aguas contaminadas con muy baja concentración de oxígeno disuelto.

Capítulo VI

Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotinoides con radical carbonato

Capítulo VI. Estudio de la reacción de insecticidas cloronicotínoídes con radical carbonato.

I-Radical anión carbonato

Se realizaron fotólisis de soluciones conteniendo 0,025 M de $S_2O_8^{2-}$, 1 M de HCO_3^- saturadas en aire de pH $7,7 \pm 0,5$. Se observó en estos experimentos la formación de una especie que absorbe en el rango de longitudes de onda de 500 a 700 nm, el espectro tomado inmediatamente después del pulso de luz está de acuerdo con el publicado en literatura para el $CO_3^{\cdot-}$, y se muestra en la Figura VI A [Behar y col., 1970] [Czapski y col., 1999].

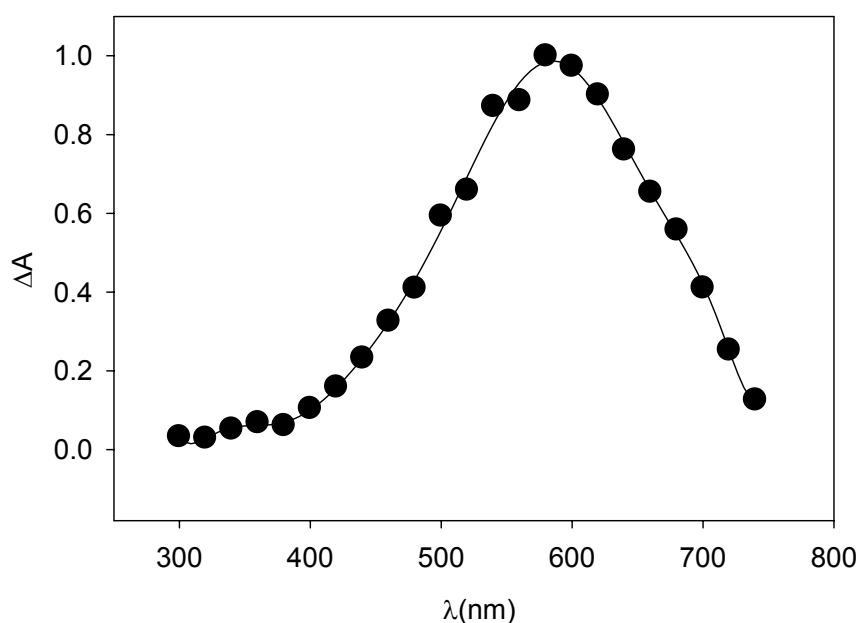


Figura VI A. Espectro del radical $CO_3^{\cdot-}$ formado 0,4 ms luego del pulso de luz sobre una solución acuosa conteniendo $S_2O_8^{2-}$ $2,5 \times 10^{-2}$ M, HCO_3^- 1M y pH 7,7.

A-Experimentos con piridinas monosustituidas

II-Constantes de velocidad de reacción de piridinas e iones piridinio

Se estudió la cinética y el mecanismo de la reacción de radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con 3-metoxipiridina (3-MeOPy), 3-metilpiridina (3-MePy), piridina (Py), 3-cloropiridina (3-ClPy) y 3-cianopiridina (3-CNPy).

La fotólisis de estas soluciones conteniendo 0,025 M de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, 1 M de HCO_3^- saturadas en aire en presencia de bajas concentraciones ($< 1 \times 10^{-4}$ M) de las piridinas sustituidas presenta trazas de absorción a longitud de onda de detección $\lambda > 500$ nm, cuyo espectro inmediatamente luego del pulso de luz también concuerda con el del radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ pero con velocidades de decaimiento mayores (ver recuadro de Figura VI B). La absorbancia experimental A puede ser ajustada a un decaimiento de orden mixto a la Ecuación II K (ver Capítulo II) donde el decaimiento de primer orden se debe a la reacción del radical carbonato con las piridinas. A partir de esta ecuación se obtiene información de la constante de velocidad aparente, k_{app} , que aumenta linealmente con la concentración de piridinas, tal como se muestra en la Figura VI B.

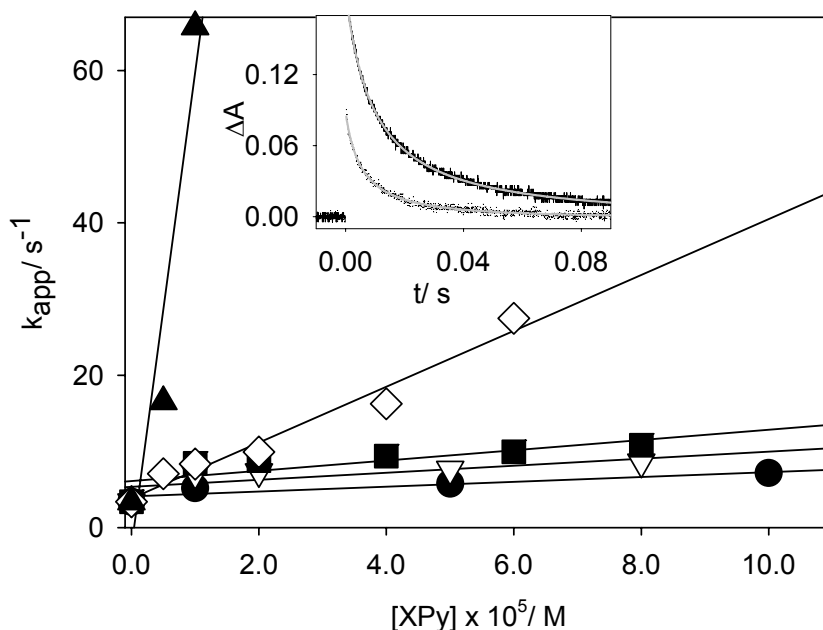


Figura VI B. Constantes de velocidad aparente en función de la concentración de piridinas para: (●) 3-CNPy, (▽) 3-ClPy, (■) Py, (◇) 3-MePy, (▲) 3-MeOPy. Recuadro: Perfiles de decaimiento a 600 nm para soluciones en ausencia (superior) y presencia (inferior) de 1×10^{-5} M de 3-MeOPy. Se muestran superpuestos los ajustes de orden mixto para cada curva.

Los pK_a 's de las piridinas sustituidas ya fueron expuestos en la Tabla IV A (Capítulo IV) y de acuerdo con ellos, los experimentos que se realizaron con carbonato a pH 7,7 dan información sobre la reacción de radicales $CO_3^{\cdot-}$ con las piridinas, R VI A. Los constantes absolutas obtenidas, $k_{C XPy}$, se muestran en la Tabla VI A.

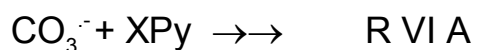


Tabla VI A. Valores de parámetros de Hammett y constantes de velocidad a pH 7,7 para la reacción de radical anión carbonato con las piridinas monosustituidas a 20±3°C.

| Sustituyente | σ_p^+ | k_{CXPy}/M^1s^{-1} |
|-------------------------|--------------|-----------------------------|
| CH₃O- | -0,78 | (1,0±0,1) x 10 ⁷ |
| CH₃- | -0,31 | (3,4±0,2) x 10 ⁵ |
| H- | 0,00 | (3,7±0,2) x 10 ⁴ |
| Cl- | 0,11 | (2,2±0,1) x 10 ⁴ |
| CN- | 0,66 | (1,5±0,2) x 10 ⁴ |

Tal como se estudió para la reacción de SO₄^{-•} con piridinas, se correlacionaron las constantes de velocidad obtenidas con el parámetro σ_p^+ de Hammett, Tabla VI A. El gráfico logarítmico de la constante de velocidad de radical carbonato con piridinas sustituidas en función de σ_p^+ se muestra en la Figura VI C. Se representa también el gráfico de Hammett para la reacción de carbonato con bencenos sustituidos [Chen y col., 1975; Umschlag y Herrmann, 1999].

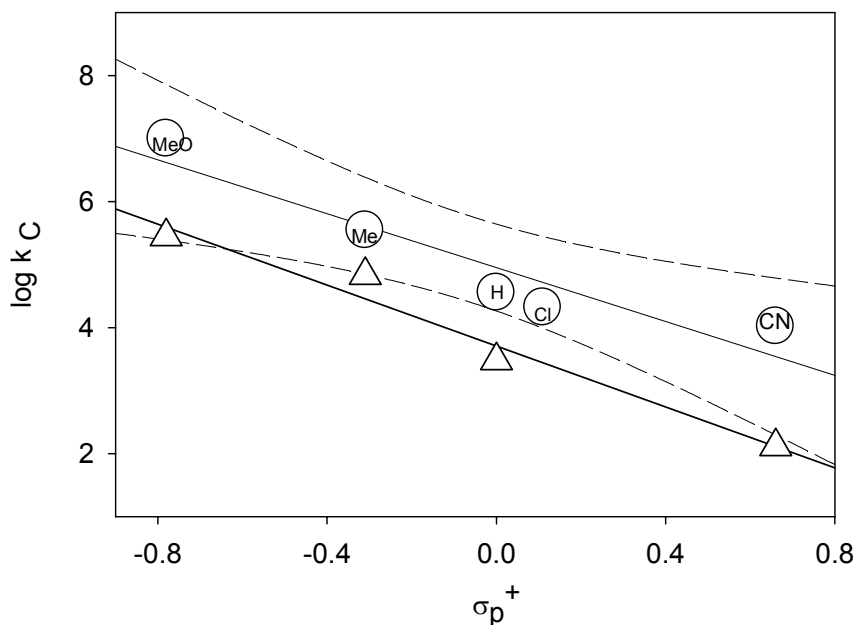


Figura VI C. Gráfico logarítmico de k_C vs. σ_p^+ para (○) piridinas 3.monosustituidas y (△) bencenos monosustituidos, excepto Cl. Las abreviaciones **H**, **Me**, **OMe**, **Cl** y **CN** representan a los sustituyentes hidrógeno, metilo, metoxi, cloro y ciano respectivamente. Las líneas sólidas representan la correlación lineal entre $\log k_C$ y σ_p^+ ($|r| = 0,88$ para piridinas y $|r| = 0,97$ para bencenos). Las curvas punteadas muestra el intervalo de confianza del 95 %.

El valor obtenido de la correlación lineal de Hammett de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ y piridinas es $\rho = -2,0 \pm 0,8$. La diferencia obtenida en los valores de ρ para la reacción de piridinas sustituidas entre el radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ($\rho = -1,1 \pm 0,3$) y el $\text{CO}_3^{\cdot-}$ ($\rho = -2,0 \pm 0,8$) puede explicarse debido a la mayor selectividad del radical carbonato en comparación con el sulfato [Anbar y col., 1966] y, en consecuencia, mayor pendiente en el gráfico de Hammett. A su vez, el valor de la pendiente para la reacción de piridinas con radical carbonato coincide, dentro del error experimental, con el obtenido en el gráfico de la Figura VI C a partir de datos de literatura para los bencenos sustituidos ($\rho = -2,4 \pm 0,8$).

Como se ha mencionado para el radical sulfato, un valor negativo de la constante de reacción, ρ indica una gran demanda electrónica en el centro de reacción, de lo que se puede concluir que la reacción involucra la generación de un complejo deficiente de electrones [Smith y March, 2007].

Sin embargo, a diferencia de lo observado para el radical sulfato, la reactividad del radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ es menor para la familia de los bencenos sustituidos que para las piridinas sustituidas lo que indicaría diferencias en el mecanismo de reacción.

III-Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con piridinas 3-sustituidas

Con el objetivo de caracterizar los radicales orgánicos formados en la reacción R VI A se irradiaron soluciones de pH 7,7 conteniendo 0,025 M $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, 1 M HCO_3^- , 1×10^{-4} M piridinas, saturadas en argón y aire, con una lámpara convencional de flash. Se observaron para todos los casos intermediarios en la zona de 300 a 640 nm. Debido a la forma de generación del $\text{CO}_3^{\cdot-}$ y a la considerable reactividad de estas piridinas con $\text{SO}_4^{\cdot-}$, estudiada en el Capítulo IV, fue necesario utilizar altas concentraciones de HCO_3^- , para asegurar la reacción R VI A y evitar la reacción de sulfato con piridinas. Tal como se comentó en el capítulo introductorio, el $\text{CO}_3^{\cdot-}$ posee un coeficiente de absorción alto, y por esta razón, en los experimentos realizados con todas las piridinas se observó la presencia de un transiente cuyo espectro coincide con el de este radical.

Para cada una de las piridinas sustituidas, se obtuvieron varios perfiles de decaimiento a diferentes longitudes de onda de detección en el rango de 300-640 nm. Las trazas de absorbancia se analizaron mediante un programa de regresión bilineal para obtener información del número de especies transientes. El análisis muestra que esta matriz puede describirse adecuadamente con dos especies absorbentes: un transiente que puede ser atribuido al radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ cuyo decaimiento da otro transiente de absorbancia mucho menor. Se muestra en el recuadro de la Figura VI D, los espectros resultantes de la regresión bilineal para 3-MeOPy.

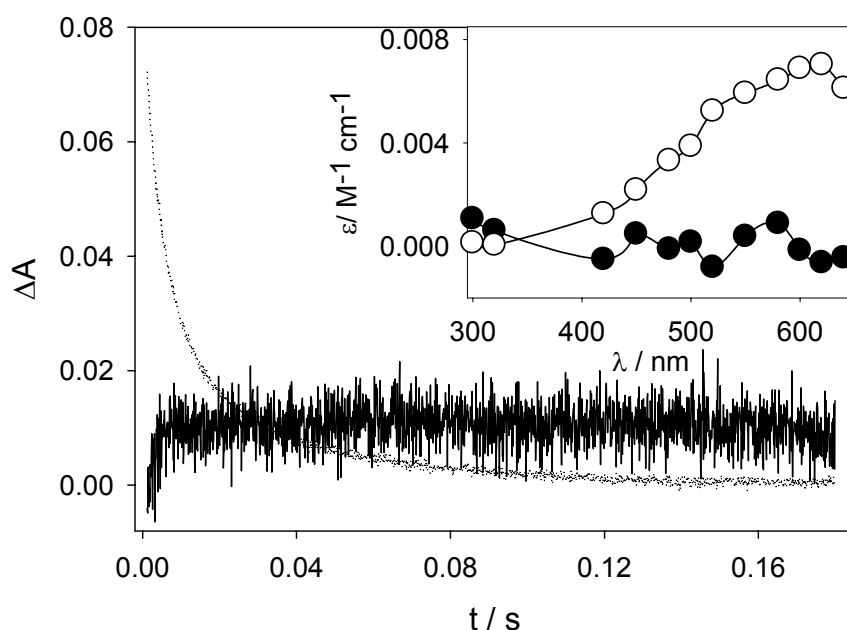


Figura VI D. Perfiles de concentración obtenidos por análisis bilineal de los transientes observados en soluciones saturadas en aire conteniendo 1×10^{-4} M de 3-MeOPy, 0,025 M de $S_2O_8^{2-}$ y 1 M de HCO_3^- a pH $7,7 \pm 0,5$. Recuadro: Espectro de absorción de los dos transientes observados en el experimento de la figura principal.

Tal como se observa para MeOPy, el espectro del transiente orgánico que se forma posee una absorbancia muy baja y no pueden determinarse sus máximos de absorción. Los perfiles de concentración calculados para todas las piridinas muestran que el transiente orgánico formado por decaimiento del $CO_3^{\cdot-}$, se mantiene en concentración baja y sin variación en el tiempo del experimento, por lo tanto, podría proponerse que se encuentra en estado estacionario. Esto implica que la velocidad de formación del transiente es más lenta que la velocidad de desaparición del mismo.

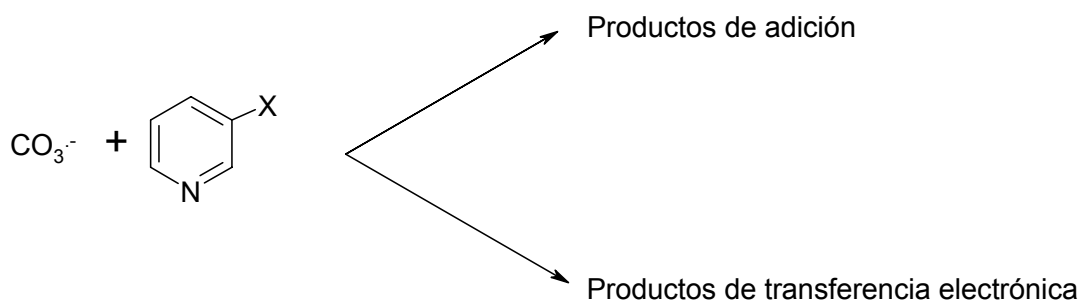
Se ha propuesto que el radical carbonato reacciona por adición a anillos aromáticos como bencenos monosustituídos [Chen y col., 1975] y a estructuras tipo benzoimidazol [Mazellier y col., 2002]. Sin embargo, otros trabajos no son concluyentes y plantean tanto la adición como la transferencia electrónica [Umschlag y Herrmann, 1999]. Si el radical carbonato reaccionara por adición a piridinas monosustituidas, debería esperarse la formación de hidroxiaDUCTOS (ver Esquema IV A, Cap IV) que poseen máximos de absorción en el rango 300-400 nm, dependiendo de la naturaleza del

sustituyente. Estos hidroxiaeductos decaen en tiempos 10^{-3} s, por lo que, de estar presentes, se encontrarían en estado estacionario.

Sin embargo, como se discutió anteriormente, la mayor reactividad de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con la familia de las piridinas en comparación con la de bencenos, no puede ser justificada por un mecanismo de adición. La mayor electronegatividad del nitrógeno de la piridina, en comparación con un carbono en el anillo de benceno, produce una densidad electrónica positiva en el anillo de la piridina y por lo tanto, cualquier reacción de adición electrofílica debería ser más lenta para el anillo heterocíclico.

Por ello, con la información que se cuenta hasta el momento el mecanismo de reacción de piridinas con carbonato permanece abierto a ambas posibilidades: la adición del radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ o la transferencia electrónica de piridinas al radical, tal como se muestra en el Esquema VI A y como también ha sido esbozado para bencenos sustituidos por Umschlag y Herrmann [Umschlag y Herrmann, 1999].

Esquema VI A. Mecanismo de reacción de piridinas 3- monosustituidas con radical carbonato.



IV- Identificación de productos estables de reacción

Los resultados que se obtengan en la determinación de productos de reacción mediante HPLC-MS permitirán determinar en forma fehaciente cuál es el mecanismo operante en la reacción de piridinas con $\text{CO}_3^{\cdot-}$. Durante la realización de estos ensayos con radical carbonato no se ha podido disponer del equipo HPLC-MS utilizado anteriormente durante el desarrollo de la tesis.

V-Conclusiones parciales

Debido a su gran selectividad, el radical carbonato reacciona preferentemente vía transferencia electrónica tal como se publicó para su reacción con compuestos nitrogenados como aminas alifáticas [Elango y col., 1985], indoles [Chen y Hoffman, 1974], y guanidina [Shafirovih y col., 2001].

Aunque se ha planteado la adición de radical carbonato a anillos aromáticos [Chen y col., 1975], trabajos más recientes establecen que pueden tener lugar tanto la adición-eliminación como la transferencia electrónica [Umschlag y Herrmann, 1999]. Por lo tanto, es necesario identificar los productos de reacción para poder establecer cuál es el mecanismo que tiene lugar con piridinas monosustituidas.

B- Experimentos con insecticidas cloronicotinoideas

VI-Constantes de velocidad de reacción de insecticidas con radical carbonato

Para determinar la constante de velocidad entre $\text{CO}_3^{\cdot-}$ y cada uno de los insecticidas, se irradiaron soluciones conteniendo concentraciones de insecticidas $\leq 6 \times 10^{-5}$ M, $0,025$ M de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ y 1 M de HCO_3^- , a pH $7,7 \pm 0,5$ ajustado con ácido perclórico.

Se observó la formación de un transiente en la zona de 500 a 700 nm, con velocidades de decaimiento mayores a medida que se incrementa la concentración de insecticidas, tal como se muestra en la Figura VI E para ACT. La absorbancia experimental se ajustó a un decaimiento de orden mixto,

$$A(\lambda, t) = \frac{a}{b(\lambda) \times \exp(a \times t) - c(\lambda)} + d(\lambda) \quad \text{Ec II K}$$

debido al decaimiento de segundo orden por recombinación de radicales carbonato y al decaimiento de primer orden por la reacción con el $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, con HCO_3^- , con H_2O y con los insecticidas, en caso de estar presentes en la solución.

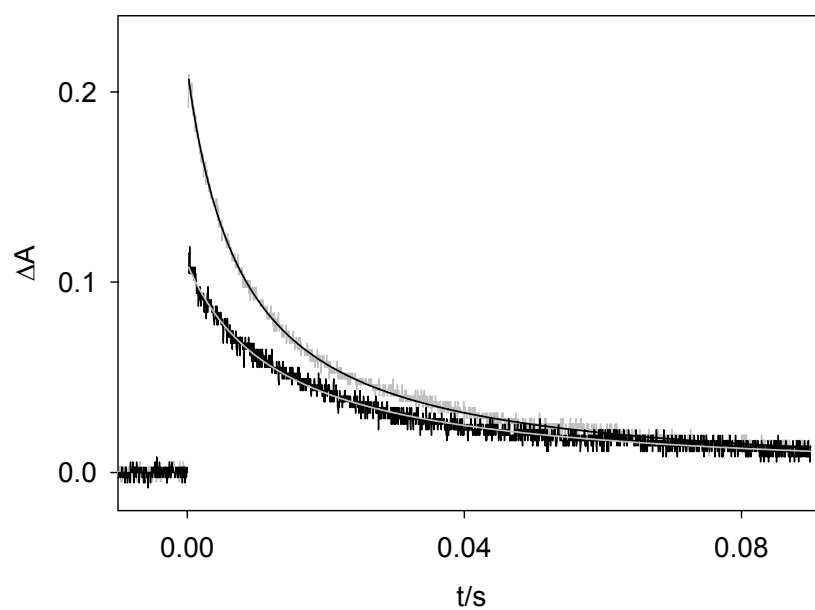


Figura VI E. Cambio de absorbancia obtenido a 600 nm para experimentos con soluciones acuosas de pH 7,7 en ausencia y en presencia de 2×10^{-5} M de ACT (trazas superior e inferior respectivamente). Se muestran superpuestos los ajustes de orden mixto para cada curva.

El gráfico de k_{app} , obtenido de este ajuste, en función de la concentración es lineal para los tres insecticidas y se muestra en la Figura VI F.

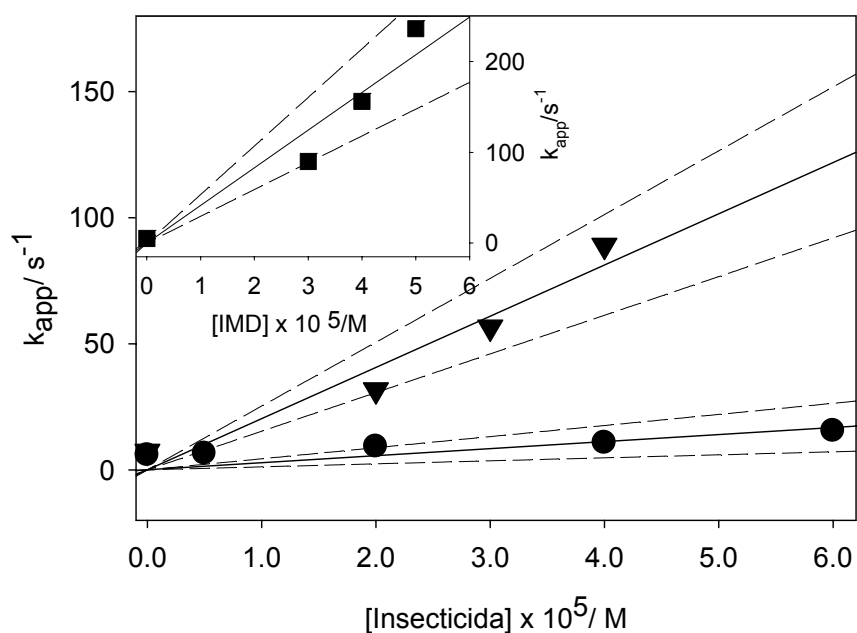


Figura VI F. Constantes de velocidad aparente en función de la concentración de insecticida para (▼) THIA y (●) ACT. Recuadro: Gráfico de constante de reacción aparente en función de la concentración de IMD. Las curvas punteadas muestra el intervalo de confianza del 95 %.

Las constantes de velocidad absoluta para las reacciones de radicales $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con los insecticidas se obtienen de las pendientes de las líneas rectas que se grafican en la Figura VI F y se muestran en la Tabla VI B.

Tabla VI B. Constantes de velocidad absoluta para los insecticidas con radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$ a pH 7,7 obtenida en experimentos de flash fotólisis con 0,025 M de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, 1 M de HCO_3^- y cantidades variables de insecticidas.

| <i>Insecticida</i> | $k(\text{CO}_3^{\cdot-})/ \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ |
|---------------------|--|
| <i>Imidacloprid</i> | $(4,1 \pm 1) \times 10^6$ |
| <i>Tiacloprid</i> | $(2,8 \pm 0,5) \times 10^5$ |
| <i>Acetamiprid</i> | $(1,5 \pm 1) \times 10^5$ |

Los valores obtenidos para estos insecticidas son del orden de los publicados para el herbicida atracina (1-cloro-3-etilamino-5-isopropilamino-2,4,6-triacina) [Huang y Mabury, 2000 b]; el fungicida carbendazim (metilbencimidazol-2-ilcarbamato) [Mazellier y col., 2002] y el herbicida fenuron (1,1-dimetil-3-fenilurea) [Mazellier y col; 2007].

VII-Radicales orgánicos formados en la reacción de $\text{CO}_3^{\cdot-}$ con insecticidas

Para caracterizar los radicales orgánicos formados en la reacción de radical carbonato con los insecticidas se irradiaron soluciones conteniendo $2,5 \times 10^{-2}$ M de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, 1 M de HCO_3^- y 2×10^{-4} M de insecticidas a pH 7,7, saturadas en argón o en aire. Se observó, para todos los casos, la formación de un transiente que absorbe en la zona de 500 a 700 nm, que coincide con el radical $\text{CO}_3^{\cdot-}$, y otro transiente con máximo de absorbancia entre 300 y 330 nm según el insecticida.

Para cada insecticida, se tomaron varios perfiles de decaimiento a diferentes longitudes de onda de detección en el rango 300-650 nm. Los decaimientos se analizaron mediante un programa de regresión bilineal para obtener información del número mínimo de especies. Este análisis muestra que los datos obtenidos para los tres insecticidas pueden ser descriptos por dos especies absorbentes: un transiente presente 0,08 s luego del pulso de luz cuyo espectro coincide con el $\text{CO}_3^{\cdot-}$, y cuyo decaimiento lleva a la formación de otro transiente. La Figura VI G muestra los espectros de las dos especies obtenidas (Figura principal) y los perfiles temporales de las mismas (recuadro) en los experimentos con ACT. Los espectros obtenidos para ensayos con IMD y THIA se exponen en las Figuras VI H y VI I respectivamente.

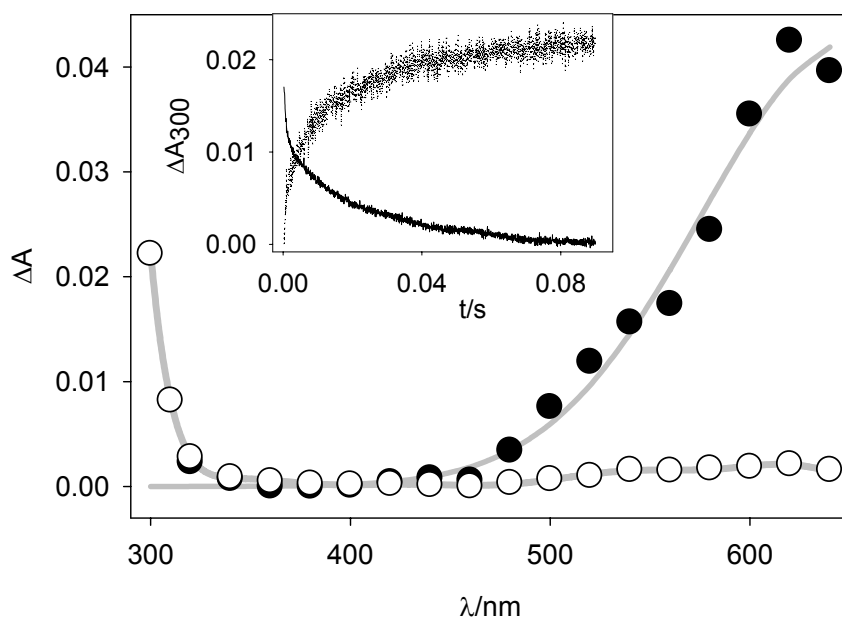


Figura VI G. Espectro de absorción de los transientes observado en experimento con 1×10^{-4} M de ACT $0,025$ M $S_2O_8^{2-}$; 1 M HCO_3^- en experimentos saturados en aire, (●) se atribuye al radical carbonato. Recuadro: Perfiles de absorbancia del transiente y el producto obtenido del análisis de los experimentos de flash fotólisis convencional en las condiciones experimentales de la figura principal.

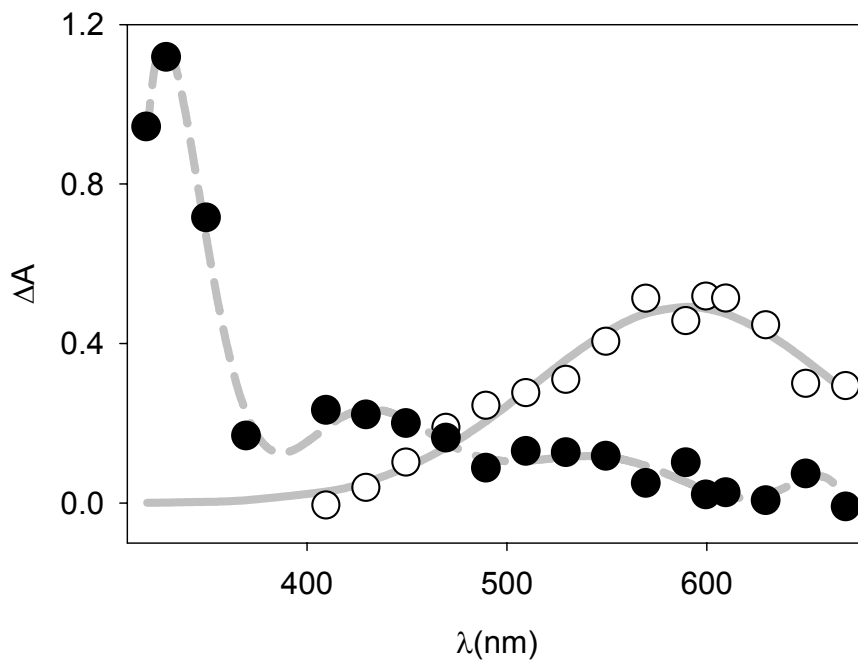


Figura VI H. Espectros de los transientes obtenidos 0,72 ms luego del pulso de luz en experimentos de flash fotólisis convencional con soluciones de 0,025M $S_2O_8^{2-}$; 1 M HCO_3^- y 2×10^{-4} M IMD, saturadas con aire. La especie representada (\circ) se atribuye al radical carbonato.

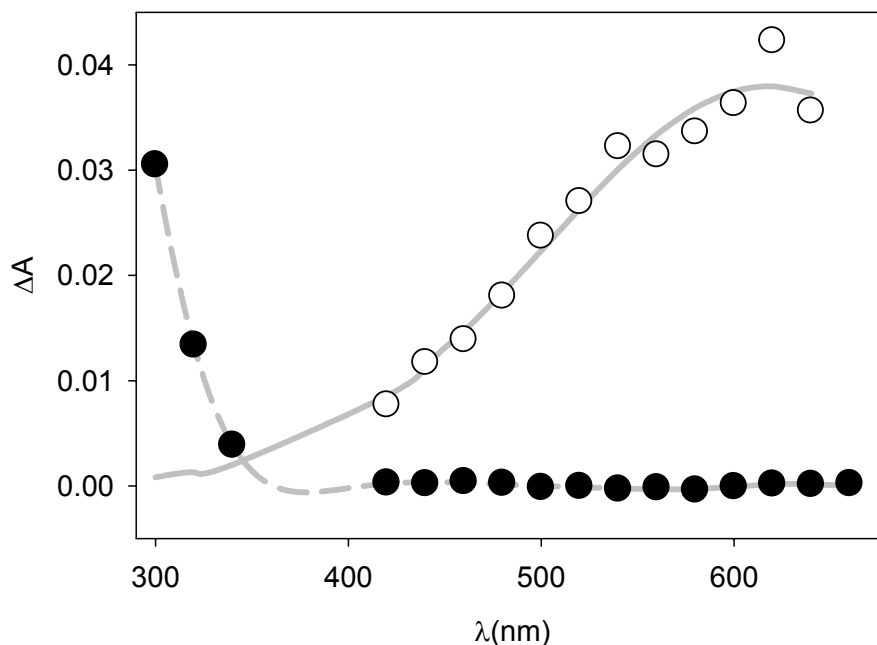


Figura VI I. Espectros de absorción del transiente atribuido a carbonato (○) y el producto (●) para experimentos de flash fotólisis convencional 1,1 ms luego del pulso de luz con soluciones de pH 7,7; 0,025M $S_2O_8^{2-}$; 1 M HCO_3^- y 2×10^{-4} M THIA, saturadas con aire.

En soluciones saturadas en argón y en aire, se observan espectros de absorción de transientes coincidentes. Los perfiles de concentración obtenidos muestran que el intermediario orgánico formado por el decaimiento del $CO_3^{\cdot-}$, no decae en el tiempo de detección del experimento.

Si se comparan los espectros de los transientes obtenidos para la reacción de insecticidas con radical $CO_3^{\cdot-}$ y $SO_4^{\cdot-}$ puede concluirse que los intermediarios orgánicos observados para radical carbonato no pueden ser atribuidos a los radicales en los carbonos α mencionados para el radical sulfato. Los tiempos de decaimiento de los radicales en carbono alfa resultan en todos los casos $< 0,01$ segundos, tiempo en el cual los radicales orgánicos de la reacción de insecticidas y carbonato se están formando. Dado que la velocidad de desaparición de los intermediarios orgánicos es mayor que la de su formación, se encuentran en estado estacionario, razón por la cual no es posible detectarlos mediante la técnica de absorción resuelta en el tiempo empleada en estos experimentos.

VIII- Identificación de productos estables de reacción

Quedan por identificar los productos formados en la reacción para poder concluir cual es el mecanismo por el que ocurre el ataque de carbonato a los insecticidas. Como se mencionó anteriormente, durante la parte final de este trabajo, no se pudo disponer del equipo HPLC-MS utilizado para la identificación de los productos.

IX- Conclusiones parciales

La reacción de transferencia electrónica entre nitrógenos amínicos y carbonato ha sido propuesto por otros autores para aminas alifáticas [Elango y col., 1985], para anilinas [Elango y col., 1984] y para guanina [Shafirovich y col., 2001]. El cálculo de la energía libre para la transferencia electrónica desde los insecticidas al radical carbonato $\Delta_{ET}G^0$ puede realizarse con la Ecuación IV C (ver Capítulo IV).

$$\Delta G_{ET}^0 = -n \times F \times [E^0(\text{CO}_3^{\bullet-} / \text{CO}_3^{2-}) - E^0(\text{Ins}^{\bullet+} / \text{Ins})] \quad \text{Ec IV C}$$

Considerando que los potenciales de reducción de los insecticidas sean menores a 1,2 V, como se mencionó en el capítulo anterior, y que el potencial de reducción del radical carbonato es 1,78 V vs. ENH se puede estimar que $\Delta_{ET}G^0 < -56$ kJ/mol. En consecuencia, resultan reacciones termodinámicamente favorables.

Si se considera que la transferencia electrónica tiene lugar entre los insecticidas y radical $\text{CO}_3^{\bullet-}$, una vía de reacción probable es la formación del radical catión en el nitrógeno amínico seguido de pérdida de un protón para dar un radical alfa-amino alquílico. Tal como se discutió en los capítulos anteriores, estos transientes decaen más rápido que el $\text{CO}_3^{\bullet-}$, y por lo tanto, se encontrarían en estado estacionario, es decir, en muy bajas concentraciones y desaparecerían en tiempos del orden del tiempo de vida del radical carbonato.

Sin embargo, el tiempo de vida de los intermediarios detectados para la reacción de insecticidas con $\text{CO}_3^{\bullet-}$ es mayor al del radical $\text{CO}_3^{\bullet-}$. Por ello, podemos concluir que las especies observadas corresponden a productos estables de reacción. La identificación de los mismos mediante cromatografía acoplada a espectrometría de masa permitirá confirmar esta hipótesis.

Parte C

Conclusiones

Conclusiones

Capítulo VII. Conclusiones generales

Los insecticidas IMD, THIA y ACT en solución acuosa reaccionan con las especies oxidantes; radicales hidroxilo, sulfato y carbonato, y las especies excitadas oxígeno singlete y triplete del Rosa de Bengala mediante mecanismos de reacción similares a pesar de sus diferencias estructurales. En estas reacciones de oxidación la molécula piridínica presente en estos insecticidas resulta inerte, y el ataque ocurre preferencialmente en el heterociclo y el metileno puente que une la molécula central y el anillo de piridina. En particular, se ha demostrado que la posición α al nitrógeno amínico de la molécula central es la posición más fácilmente oxidada, Figura VII A.

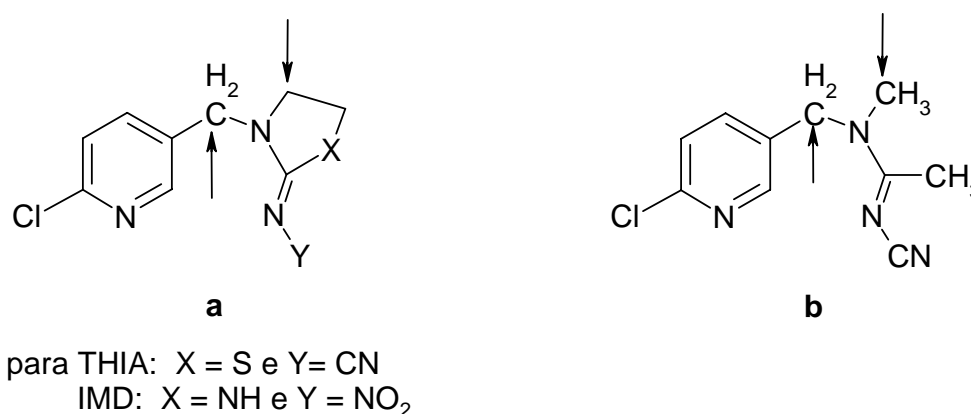


Figura VII A. Estructuras de los insecticidas a) IMD y THIA y b) ACT. Las posiciones marcadas, α al nitrógeno amínico, son las más lábiles de la molécula al ataque de los oxidantes estudiados en los tres casos.

Las velocidades de reacción de los insecticidas con los radicales oxidantes varían desde velocidades del orden difusional para el radical hidroxilo; a velocidades del orden de 10^8 - 10^9 M⁻¹s⁻¹ para el radical sulfato y 10^5 a 10^6 M⁻¹s⁻¹ para el radical carbonato. Las velocidades de transferencia electrónica con las especies excitadas oxígeno singlete y triplete del rosa de bengala son del orden de 10^6 a 10^8 M⁻¹s⁻¹.

La fotólisis de los insecticidas, tanto por luz UV como por luz visible, ha sido estudiada y resulta de mayor importancia para el IMD que para THIA y ACT. Para este insecticida la reacción de fotólisis UV da lugar a la pérdida del grupo terminal nitro en el heterociclo, a diferencia de las reacciones de oxidación.

Los intermediarios propuestos para las reacciones con los oxidantes son radicales α -aminoalquílicos ($-\dot{C}H-N<$). En el caso del radical OH^\cdot , los aminoalquílicos se forman por abstracción de hidrógeno del carbono α al grupo amino por parte del OH^\cdot . En los otros casos, la reacción inicial es una abstracción electrónica del par libre del nitrógeno amínico para dar el radical catión ($-H_2C-N^+<$). En todos los casos se ha demostrado que esta transferencia electrónica es termodinámicamente favorable.

Las reacciones entre piridinas monosustituidas y radicales sulfato y carbonato dieron información sobre intermediarios y velocidades de reacción de oxidación de los anillos piridínicos, que contribuyeron a determinar el mecanismo de reacción de los insecticidas cloronicotinoides. El ataque del anillo piridínico por radicales sulfato se produce por adición de radical al anillo, y adición de agua y posterior eliminación del ácido (sulfato ácido o bicarbonato, según corresponda) para generar radicales hidroxihexaciclodienilos de las piridinas. El mecanismo de reacción con radical carbonato aún debe establecerse. Comparando estos resultados con los espectros de los intermediarios y productos estables de los insecticidas con estos radicales, se confirma que la reacción con los cloronicotinoides no ocurre en el anillo piridínico.

Se observó, tanto para la reacción con radicales como con estados excitados, la formación de productos oxidados en el heterociclo, siendo los productos primarios aquellos oxidados en el carbono α al nitrógeno amínico. También se han observado los productos oxidados en carbonos β al nitrógeno y oxidación en el nitrógeno unido al grupo ciano (THIA y ACT) o nitro (IMD). Sólo con oxidaciones más severas se observaron productos de ruptura como el ácido 6-cloronicotínico.

Las condiciones experimentales utilizadas, donde las concentraciones de radicales y especies excitadas fueron similares a las encontradas en aguas naturales, no produjeron una disminución significativa del carbono orgánico total por lo que permitieron detectar los productos primarios de oxidación. La formación de estos productos intermediarios no

disminuyó la toxicidad de las aguas contaminadas en ensayos con la bacteria *Vibrio fischeri*, demostrando que los intermediarios de reacción acumulados poseen una toxicidad comparable a la de los insecticidas de partida. Un mayor grado de oxidación de los insecticidas a ácido 6-cloronicotínico resulta en una disminución de toxicidad de las aguas contaminadas.

De los resultados obtenidos con radical sulfato, puede concluirse que la utilización de $S_2O_8^{2-}/UV$ como tecnología de oxidación *in situ*, sólo es efectiva para la detoxificación de aguas contaminadas con insecticidas cloronicotinoides si el tratamiento se prolonga hasta obtener conversión significativa a productos de ruptura como el ácido 6-cloronicotínico.

El reemplazo de la molécula de 6-cloropiridina en los insecticidas por una estructura más lábil al ataque de los oxidantes podría resultar en un mayor grado de oxidación y una ruptura más sencilla de la molécula. De esta manera, se disminuiría la acumulación de intermediarios tóxicos durante las reacciones de oxidación producidas por especies reactivas naturales. De hecho, la empresa Bayer ha desarrollado desde el año 2001 insecticidas de la familia con anillos distintos de la 6-cloropiridina, como por ejemplo, Clothianidin [C(E)-N-[(2-Cloro-5-tiazolil)metil]-N'-metil-N''-nitroguanidina [Jeschke y col., 2003] (Figura VII B)

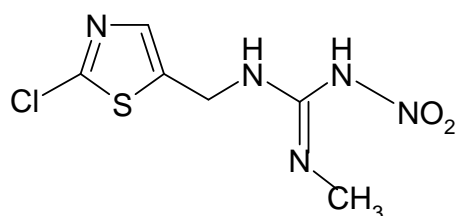


Figura VII B. Estructura del insecticida Clothianidin.

Este insecticida posee la estructura nitroguanidina acoplada a un residuo tiazólico, similar al que posee el THIA. Según los resultados obtenidos en esta tesis dicha estructura resultaría más reactiva que el anillo piridínico frente a las especies estudiadas, ya que se observó que el anillo tiazolidínico es lábil a estas oxidaciones. Por otro lado, la literatura reciente muestra que el Clothianidin es más selectivo frente a insectos y posee un poder insecticida similar o mayor que sus antecesores según el organismo blanco del que se trate [Ihara y col., 2006; Tomizawa y Casida, 2005]. Otro insecticida donde el anillo de

piridina fue reemplazado ha sido el Thiamethoxam,(4H-1,3,5-Oxadiazin-4-imina, 3-[(2-cloro-5-tiazolil)metil]tetrahydro-5-metil-N-nitro-) precursor de Clothianidin, con un heterociclo oxigenado y mayor actividad insecticida que IMD [Maienfisch y col 2001].

El presente trabajo de tesis podría ampliarse al estudio de las reacciones de oxidación en medio acuoso de estos insecticidas de segunda generación donde la estructura piridínica ha sido reemplazada enfatizando la evaluación de la toxicidad de los intermediarios de reacción que ha sido un punto crítico en el caso de IMD, THIA y ACT.

Apéndice

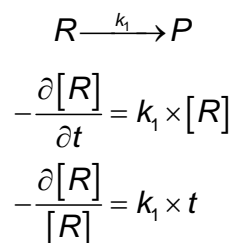
Apéndice

Ecuaciones utilizadas para el ajuste de las señales

En el Capítulo II se mostraron las ecuaciones utilizadas para el análisis de las señales obtenidas en experimentos resueltos en el tiempo. Se obtendrán estas ecuaciones II I, II J y II K a partir de las ecuaciones diferenciales de velocidad.

Cinética de primer orden

Se plantea la siguiente reacción donde R es el reactivo, P el producto y k_1 la constante de primer orden:



Integrando la ecuación entre condiciones iniciales y un tiempo t dado,

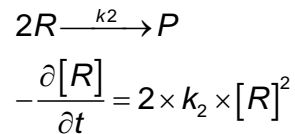
$$\ln\left(\frac{[R]_t}{[R]_0}\right) = -k_1 \times t$$
$$\frac{[R]_t}{[R]_0} = e^{-k_1 \times t}$$
$$[R]_t = [R]_0 \times e^{-k_1 \times t}$$

Dividiendo ambos miembros por $\varepsilon \times l$, teniendo en cuenta la Ley de Lambert y Beer, $A = [R] \times \varepsilon \times l$ y agregando el término $d(\lambda)$ para tener en cuenta la absorbancia de especies de vida larga:

$$A(\lambda, t) = A(\lambda, 0) \times e^{-k_1 \times t} + d(\lambda) \quad \text{Ec II I}$$

Cinética de segundo orden

Se plantea la ecuación que sigue con R, el reactivo, P el producto y k_2 la constante de velocidad de segundo orden:



Integrando la ecuación entre condiciones iniciales y un tiempo t dado,

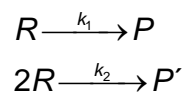
$$\frac{1}{[R]_t} - \frac{1}{[R]_0} = 2 \times k_2 \times t$$
$$[R]_t = \frac{1}{2 \times k_2 \times t + \frac{1}{[R]_0}}$$

Multiplicando por $\varepsilon \times l$,

$$A(\lambda, t) = \frac{1}{\frac{2 \times k_2 \times t}{\varepsilon \times l} + \frac{1}{A(\lambda, 0)}} \quad \text{Ec II J}$$

Cinética de orden mixto

Se plantean en este caso las ecuaciones siguientes con R, el reactivo, P y P' los productos y, k_1 y k_2 , como se describen anteriormente:



La velocidad de desaparición de R puede ser descrita como contribución de ambos procesos,

$$-\frac{\partial[R]}{\partial t} = k_1 \times [R] + 2 \times k_2 \times [R]^2$$

$$\frac{\partial[R]}{[R](k_1 + 2k_2[R]^2)} = -\partial t$$

Al integrar la ecuación anterior entre concentraciones iniciales y un tiempo t dado se obtiene:

$$\int \frac{d[R]}{[R](k_1 + 2k_2[R]^2)} = -\int dt$$

$$\frac{1}{k_1} \times \left[\ln \left(\frac{[R]_t}{k_1 + 2k_2[R]_t} \right) - \ln \left(\frac{[R]_0}{k_1 + 2k_2[R]_0} \right) \right] = -t$$

Reordenando y aplicado a ambos términos la función exponencial se llega a:

$$R_t = \frac{k_1}{\left(\frac{k_1}{R_0} + 2k_2 \right) \times e^{k_1 t} - 2k_2}$$

Multiplicando los términos por $\varepsilon \times l$ para obtener una expresión en absorbancia se llega a la ecuación buscada:

$$A(\lambda, t) = \frac{k_1}{\left(\frac{k_1}{\Delta A_0} + \frac{2k_2}{\varepsilon \times l} \right) \times e^{k_1 t} - \frac{2k_2}{\varepsilon \times l}} \quad \text{Ec II K}$$

Deducción de la expresión para la relación de los rendimientos cuánticos de fotólisis de los insecticidas

Sabiendo que el rendimiento cuántico de fotólisis ϕ_{λ}^A de una sustancia absorbente A a una dada longitud de onda λ puede escribirse:

$$\phi_{\lambda}^A = \frac{-d[A]}{I_a dt}$$

Donde $-d[A]/dt$ es la velocidad de desaparición del reactivo A e I_a es la intensidad de luz absorbida. La velocidad de desaparición del reactivo A puede escribirse como el producto de la constante de velocidad aparente, k_{UV}^A y la concentración del reactivo [A]. A su vez la intensidad de luz absorbida es $I_a = I_0 \times (1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [A]})$

$$\phi_{\lambda}^A = \frac{k_{UV}^A \times [A]}{I_0 \times (1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [A]})}$$

Si se relacionan las expresiones para los reactivos *A* y *B* se llega a la expresión:

$$\frac{\phi_{\lambda}^A}{\phi_{\lambda}^B} = \frac{k_{UV}^A \times [A]}{I_0 \times (1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [A]})} \times \frac{I_0 \times (1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [B]})}{k_{UV}^B \times [B]}$$

Considerando las intensidades de luz incidente y las concentraciones de las sustancias *A* y *B* iguales se llega a la expresión

$$\frac{\phi_{\lambda}^A}{\phi_{\lambda}^B} = \frac{k_{UV}^A}{(1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [A]})} \times \frac{(1 - 10^{-\varepsilon \times l \times [B]})}{k_{UV}^B}$$

Considerando los coeficientes de absorción de los insecticidas estudiados, mostrados en la Tabla III A, y las concentraciones utilizadas en los experimentos de fotólisis [Ins] = 3,3 × 10⁻⁴ M se obtienen

$$\frac{\phi_{254}^{THIA,ACT}}{\phi_{254}^{IMD}} \cong \frac{k_{UV}^{THIA,ACT}}{k_{UV}^{IMD}}$$

Deducción de la ecuación para la constante de velocidad de reacción de iones piridinio con radical sulfato

Para el cálculo de la constante de velocidad entre el radical SO₄^{-•} y los iones piridinio XPyH⁺ se utilizó la Ecuación IV A.

$$k_{XPyH^{+}} = (s - k_{XPy}) \times \frac{K_a}{[H^{+}]} + s \quad \text{Ec IV A}$$

Esta ecuación se obtiene de plantear la velocidad de reacción aparente como la suma de contribuciones: la velocidad de reacción de piridinas con constante de velocidad *k*_{XPy} y la de iones piridinio XPyH⁺, con constante de velocidad *k*_{XPyH⁺},

$$k_{app} = k_{XPy} \times [XPy] + k_{XPyH^+} \times [XPyH^+]$$

Reemplazando la concentración de iones piridinio por la expresión obtenida de plantear el equilibrio ácido-base se obtiene:

$$k_{app} = \left\{ k_{XPy} + k_{XPyH^+} \times \left[\frac{[H^+]}{K_a} \right] \right\} \times [XPy] \quad (1)$$

Donde la expresión entre corchetes es la pendiente del gráfico k_{app} vs. $[XPy]$, s .

También se puede expresar que la constante aparente se relaciona con la concentración analítica de piridina, $C_{Py} = [XPy] + [XPyH^+]$.

$$k_{app} = s \times C_{Py} = s \times \{ [XPy] + [XPyH^+] \}$$

Y reemplazando nuevamente por la expresión de $[XPyH^+]$ se llega a:

$$k_{app} = s \times [XPy] \times \left\{ 1 + \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right) \right\} \quad (2)$$

Igualando las expresiones para k_{app} (1) y (2) se obtiene:

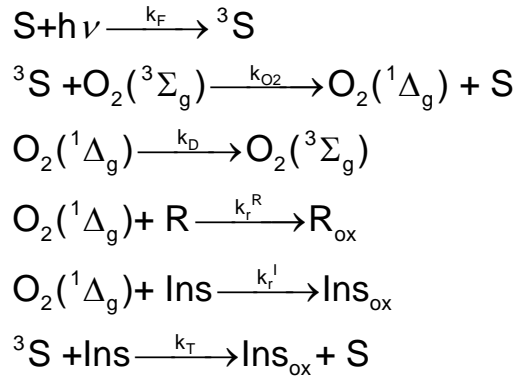
$$s \times \left\{ 1 + \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right) \right\} - k_{XPy} = k_{XPyH^+} \times \left(\frac{[H^+]}{K_a} \right)$$

Y reordenando se llega a:

$$k_{XPyH^+} = (s - k_{XPy}) \times \frac{K_a}{[H^+]} + s \quad \text{Ec IV A}$$

Deducción de la ecuación para la constante de velocidad reactiva del oxígeno singlete

Teniendo en cuenta las reacciones que se muestran a continuación y que fueron planteadas en el Capítulo I y V se obtendrá la ecuación para la constante de velocidad reactiva k_r^I del insecticida.



Planteando las ecuaciones diferenciales de velocidad y asumiendo estado estacionario para $[{}^1O_2]$ en ensayos con la referencia (R) y el insecticida (Ins) se obtienen respectivamente:

$$\begin{aligned}[{}^1O_2]_{ss}^R &= \frac{k_{O_2} \times [{}^3S]^R \times [O_2]}{k_r^R \times [R] + k_D} \\ [{}^1O_2]_{ss}^{Ins} &= \frac{k_{O_2} \times [{}^3S]^{Ins} \times [O_2]}{k_r^{Ins} \times [Ins] + k_D}\end{aligned}$$

Si se desarrollan las ecuaciones diferenciales para el triplete del sensibilizador 3S y se plantea el estado estacionario, se obtienen las siguientes expresiones:

$$\begin{aligned}[{}^3S]_{ss}^R &= \frac{k_F}{k_{O_2} \times [O_2]} \\ [{}^3S]_{ss}^{Ins} &= \frac{k_F}{k_{O_2} \times [O_2] + k_T [Ins]}\end{aligned}$$

Reemplazando estas expresiones en las de $[{}^1O_2]_{ss}$ llega a:

$$\left[{}^1\text{O}_2 \right]_{ss}^R = \frac{k_F}{k_r^R \times [R] + k_D}$$

$$\left[{}^1\text{O}_2 \right]_{ss}^{Ins} = \frac{k_{O_2} \times k_F \times [O_2]}{(k_r^{Ins} \times [Ins] + k_D) \times (k_{O_2} [O_2] + k_T [Ins])}$$

Si se desarrollan las ecuaciones diferenciales de velocidad para la desaparición de la referencia y del insecticida se obtienen las siguientes ecuaciones :

$$-\frac{\partial [R]}{\partial t} = \frac{k_r^R \times k_F \times [R]}{k_r^R \times [R] + k_D}$$

$$-\frac{\partial [Ins]}{\partial t} = \frac{k_r^{Ins} \times k_{O_2} \times k_F \times [O_2] \times [R] \times [Ins]}{(k_r^{Ins} \times [Ins] + k_D) \times (k_{O_2} [O_2] + k_T [Ins])} + \frac{k_T \times k_F \times [Ins]}{(k_{O_2} [O_2] + k_T [Ins])}$$

Con los datos de literatura de las constantes k_D , k_{O_2} , la concentración de oxígeno molecular disuelto ($2,5 \times 10^{-4}M$), las concentraciones usadas de insecticida y referencia, y la constante calculada k_T pueden proponerse las aproximaciones $k_D \gg k_r^R [R]$; $k_D \gg k_r^{Ins} [Ins]$; $k_{O_2} \gg k_T [Ins]$. Las constantes de velocidad aparente para la referencia y el insecticida dan como resultado:

$$k_{app}^R = \frac{k_r^R \times k_F}{k_D}$$

$$k_{app}^{Ins} = \frac{k_r^{Ins} \times k_F}{k_D} + \frac{k_T \times k_F}{k_{O_2} \times [O_2]}$$

La relación entre estas dos últimas expresiones proporciona la ecuación buscada:

$$\frac{k_{app}^{Ins}}{k_{app}^R} = \frac{k_r^{Ins}}{k_r^R} + \frac{k_T \times k_D}{k_{O_2} \times [O_2] \times k_r^R} \quad \text{Ec V A}$$

Referencias

Referencias

- [Abele y col., 2003] E. Abele, R. Abele, E. Lukevics, Pyridines oximes: synthesis, reactions and biological activity.(Review), *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2003, 39, 7, 825-865.
- [Albert y Serjeant, 1971] A. Albert, E.P. Serjeant, *The Determination of Ionization Constants*, 2nd Edition, Chapman and Hall, London, 1971.
- [Aly y Nour-El-Din, 2008] A.A. Aly and A. M. Nour-El-Din, Functionality of amidines and amidrazones, *Special Issue Reviews and Accounts ARKIVOC*, 2008, (i) 153-194.
- [Anbar y col., 1966] M. Anbar, D. Meyerstein, P. Neta, The Reactivity of Aromatic Compounds toward Hydroxyl Radicals, *The Journal of Physical Chemistry*, 1966, 70, 8, 2660-2662.
- [Anthony y col., 1982] M.C. Anthony, W. L. Waltz, P. G. Mezey, Ab initio SCF MO calculations on the reactions of OH radical with pyridine and pyridinium ion., *Can. J. Chem.*, 1982, 60, 813-819.
- [Augusto y col., 2002] O. Augusto, M. G. Bonini, A. M. Amanso, E. Linares, C. C. X. Santos, And S. L. De Menezes, Nitrogen Dioxide And Carbonate Radical Anion:Two Emerging Radicals In Biology, *Free Radical Biology & Medicine*, 32, 9, 841–859, 2002
- [Azrague y col., 2005] K. Azrague, E Bonnefille, V. Pradines, V. Pimienta, E. Oliveros, M. T. Murettea and F. Benoit-Marquie, Hydrogen peroxide evolution during V-UV photolysis of water, *Photochem Photobiol Sci.*, 2005, 4, 5, 406-408
- [Baciocchi y col., 2004] E. Baciocchi, T. Del Giacco, and A. Lapi, Oxygenation of Benzyldimethylamine by Singlet Oxygen. Products and Mechanism, *Organic Letters*, 2004, 6, 25, 4791-4794.
- [Barone y Cossi, 1998] V. Barone, M. Cossi, Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model, *J. Phys. Chem. A*, 1998, 102, 1995-2001.
- [Barrette y col., 1984] W. C. Barrette, H. W. Johnson Jr., D. T. Sawyer. Voltammetric evaluation of the effective acidities (pKa') for Broensted acids in aprotic solvents. *Anal. Chem.*, 1984, 56, 1890-1898.
- [Baxendale y col., 1968] J. H. Baxendale, P. L. T. Bevan and D. A. Stott, Pulse radiolysis of aqueous thiocyanate and iodide solutions, *Trans. Faraday Soc.*, 1968, 64, 2389-2397.
- [Behar y col., 1970] D. Behar, G. Czapski, and I. Duchovny, Carbonate Radical in Flash Photolysis and Pulse Radiolysis of Aqueous Carbonate Solutions, *The Journal of Physical Chemistry*, 1970, 74, 10.
- [Behar y col., 1972] D. Behar, P. L. T. Bevan, and G. Scholes, Pulse Radiolysis of Aqueous Thiocyanate Solutions. Nature of the Intermediate Transient Species, *The Journal of Physical Chemistry*, 1972, 76, 11.

[Bielski y Cabelli, 1995] B. Bielski, D. Cabelli, Superoxide and hydroxyl Radical Chemistry in aqueous solution, en *Active Oxygen in Chemistry*, ed. C. Foote, J. Valentine, A. Greenberg y J. Liebman, Chapman and Hall, New York, 1995.

[Bilski y col., 2002] P. Bilski, G. Belanger, and C. F. Chignell, Photosensitized oxidation of 2,7-dichlorofluorescein: singlet oxygen does not contribute to the formation of fluorescent oxidation product 2,7-dichlorofluorescein, *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 33, 7, 938-946.

[Bonini y Augusto, 2001] Bonini, M. G.; Augusto, O., Carbon dioxide stimulates the production of thiyl, sulfinyl, and disulfide radical anion from thiol oxidation by peroxyxynitrite, *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 9749-9754.

[Bonini y col., 2004] M. G. Bonini, S. Miyamoto, P. Di Mascio, and O. Augusto, Production of the Carbonate Radical Anion during Xanthine Oxidase Turnover in the Presence of Bicarbonate, *The Journal Of Biological Chemistry*, 2004, 279, 50, 10, 51836–51843.

[Braslavsky, 2007] S. E. Braslavsky, Glossary of terms used in photochemistry 3rd edition, *Pure Appl. Chem.*, 79, 3, 293–465, 2007.

[Bruccoleri y col., 1990] A. Bruccoleri, C.H. Langford, C. Arbour, Pulsed photo acoustic evaluation of intersystem crossing quantum yields in fulvic acid, *Environ. Technol. Lett.*, 1990, 11, 169-172.

[Bruccoleri y col., 1993] A. Bruccoleri, B. Pant, D. K. Sharma, and C. H. Langford, Evaluation of primary photoproduct quantum yields in fulvic acids, *Environ. Sci. Technol.*, 1993, 27, 889-894.

[Burrows y col., 2002] H.D. Burrows, M. Canle, J.A. Santaballa, S. Steenken, Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2002, 67, 71–108.

[Busset y col., 2007] C. Busset, P. Mazallier, M. Sarakha, J. De Laat, Photochemical generation of carbonate radicals and their reactivity with phenol, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2007, 185, 127-132.

[Buxton y col., 1988] G. V. Buxton, C. L. Greenstock, W. P. Helman, A. B. Ross, Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$ -) in Aqueous Solution, *J Phys Chem Ref Data*, 1988, 17, 513-534.

[Buxton y col., 1999] G. Buxton, G. Salmon, J. Wang, The equilibrium $\text{NO}_3^- + \text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{NO}_3^- + \text{Cl}^-$: A laser flash photolysis and pulse radiolysis study of the reactivity of NO_3^- with chloride ion in aqueous solution, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1999, 1, 3589-3593.

[Canónica y col., 2005] S. Canónica, T. Kohn, M. Mac, F. J. Real, J. Wirz, U. von Gunten. Photosensitizer Method to Determine Rate Constants for the Reaction of Carbonate Radical with Organic Compounds, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 9182-9188.

[Canónica y Tratnyek, 2003] S. Canónica, P. G. Tratnyek, Quantitative Structure–Activity Relationships For Oxidation Reactions Of Organic Chemicals In Water, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22, 8, 1743–1754.

[Caregnato y col., 2009] P. Caregnato, M. C. Gonzalez, D.O. Mártire y J. A. Rosso, Especies reactivas de importancia en la degradación de contaminantes en Procesos químicos y

fotoquímicos ambientalmente benignos para la degradación de contaminantes en efluentes, Ed. Marfil, Alcoy, España 2009.

[Cercek y Ebert, 1967] B. Cercek, M. Ebert, Pulse radiolysis studies of the reaction of H and HO radicals and hydrated electrons with pyridine, *Trans. Faraday Soc.*, 1967, 63, 1687-1698.

[Cernigoj y col., 2007] U. Cernigoj, U.L. Stanga and P. Trebse, Degradation of neonicotinoid insecticides by different advanced oxidation processes and studying the effect of ozone on TiO₂ photocatalysis, *Appl. Catal. B*, 2007, 75, 229-238.

[Chan y Chu, 2003] K.H. Chan, W. Chu, Modeling the reaction kinetics of Fenton's process on the removal of atrazine, *Chemosphere*, 2003, 51, 305-311.

[Chandra y Uchamaru, 2000] Asit K. Chandra, Tadafumi Uchamaru, Kinetics of Hydrogen Abstraction from Chloromethanes by the Hydroxyl Radical: A Computational Study, *J. Phys. Chem. A*, 2000, 104, 8535-8539.

[Chao y Casida, 1997] S.L. Chao, J.E. Casida, Interaction of imidacloprid metabolites and analogs with the nicotinic acetylcholine receptor of mouse brain in relation to toxicity, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1997, 58, 77-88.

[Chen y Hoffman, 1974] S. Chen, M. Hoffman, Reactivity of the carbonate radical in aqueous solution. Tryptophan and its derivatives; *The Journal of Physical Chemistry* 1974, 78, 2099-2102.

[Chen y col., 1975] S. Chen, M. Hoffman; and G. H. Parsons Jr., Reactivity of the Carbonate Radical toward Aromatic Compounds in Aqueous Solution, *The Journal of Physical Chemistry* 1975, 79, 1911-1912.

[Chen y col., 2008] T Chen, Y. J. Dai, J. F. Ding, S. Yuan and J. P. Ni, N-demethylation of neonicotinoid insecticide acetamiprid by bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC 1.1788, *Biodegradation*, 2008, 19, 651-658.

[Chen y col., 2009] Y. Chen, C. Hu, X. Hu, J. Qu, Indirect Photodegradation of Amine Drugs in Aqueous Solution under Simulated Sunlight, *Environ. Sci. Technol.*, 2009, 43, 2760-2765

[Chin y Wine, 1992] M. Chin and P. H. Wine, A temperature-dependent kinetics study of the aqueous phase reactions $\text{OH} + \text{SCN}^- \rightarrow \text{SCNOH}^-$ and $\text{SCN} + \text{SCN}^- \rightarrow (\text{SCN})_2^-$ *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 1992, 69, 1, 17-25.

[Chunjuan y col., 2009] L. Chunjuan, M. Jun, S. Jimin, W. Peng, Removal of phosphate from secondary effluent with Fe^{2+} enhanced by H_2O_2 at nature pH/neutral pH, *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166, 891-896.

[Clennan y col., 1989] E. L. Clennan, L. J. Noe, T. Wen, E. Szneler, Solvent Effects on the Ability of Amines To Physically Quench Singlet Oxygen As Determined by Time-Resolved Infrared Emission Studies, *J. Org. Chem.*, 1989, 54, 15, 3581-3584.

[Clifton y Huie, 1989] C. L. Clifton, R. E. Huie, Rate constants for hydrogen abstraction reactions of the sulfate radical, $\text{SO}_4^{\cdot-}$. Alcohols, *Int. J. Chem Kin*, 1989, 21, 677-687.

[Council Directive 1991] Annex I of Council Directive 91/414/EEC, Disponible en la web http://www.uksup.sk/download/legislativa/legisativa_EU/20030409_smernica_rady_91_414_1991.pdf, Mayo 2009.

[Crean y col., 2008] C. Crean, Y. A. Lee, B. H. Yun, N. E. Geacintov, V. Shafirovich, Oxidation of Guanine by Carbonate Radicals Derived from Photolysis of Carbonatotetramminecobalt (III) Complexes and the pH Dependence of Intrastrand DNA Cross-Links Mediated by Guanine Radical Reactions, *ChemBioChem*, 2008, 9, 1985-1991.

[Czapski y col., 1999] G. Czapski, S. V. Lymar, H. A. Schward. Acidity of the carbonate radical, *Journal of Physical Chemistry A*, 1999, 103, 3447-3450.

[Dai y col., 2006] Y. J. Dai, S. Yuan, F. Ge, T. Chen, S. C. Xu and J. P. Ni, Microbial hydroxylation of imidacloprid for the synthesis of highly insecticidal olefin imidacloprid, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 71, 927-934.

[Dai y col., 2007] Y. Dai, T. Chen, F. Ge, Y. Huan, S. Yuan, F. Zhu, Enhanced hydroxylation of imidacloprid by *Stenotrophomonas maltophilia* upon addition of sucrose, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 74, 995-1000.

[Darmanyán y col., 1998] A. P. Darmanyán, W. S. Jenks, P. Jardon, Charge-Transfer Quenching of Singlet Oxygen $O_2(^1\Delta_g)$ by Amines and Aromatic Hydrocarbons, *J. Phys. Chem. A*, 1998, 102, 7420-7426.

[Das y col., 1987] S. Das, M.N. Schuchmann, H. P. Schuchmann, C. von Sonntag, The production of the superoxide radical anion by the HO· radical-induced oxidation of trimethylamine in oxygenated aqueous solution. The kinetics of the hydrolysis of (hydroxymethyl)dimethylamine, *Chem. Ber.*, 1987, 120, 319-323.

[David Gara y col., 2008] Kinetics of the Sulfate Radical-Mediated Photo-oxidation of Humic Substances P. David Gara, G. N. Bosio, M. C. Gonzalez, D. O. Martire, *International Journal of Chemical Kinetics*, 2008, 40, 19-24.

[David Gara, 2008] Extracción, caracterización de sustancias húmicas y su empleo en procesos fotoquímicos de interés ambiental, Tesis doctoral de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 2008.

[Dell'Arciprete y col., 2007] M.L. Dell'Arciprete, C. J. Cobos, J. P. Furlong, D. O. Mártire and M. C. Gonzalez, The Reactions of Sulphate Radicals with Substituted Pyridines Studied by Time-Resolved Spectroscopy. A structure- reactivity correlation analysis, *ChemPhysChem*, 2007, 8, 2498-2505.

[DeRosa y Crutchley, 2002] M. C. DeRosa, R. J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications, *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, 233-234, 351-371.

[Devipriya y Yesodharan, 2005] S. Devipriya, S. Yesodharan, Photocatalytic degradation of pesticide contaminants in water, *Solar Energy Materials & Solar Cells*, 2005, 86, 309-348.

[Dey y col., 2002] G.R. Dey, D.B. Naik, P. Dwibedy, K. Kishore, Reactions of oxidizing radicals with 2- and 3-aminopyridines: a pulse radiolysis study, *Radiat. Phys. Chem*, 2002, 64, 395-401.

[Duffus, 1993] J.H. Duffus, *Glosario de términos toxicológicos IUPAC, Versión Española Ampliada*. Disponible en la web en <http://www.aetox.es/info/glosater/glosater.intro.html>, octubre 2009.

[Elango y col., 1984] T. P. Elango, V. Ramakrishnan, S. Vancheesan, J. C. Kuriacose, Reaction of the carbonate radical with substituted anilines, *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)*, 1984, 93, 1, 47-52.

[Elango y col., 1985] T. P. Elango, V. Ramakrishnan, S. Vancheesan, J. C. Kuriacose, reaction of the carbonate radical with aliphatic amines, *Tetrahedron*, 1985, 41, 18, 3837-3843.

[EPA, 2009] EPA Pesticide Fact Sheet, Disponible en la web en <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/acetamiprid.pdf>, mayo 2009.

[Ergaieg y col., 2008] K. Ergaieg, M. Chevanne, J. Cillard, R. Seux, Involvement of both Type I and Type II mechanisms in Gram-positive and Gram-negative bacteria photosensitization by a meso-substituted cationic porphyrin, *Solar Energy*, 2008, 82, 1107-1117.

[Feng y col., 2007] Y. Feng, D. Smith and J. Bolton, Photolysis of aqueous free chlorine species (HOCl and OCl⁻) with 254 nm ultraviolet light, *J. Environ Eng. Sci.*, 2007, 6, 277-284.

[Foote y Clennan, 1995] C. Foote and E. Clennan, *Properties and Reactions of Singlete Dioxygen*, en *Active Oxygen in Chemistry*, ed. C. Foote, J. Valentine, A. Greenberg y J. Liebman, Chapman and Hall, New York, 1995.

[Foote, 1991] C.S. Foote, Definition of type-I and type-II photosensitized oxidation, *Photochemistry and Photobiology*, 1991, 54, 5, 659-659.

[Frisch y col., 2004] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez and J.A. Pople, *Gaussian 03, Revision C.02*; Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2004.

[Gaál y col., 2007] F. F. Gaál, V. J. Guzsvány, I. J. Bjelica, Determination of various insecticides and pharmaceuticals using differently modified glassy carbon electrodes, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2007, 72, 12, 1465-1475.

[García y Amat-Guerri, 2005] N. A. García, F. Amat-Guerri, Photodegradation of hydroxylated N-heteroaromatic derivatives in natural-like aquatic environments. A review of kinetic data of pesticide model compounds, *Chemosphere*, 2005, 59, 1067-1082.

-
- [García-Ripoll y col., 2007] A. García-Ripoll, A. M. Amat, A. Arques, R. Vicente, M. F. López, I. Oller, M. I. Maldonado and W. Gernjak, Increased biodegradability of UltracidTM in aqueous solutions with solar TiO₂ photocatalysis, *Chemosphere*, 2007, 68, 293-300.
- [Gligorovski y Herrmann, 2004] S. Gligorovski y H Herrmann, Kinetics of reactions of OH with organic carbonyl compounds in aqueous solution, *Phys Chem Chem Phys*, 2004, 6, 4118-4126.
- [Goldstein y col., 2004] S. Goldstein, A. Samuni, G. Merenyi, Reactions of Nitric Oxide, Peroxynitrite, and Carbonate Radicals with Nitroxides and Their Corresponding Oxoammonium Cations, *Chem. Res. Toxicol.*, 2004, 17, 250-257.
- [Gomez-Eyles y col., 2009] J.L. Gomez-Eyles, C. Svendsen, L. Lister, H. Martin, M. E. Hodson and D.J. Spurgeon, Measuring and modelling mixture toxicity of imidacloprid and thiacloprid on *Caenorhabditis elegans* and *Eisenia fetida*, *Ecotox. Environm. Safe.*, 2009, 72, 71-79.
- [Gonzalez y col., 1998] M.C.Gonzalez, D. O. Mártire and A. M Braun, Aqueous phase kinetic studies involving highly reactive species of environmental interest en *Recent Research Developments in Photochemistry and Photobiology*, S.G. Pandalai, 1998, 2, 25-45.
- [Gonzalez y col., 2004] M. C. Gonzalez, E. Oliveros, M. Wörner, A. M. Braun, Vacuum Ultraviolet Photolysis of Aqueous Reaction Systems, *J. Photochem. Photobiol., C: Reviews*, 2004, 5, 225-246.
- [Gonzalez y col., 2007] M. C. Gonzalez, G. Carrillo Le Roux, J. A. Rosso, and A. M. Braun, Mineralization of CCl₄ by the UVC-photolysis of hydrogen peroxide in the presence of methanol. *Chemosphere*, 2007, 69, 1238-1244.
- [Gonzalez y Mártire, 1999] M.C. Gonzalez and D. O. Mártire, The reactions of sulphate Radicals with substituted benzenes studied by time-resolved spectroscopy. A structure- reactivity correlation analysis, *Asian J. Spectrosc.*, 1999, 3, 125-128.
- [Granik, 1983] V.G.Granik, *Advances in the Chemistry of Amidines*, *Russian Chemical Reviews*, 1983, 52, 4, 669-703.
- [Guez y col., 2003] D. Guez, L. P. Belzunces and R. Maleszka, Effects of imidacloprid metabolites on habituation in honeybees suggest the existence of two subtypes of nicotinic receptors differentially expressed during adult development, *Pharmacol. Biochem. Be.*, 2003, 75, 217-222.
- [Gupta y col., 2008] S. Gupta, V. T. Gajbhiye and R. K. Gupta, Effect of Light on the Degradation of Two Neonicotinoids viz Acetamiprid and Thiacloprid in Soil, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2008, 81,185–189.
- [Gutiérrez y col., 2002] M. Gutiérrez, J. Etxebarria and L. de las Fuentes, Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between microtox® and activated sludge oxygen uptake inhibition, *Water Res.*, 2002, 36, 919-924.
- [Guzsvany y col., 2005] V. J. Guzsvány, F. F. Gaál, I. J. Bjelica, S. N. Ökrész, Voltammetric determination of imidacloprid and thiamethoxam, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2005, 70, 5, 735-743.

-
- [Haag y Hoigné, 1986] W. R. Haag and J. Hoigné, Singlet Oxygen in Surface Waters. 3. Photochemical Formation and Steady-State Concentrations in Various Types of Waters, *Environ. Sci. Technol.*, 1986, 20, 341-348.
- [Halladja y col., 2007] S. Halladja, A. Terhalle, J. P. Aguer, A. Boulkamh, C., Richard, Inhibition of Humic Substances Mediated Photooxygenation of Furfuryl Alcohol by 2,4,6-Trimethylphenol. Evidence for Reactivity of the Phenol with Humic Triplet Excited States, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, 41, 6066-6073.
- [Hiller y Asmus, 1983] K. O. Hiller, K. D. Asmus, Formation and reduction reactions of α -amino radicals derived from methionine and its derivatives in aqueous solutions, *J. Phys. Chem.*, 1983, 87, 3682–3688.
- [Hirata y Head-Gordon, 1999] S. Hirata, M. Head-Gordon, Time-dependent density functional theory for radicals: An improved description of excited states with substantial double excitation character, *Chem Phys. Lett.*, 1999, 302, 375-382.
- [Hoe y col., 2001] W.-M. Hoe, A.J. Cohen, N.J. Handy, Assessment of a new local exchange functional OPTX, *Chem. Phys. Lett.*, 2001, 341, 319-328.
- [Honda y col., 2006] H. Honda, M. Tomizawa, J. E. Casida, Neonicotinoid metabolic activation and inactivation established with coupled nicotinic receptor-CYP3A4 and -aldehyde oxidase systems, *Toxicology Letters*, 2006, 161 108-114.
- [Huang y Mabury, 2000] a) J.Huang, S. A. Mabury, The role of carbonate radical in limiting the persistence of sulfur-containing chemicals in sunlit natural waters, *Chemosphere*, 2000, 41, 1775-1782. b) J.Huang, S. A. Mabury, A new method for measuring carbonate radical reactivity toward pesticides, *Environ. Toxicol. Chem.* 2000, 19, 1501-1507.
- [Huie y col., 1991] R. E. Huie, C. L. Clifton, P. Neta. Electron transfer reaction rates and equilibria of the carbonate and sulfate radical anion, *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation C: Radiation Physics and Chemistry*, 1991, 38, 477-481.
- [Huie y Clifton, 1989] R. E. Huie, C. L. Clifton, Rate constants for hydrogen abstraction reactions of the sulfate radical, $\text{SO}_4^{\cdot-}$ Alkanes and ethers, *International Journal of Chemical Kinetics* 1989, 21, 611-619.
- [Huie y Clifton, 1990] R. E. Huie, C. L. Clifton, Temperature dependence of the rate constants for reactions of the sulfate radical, $\text{SO}_4^{\cdot-}$, with anions, *J. Phys. Chem.*, 1990, 94, 23, 8561–8567.
- [Huling y Pivetz, 2006] S. G. Huling, B. E. Pivetz, In-Situ Chemical Oxidation, EPA Engineering Issue, 2006. Disponible en la web en <http://www.epa.gov/ada/download/issue/600R06072.pdf>, octubre 2009.
- [Iesce y col., 2005] M. R. Iesce, F. Cermola and F. Temussi, Photooxygenation of Heterocycles, *Current Organic Chemistry*, 2005, 9, 109-139.
- [Ihara y col., 2006] M. Ihara, L. Brown, C. Ishida, H. Okuda, D. Sattelle and K Matsuda, Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of

American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency, *J. Pestic. Sci.*, 2006, 31, 35-40.

[Ito y col., 2009] T. Ito, S. Morimoto, S. Fujita, S. Nishimoto, Radical intermediates generated in the reactions of L-arginine with hydroxyl radical and sulfate radical anion: A pulse radiolysis study, *Radiation Physics and Chemistry*, 2009, 78, 256–260.

[Jeschke y col., 2001] P. Jeschke, K. Moriya, R. Lantsch, H. Seifert, W. Lindner, K. Jelich, A. Göhr, M. Beck, W. Etzel, Thiacloprid (Bay YRC 2894)- A new member of the chloronicotiny insecticide (CNI), *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2001, 54, 147-160.

[Jeschke y col., 2003] P. Jeschke, H. Uneme, J. Benet-Buchholz, J. Stöltzing, W. Sirges, M. E. Beck and W. Etzel, Clothianidin (TI-435) – The third member of the chloronicotiny insecticide (CNITM) family, *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2003, 56, 5-25.

[Kagabu y col., 2004] S. Kagabu, C. Kato and K. Nishimura, Insecticidal and Neuroblocking Activities toward American Cockroach (*Periplaneta americana* L.) of Imidacloprid Metabolites, 5-Hydroxy-, 4,5-Dihydroxy- and 4,5-Dehydroimidacloprid, *J. Pestic. Sci.*, 2004, 29, 376-379.

[Kagabu y col., 2007] S. Kagabu, Y. Murase, R. Imai, N. Ito and K. Nishimura, Effect of substituents at the 5-position of the pyridine ring of imidacloprid on insecticidal activity against *Periplaneta Americana*, *Pest. Manag. Sci.*, 2007, 63, 7583.

[Kagabu, 2008] S Kagabu, Pharmacophore of neonicotinoid insecticides, *J. Pestic. Sci.*, 2008, 33,1, 9-13.

[Kim, 2006] U. Kim, Neonicotinoid Insecticides, MMG 445 Basic Biotechnology eJournal 2006. Disponible en línea octubre 2009 www.msu.edu/course/mmg/445/.

[Kitsiou y col., 2009] V. Kitsiou, N. Filippidis, D. Mantzavinou, I. Poullos, Heterogeneous and homogeneous photocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid in aqueous solutions, *Appl. Catal. B*, 2009, 86, 27-35.

[Klein, 2001] O. Klein, Behaviour of thiacloprid (YRC 2894) in plants and animals, *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2001, 54, 209-240.

[Konstantinou y col., 2001] I K. Konstantinou, A K. Zarkadis, T. A. Albanis, Organic Compounds in the Environment, Photodegradation of Selected Herbicides in Various Natural Waters and Soils under Environmental Conditions, *J. Environ. Qual.*, 2001, 30, 121-130.

[Kozicki y col., 2003] M. Kozicki, K. Filipczak, J. M. Rosiak, Reactions of hydroxyl radicals, H atoms and hydrated electrons with N,N'-methylenebisacrylamide in aqueous solution. A pulse radiolysis study, *Radiation Physics and Chemistry*, 2003, 68, 827-835.

[Krohn y Hellpointner, 2002] J. Krohn and E. Hellpointner, Environmental fate of imidacloprid, *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2002, 55, Special edition.

[Krohn, 2001] J. Krohn, Behaviour of Thiacloprid in the environment, *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2001, 54, 281-290.

[Kujawa y col., 1998] P. Kujawa, N. Mohid, K. Zaman, W. Manshol, P. Ulanski, J.M. Rosiak, Pulse radiolysis of butyl acrylate in aqueous solution, *Radiat Phys Chem*, 1998, 53, 403-409.

-
- [Lalevée y col., 2007] J. Lalevée, B. Graff, X. Allonas, and J. P. Fouassier, Aminoalkyl radicals: Direct observation and reactivity toward oxygen, 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-N-oxyl, and Methyl Acrylate, *J. Phys. Chem. A*, 2007, 111, 6991-6998.
- [Lambert y Kochevar, 1997] C. R. Lambert, I. E. Kochevar, Electron Transfer Quenching of the Rose Bengal Triplet State, *Photochemistry and Photobiology*, 1997, 66,1, 15-25.
- [Lee y col., 1988] C. Lee, W. Wang, R.G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Phys. Rev. B*, 1988, 37, 785-789.
- [Leffler, 1993] J. Leffler, *The Small Radical en An introduction to free radicals*, Wiley-Interscience, New York, 1993.
- [Legrini y col.,1993] O.Legrini, E. Oliveros, and A. M. Braun, Photochemical Processes for Water Treatment, *Chem. Rev.*, 1993, 93, 671-698.
- [Liang y col., 2004] C. Liang, C. J. Bruell, M. C. Marley, K. L. Sperry, Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. II. Activated by chelated ferrous ion, *Chemosphere*, 2004, 55, 1225-1233.
- [Liang y col., 2006] C. Liang, Z. Wang, N. Mohanty, Influences of carbonate and chloride ions on persulfate oxidation of trichloroethylene at 20 °C, *Science of the Total Environment*, 2006, 370, 271-277.
- [Liao y col., 2001] C. Liao, S. Kang, F. Wu, Hydroxyl radical scavenging role of chloride and bicarbonate ions in the H₂O₂/UV process, *Chemosphere*, 2001, 44, 5, 1193-1200.
- [Litter, 2005] M. Litter, *Introducing to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water treatment en Environmental Photochemistry Part II*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Hdb Env Chem, 2005.
- [Luiz y col., 1993] M. Luiz, M.I. Gutierrez, G. Bocco, N.A. García, Solvent effect on the reactivity of monosubstituted phenols towards singlet molecular oxygen in alkaline media, *Can. J. Chem.*, 1993, 71, 1247-1252.
- [Luke y col., 2003] T. L. Luke, H. Mohan, V. M. Manoj, P. Manoj, J. P. Mittal, C. T. Aravindakumar, Reaction of sulphate radical anion (SO₄^{•-}) with hydroxy-and methyl-substituted pyrimidines: a pulse radiolysis study, *Res Chem Intermediates*, 2003, 29, 4, 379-391.
- [Lymar 2000] S. V. Lymar, H. A. Schwarz, G. Czapski, Medium effects on reactions of the carbonate radical with thiocyanate, iodide, and ferrocyanide ions, *Radiation Physics and Chemistry*, 59, 2000, 387-392.
- [Maienfisch y col] P. Maienfisch, M. Angst, F. Brandl, W. Fischer, D. Hofer, H. Kayser, W. Kobel, A. Rindlisbacher, R. Senn, A. Steinemann, H. Widmer, Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid, *Pest Management Science*, 2001, 57, 906-913.
- [Manoj y col., 2002] P. Manoj, R. Varghese, V. M. Manoj and C. T. Aravindakumar, Reaction of Sulphate Radical Anion (SO₄^{•-}) with Cyanuric Acid: A Potential Reaction for Its Degradation?, *Chemistry Letters*, 2002, 31, 1, 74.

-
- [Malato y col., 2001] S. Malato, J. Caceres, A. Agüera, M. Mezcua, D. Hernendo, J. Vial and R. Fernandez-Alba, Degradation of Imidacloprid in Water by Photo-Fenton and TiO₂ Photocatalysis at a Solar Pilot Plant: A Comparative Study, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35, 4359-4365.
- [Malato y col., 2002] S. Malato, J. Blanco, J. Cáceres, A.R. Fernández-Alba, A. Agüera, A. Rodríguez, Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy, *Catalysis Today*, 2002, 76, 209-220.
- [Marriott y col., 1982] P. Marriott, R. Castelhan, D. Riller, Modulation spectroscopy. Kinetics for the self-reactions of some α -aminoalkyl radicals in solution, *Can. J. Chem.*, 1982, 60, 274-278.
- [Mártire y col., 1993] D. Mártire, C. Evans, S. Bertolotti, S.E. Braslavsky, N.A. García, Singlet Molecular Oxygen O₂(¹ Δ_g) Production and Quenching by Hydroxybiphenyls, *Chemosphere* 1993, 26, 1691-1701.
- [Mártire y col., 1991] D.O. Mártire, S.E. Braslavsky, N.A. Garcia, Sensitized photooxidation of dihydroxybenzenes and chlorinated derivatives. A kinetic study, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1991, 61, 113-124.
- [Maruthamuthu y Neta, 1978] P. Maruthamuthu, P. Neta, Phosphate radicals. Spectra, acid-base equilibria, and reactions with inorganic compounds, *J. Phys. Chem.*, 1978, 82, 6, 710-713.
- [Matsuda y col., 2005] K. Matsuda, S. D. Buckingham, D. Kleier, J. J. Rauh, M. Grauso and D. B. Satelle, Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001, 22, 573-580.
- [Mazellier y col., 2002] P. Mazellier, E. Leroy, J De Laat, B. Legube. Transformation of carbendazim induced by the H₂O₂/UV system in the presence of hydrogenocarbonate ions: involvement of the carbonate radical. *New Journal of Chemistry*, 2002, 26, 1784-1790.
- [Mazellier y col., 2007] P. Mazellier, C. Busset, A. Delmont, J. De Laat, A comparison of fenuron degradation by hydroxyl and carbonate radicals in aqueous solution, *Water Research*, 2007, 41 4585-4594.
- [McElroy y Waygood, 1990] W. J. McElroy y S. J. Waygood, Kinetics of the reactions of SO₄⁻ radicals with SO₄⁻, S₂O₈²⁻ and Fe⁺². *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 1990, 86, 2557-2564.
- [Menckel y Leschke, 2002] N. Menckel, P. Leschke, Therapy and Prevention of Parasitic Insects in Veterinary Medicine Using Imidacloprid. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2002, 2, 701.
- [Merga y col., 1994] G. Merga; C Aravindakumar; B Rao, Pulse Radiolysis Study of the Reactions of SO₄⁻ with some Substituted Benzenes in Aqueous Solution, *J. Chem. Soc. Faraday Trans*, 1994, 90,4, 597-604.
- [Michaeli y Feitels, 1994] A. Michaeli and J. Feitels, Reactivity of singlet oxygen toward amino acids and peptides, *Photochemistry and Photobiology*, 1994, 59, 3, 284-289.

-
- [Miller, 2005] J. S. Miller, Rose bengal-sensitized photooxidation of 2-chlorophenol in water using solar simulated light, *Water Research*, 2005, 39, 412-422.
- [Minero y col., 2008] C. Minero, P. Pellizzari, V. Maurino, E. Pelizzetti and D. Vione. Enhancement of dye sonochemical degradation by some inorganic anions present in natural waters, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2008, 77, 308-316.
- [Ming-Chun y col., 1999] L. Ming-Chun, C. Jong-Nan, C. Cheu-Ping, Oxidation of dichlorvos with hydrogen peroxide using ferrous ion as catalyst, *Journal of Hazardous Materials*, 1999, B65, 277-288.
- [Miskoski, 1993] S. Miskoski and N.A. García, Influence of the peptide bond on the singlet molecular oxygen-mediated ($O_2[{}^1\Delta_g]$) photooxidation of histidine and methionine dipeptides. A kinetic study, *Photochemistry and Photobiology*, 1993, 57, 3, 447-452.
- [Monroe, 1977] B. M. Monroe, Quenching of Singlet Oxygen by Aliphatic Amines, *The Journal of Physical Chemistry*, 1977, 81, 19, 1861-1864.
- [Mora y col., 2009] V. C. Mora, J. A. Rosso, G. Carrillo Le Roux, D. Mártire, M. C. Gonzalez Thermally activated peroxydisulfate in the presence of additives: A clean method for the degradation of pollutants, *Chemosphere*, 2009, 75, 1405-1409.
- [Moza y col., 1998] P. N. Moza, K. Hustert, E. Feicht and A. Kettrup, Photolysis of imidacloprid in aqueous solution, *Chemosphere*, 1998, 36, 497-502.
- [Nauen y col., 2001] R. Nauen, U. Ebbinghaus-Kintscher, R. Schmuck. Toxicity and nicotinicacetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), *Pest. Manag. Sci.*, 2001, 57, 557-586.
- [Nauen y Bretschneider, 2002] R. Nauen y T. Bretschneider, New modes of action of insecticides, *Pesticide Outlook*, 2002, 241-245.
- [Neckers, 1989] D.C. Neckers, Rose bengal, *J. Photochem and Photobiol A: Chemistry* 1989, 47, 1-29.
- [Neta y col., 1988] P. Neta, R.E. Huie. A.B. Ross, Rate Constants for Reactions of Inorganic Radicals in Aqueous Solutions, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 1988, 17, 1027-1039.
- [Newport, 2009] Disponible en la web junio 2009 en <http://www.newport.com/store/genproduct.aspx?id=376933&lang=1033&Section=Detail>
- [Ohno y col., 2007] I. Ohno, K. Hirata, C. Ishida, M. Ihara, K. Matsuda and S. Kagabu, Proinsecticide candidates N-(5-methyl-2-oxo-1, 3-dioxol-4-yl) methyl derivatives of imidacloprid and 1-chlorothiazolylmethyl-2-nitroimino-imidazolidine, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17, 4500-4503.
- [Ongley, 2009] E. D. Ongley, Control of water pollution from agriculture - FAO irrigation and drainage paper 55 GEMS/Water Collaborating Centre, Canada Centre for Inland Waters Burlington, Canada. Disponible en línea 2009 <http://www.fao.org/docrep/w2598e/w2598e04.htm#TopOfPage>.

[Padmaja y col., 1993] S. Padmaja, Z. Alfassi, P. Neta, R. Huei, Rate constants for reactions of $\text{SO}_4^{\cdot-}$ radicals in acetonitrilo, *Int. J. Chem. Kinet.*, 1993, 25, 193-198.

[Pajares y col., 1998] A. Pajares, J. Gianotti, E. Haggi, G. Stettler, F. Amat-Guerri, S. Criado, S. Miskoski, N. A. García, Kinetic study of the singlet molecular oxygen-mediated photodegradation of monohydroxylated N-heteroaromatic compounds, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 1998, 119, 9-14.

[Parvez y col., 2006] S. Parvez, C. Venkataraman, S. Mukherji, A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, *Environment International*, 2006, 32, 265-268.

[Porter, 1974] G. Porter, Investigation of Rates and Mechanisms of Reactions, Volume VI, Part II en *Techniques of Chemistry*, G.G. Hammes, Wiley-Interscience, New York, 1974.

[Rastogi y col., 2007] A. Rastogi, S. Abed, D. Dionysiou, Development of Sulfate Radical-Based Chemical Oxidation Processes for Groundwater Remediation, *Proceedings of the Water Environment Federation*, 2007, 7, 4754-4760.

[Rastogi y col., 2009] A. Rastogi, S. R. Al-Abed, D. D. Dionysiou, Sulfate radical-based ferrous-peroxymonosulfate oxidative system for PCBs degradation in aqueous and sediment systems, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009, 85, 171-179.

[Redlich y col., 2007] D. Redlich, N. Shahin, P. Ekici, A. Friess and H. Parlar, Kinetic study of the photoinduced degradation of imidacloprid in aquatic media, *Clean*, 2007, 35, 5, 452-458.

[Reitstöen y Parker, 1991] B. Reitstöen, V. D. Parker, Cation Radical-Nucleophile Combination Reactions. Reactions of Nitrogen-Centered Nucleophiles with Cation Radicals Derived from Anthracenes, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 6954-6958.

[Richard y Canónica, 2005] C. Richard y S. Canónica, Aquatic phototransformation of organic contaminants induced by coloured dissolved natural organic matter en *Environmental Photochemistry Part II*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Hdb Env Chem, 2005.

[Richard y col., 1997] C. Richard, D. Vialaton, J.P. Aguer, L. F. Andreux, Transformation of monuron photosensitized by soil extracted humic substances: energy or hydrogen transfer mechanism?, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 1997, 111, 265-271.

[Ross y col., 1998] A. B. Ross, W. G. Mallard, W. P. Helman, G. V. Buxton, R. E. Huie, P. Neta, 1998. NDRL-NIST Solution Kinetics Database, Ver. 3.0x, Notre Dame Radiation Laboratory, Notre Dame, IN and National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, Available on the web at: <http://kinetics.nist.gov/solution/>, Mayo 2009.

[Rosso y col., 2003] J.A. Rosso, P. Caregnato, V.C. Mora, M.C. Gonzalez, D.O. Mártire, Reaction of phosphate radicals with monosubstituted benzenes. A mechanistic investigation, *Helvetica Chimica Acta*, 2003, 86, 2509-2524.

[Sakrabani y Boxall, 2009] R. Sakrabani, A. Boxall, Sustainable Water: Chemical Science Priorities Final Draft Royal Society of Chemistry report Chapter 5 - Inputs and fate of

contaminants in the aquatic environment. Disponible en línea octubre 2009
http://www.rsc.org/images/Chap5_tcm18-108475.pdf.

[San Román y Gonzalez, 1989] E. A. San Román, M. C. Gonzalez, Analysis of Spectrally Resolved Kinetic Data and Time-Resolved Spectra by Bilinear Regression, *J. Phys. Chem.* 1989, 93, 3532-3536.

[Schippers y Schwack, 2008] N. Schippers and W. Schwack, Photochemistry of Imidacloprid in Model Systems, *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56, 8023-8029.

[Schuler y col., 1980] R. H. Schuler, L. K. Patterson, E. Janata, Yield for the Scavenging of OH Radicals in the Radiolysis of N,O-Saturated Aqueous Solutions, *J. Phys. Chem.*, 1980, 84, 2088-2089.

[Schulz-Jander y col., 2002] D. A. Schulz-Jander, W. M. Leimkuehler and J. E. Casida, Neonicotinoid Insecticides: Reduction and Cleavage of Imidacloprid Nitroimine Substituent by Liver Microsomal and Cytosolic Enzymes, *Chem. Res. Toxicol.*, 2002, 15, 1158-1165.

[Segura, 1985] P. Segura, Simultaneous Use of Empirical and Semiempirical Substituent Parameters as a New Method of Analysis of the Ortho Effect. Application in Reactions via Aryl Anion Intermediates, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 1045-1053.

[Shafirovih y col., 2001] V. Shafirovih, A. Dourandin, W. Huang, N. E. Geacintov. The carbonate radical is a site-selective oxidizing agent of guanine in double-stranded oligonucleotides. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276, 24621-24626.

[Smith y March, 2007] M B. Smith y J March, *March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*, John Wiley & Sons, Sixth Edition, New Jersey, 2007, 401-402;1766

[Solar y col., 1993] S. Solar, K. Sehested, H. Holcman, Pulse radiolysis of pyridine and methylpyridines in aqueous solutions, *Radiat. Phys. Chem.*, 1993, 41, 825-834.

[Steenken y O'Neill, 1978] S. Steenken, P. O'Neill, Selectivity of Addition of the Hydroxyl Radical to Ring Positions of Pyridine and Pyridine Mono- and Dicarboxylic Acids. An Electron Spin Resonance Investigation. *J. Phys. Chem.*, 1978, 82, 372-374.

[Steenken, 1996] S. Steenken, One -electron Redox Reaction between Radicals and Organic Molecules. An Addition/Elimination(Inner-Sphere) Path[1], *Topics in Current Chemistry*, 177, 126-145.

[Suchail y col., 2001] S. Suchail, D. Guez and L. P. Belzunces, Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis Mellifera*, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001, 20, 2482-2486.

[Takeda y col., 2004] K.Takeda, H.Takedoi, S.Yamaji, K. Ohta, H. Sakugawa, Determination of Hydroxyl Radical Photoproduction Rates in natural Waters, *Analytical Science*, 2004, 20, 153-158.

[Tang, 2004] W.Z. Tang, *Physicochemical treatment of hazardous wastes*, 2004, 238, CRC Press, 2004.

[Telle y col., 2007] H H. Telle, A. González Ureña, R. J Donovan *Laser Chemistry: Spectroscopy, Dynamics, and Applications*, Wiley, Hoboken, 2007.

-
- [Thrush, 2003] B. A. Thrush, The genesis of flash photolysis, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2003, 2, 453-454.
- [Tomizawa y col., 2000] M. Tomizawa, D.L. Lee, J.E. Casida, Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors, *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 6016-6024.
- [Tomizawa y Casida, 2005] M. Tomizawa, J. E. Casida, Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005. 45, 247-268.
- [Tønnesen, 2004] H. H. Tønnesen, *Photostability of Drugs and Drug Formulations*, Ed. CRC Press, Segunda edición, 2004.
- [Tripathi, 1998] G. N. R. Tripathi, Electron-Transfer Component in Hydroxyl Radical Reactions Observed by Time Resolved Resonance Raman Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 4161-4166.
- [Umschlag y Herrmann, 1999] T. Umschlag, H. Herrmann, The carbonate radical ($\text{HCO}_3\cdot/\text{CO}_3\cdot^-$) as a reactive intermediate in water chemistry : Kinetics and modeling, *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 1999, 27, 4, 214-222.
- [Unesco, 2003] disponible en la web www.unesco.org/water/wwap , octubre 2009
- [Vieira y col., 1999] A. Vieira, J. Telo, H. Pereira, P. Patrocínio, R. Dias, Antioxidant effect of naturally occurring xanthenes on the oxidative damage of DNA bases, *J. Chim. Phys.*, 1999, 96, 116-123.
- [Vione y col., 2006] D. Vione, G. Falletti, V. Maurino, C. Minero, E. Pelizzetti, M. Malandrino, R. Ajassa, R. Olariu, C. Arsene, Sources and Sinks of Hydroxyl Radicals upon Irradiation of Natural Water Samples, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40, 3775-3781.
- [von Sonntag y Schuchmann, 1997] C. von Sonntag y H. Schuchmann, *Peroxy Radicals en The Chemistry of Free Radicals*, Z. B. Alfassi, Wiley and Sons Ltd, Chichester, 1997.
- [Wamhoff y Schneider, 1999] H. Wamhoff and V. Schneider, Photodegradation of imidacloprid, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 1730-1734.
- [Wang y col., 2000] G. Wang, S. Hsieh, C. Swee Hong, Destruction of humic acid in water by UVlight-catalyzed oxidation with hydrogenperoxide, *Wat. Res.*, 2000, 34, 3882-3887.
- [Wardman, 1989] P. Wardman, Reduction potential of one-electron couples involving free radicals in aqueous solutions, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 1989, 18, 1637-1755.
- [Watts y col., 2006] R. J. Watts, M. Asce, A. L. Teel, Treatment of contaminated soils and groundwater using ISCO, *Pract. Periodical of Haz. Toxic. and Radioactive Waste Mgmt.*, 2006, 10, 2-9.
- [Wiberg y col., 1998] K. B. Wiberg, R. E. Stratman, M. J. Frisch, A time-dependent density functional theory study of the electronically excited states of formaldehyde, acetaldehyde and acetone, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, 297, 60-64.
- [Wilkinson y col., 1995] F. Wilkinson, W.P. Helman, A.B. Ross; Rate constants for the decay and reactions of the lowest electronically excited singlet state of molecular oxygen in solution.

An expanded and revised compilation, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 24, 1995.

[Williams, 2005] R. Williams, pKa Compilation, *Introducing JCE ChemInfo: Organic*, H. Reich, J. Chem. Ed. 2005, 82, 495. Dirección Web disponible en octubre 2009: research.chem.psu.edu/brpgroup/pKa_compilation.pdf.

[Young y col., 1974] R. H. Young, D. Brewer, R. Kayser, R. Martin, D. Feriozi, R. A. Keller, On The Mechanism Of Quenching Of Singlet Oxygen By Amines-iii. Evidence For A Charge-Transfer-Like Complex, *Can. J. Chem. Vol.*, 1974, 52, 2889-2893.

[Young y Brewer, 1976] R. H. Young, D. R. Brewer, *Singlet Oxygen Reactions with Organic Compounds and Polymers*, Wiley, New York, 1976.

[Zhan y col., 2006] M. Zhan, X. Yang, Q. Xian, L. Kong, Photosensitized degradation of bisphenol A involving reactive oxygen species in the presence of humic substances, *Chemosphere*, 2006, 63, 378–386.

[Zepp y col., 1985] R. G. Zepp, P. F. Schlotzhauer, R. M. Sink, Photosensitized transformations involving electronic energy transfer in natural waters: role of humic substances, *Environmental Science and Technology*, 1985, 19, 74-81.

[Zepp y col., 1987] R. Zepp, J. Holgné, H. Bader, Nitrate-Induced photooxidation of trace organic chemicals in water, *Environ. Sci. Technol.*, 1987, 21, 443-450.

[Zepp, y col 1977] R.G. Zepp, N. L. Wolfe, G.L. Baughman, R.C. Hollis, Singlet oxygen in natural waters, *Nature*, 1977, 267, 421-423.

[Zuo y col., 1997] Z. Zuo, Y. Katsumura, K. Ueda and K. Ishigure, Laser photolysis study on reactions of sulfate radical and nitrate radical with chlorate ion in aqueous solutions. Formation and reduction potential of radical ClO_3 ; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1997, 93, 4, 533-536.

[Zuo y col., 1999] Z. Zuo, Z. Cai, Y. Katsumura, N. Chitose, Y. Muroya, Reinvestigation of the acid-base equilibrium of the(bi)carbonate radical and pH dependence of its reactivity with inorganic reactants, *Radiation Physics and Chemistry*, 1999, 55, 15-23.