A close-up photograph of a metal pipe with a rusted interior, pouring clear water into a pool. The background shows the rippling surface of the water in the pool.

**Empleo de Química Sustentable en la  
Eliminación de Contaminantes Acuáticos.  
Estudio Cinético Mecanístico sobre la  
Fotodegradación del Triclosan.**

**AGUSTINA REYNOSO**



Trabajo Final Licenciatura en Química

**Empleo de Química Sustentable en la Eliminación  
de Contaminantes Acuáticos.  
Estudio Cinético Mecanístico sobre la  
Fotodegradación del Triclosan.**

Agustina Reynoso

Director: Dr. José E. Natera Co-Director: Dr. Walter Massad

2016

“La humanidad también necesita soñadores, para quienes el desarrollo de una tarea sea tan cautivante que les resulte imposible dedicar su atención a su propio beneficio”

Marie Curie

A mi familia, novio  
y amigas

## **Resumen**

Triclosán es un pesticida que pertenece al grupo de contaminantes emergentes. Tiene una gran variedad de usos, como pesticida, fungicida y antibacteriano de amplio espectro. Se encuentra en las aguas superficiales y tiene un impacto negativo sobre los ecosistemas acuáticos, debido a su bioacumulación, persistencia y a que las plantas de tratamiento depuradoras no pueden eliminarlo.

Con el propósito de modelar las condiciones ambientales se utilizó como fotosensibilizador el pigmento natural Riboflavina (Rf, vitamina B2) presente en prácticamente todos los reservorios de agua, mientras que los fotosensibilizadores artificiales Perinaftenona (PN) y Rosa de Bengala (RB) fueron utilizados con fines comparativos

Mediciones de fotólisis directa y sensibilizada demostraron que el Triclosán es altamente reactivo con el  $^3\text{Rf}^*$ ,  $^3k_q = 1,6 \times 10^9 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , y que a la vez puede reaccionar con las especies reactivas de oxígeno, como ser oxígeno singlete y superóxido. En cuanto al  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ , también se comprobó que la especie ionizada es más susceptible de degradarse que la especie neutra. En función de los estudios realizados, podemos decir que tanto la reacción de TCS con las especies reactivas de oxígeno como la fotodegradación sensibilizada por Rf podría contribuir a la disminución del pesticida en ambientes acuáticos.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>Introducción.</b>	<b>1</b>
<b>Objetivos Generales y Específicos</b>	<b>4</b>
<b>CONSIDERACIONES TEÓRICAS</b>	<b>7</b>
Reacciones de Fotodegradación	7
Especies Reactivas de Oxígeno	11
Molécula de Estudio: Triclosán	15
Referencias	16
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>19</b>
Reactivos y Solventes	19
Preparación de Soluciones	19
Equipamiento y Metodología	20
Métodos Cinéticos de Análisis	27
Referencias	30
<b>RESULTADOS</b>	<b>31</b>
Características de los sensibilizadores usados	31
Características del compuesto de estudio	32
Fotodegradación directa del TCS	34
Fotodegradación sensibilizada del TCS	35
Referencias	45
<b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN</b>	<b>46</b>
Discusión	46
Conclusión	47

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

Referencias

48

## 1. Introducción:

La contaminación del medio ambiente puede ocurrir por agentes procedentes de diferentes sectores como: agricultura, industria, medicina y cosmética. Estos contaminantes eventualmente pueden llegar al ambiente acuático a través de varios procesos, y encontrarse en concentraciones relativamente significativas en las aguas superficiales y subterráneas de las que tienen que ser eliminados de manera eficiente<sup>1</sup>. La toxicidad y persistencia de estas sustancias puede representar una posible amenaza para los seres humanos a través de la contaminación de los suministros de agua potable<sup>2</sup>.

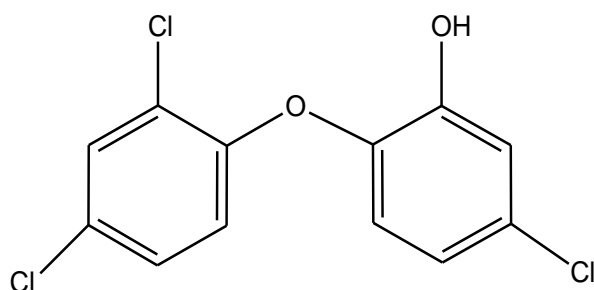
Las principales vías de degradación de estos contaminantes son, las químicas (fotólisis, hidrólisis y oxidación) que generalmente son parciales y las llevadas a cabo por microorganismos presentes en el ecosistema, que pueden transformar por completo al contaminante en diversos componentes inorgánicos<sup>3</sup>. Las vías químicas incluyen las transformaciones fotoquímicas en presencia de radiación solar, lo que se conoce como fotorreacciones directas o indirectas<sup>1</sup>. El primero de los casos involucra la absorción directa de luz por parte del contaminante mientras que el segundo requiere la presencia de otra molécula denominada fotosensibilizador la cual absorbe la radiación lumínica<sup>4</sup>. La degradación fotoquímica puede ser uno de los principales procesos de transformación, y uno de los factores que controlan el destino de los contaminantes orgánicos en el medio ambiente<sup>1</sup>. Por lo tanto, es de gran interés saber en qué medida se degradan a través de tales procesos.

Dentro de la problemática medio ambiental, en los últimos tiempos ha habido un creciente interés por los contaminantes emergentes (CE)<sup>5-9</sup>. Según la Organización Mundial de la Salud, la Agencia para la Protección del Medio Ambiente o la Comisión Europea, se definen a los CE como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva, pero si la preocupación por la posibles consecuencias de las mismas<sup>10</sup>. Los CE generalmente poseen distinta naturaleza química y su presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de distribución y/o concentración, por lo que pasan inadvertidos para la legislación actual. No obstante, ahora están siendo ampliamente estudiados y detectados, y se ha descubierto que tienen el potencial de acarrear un impacto ecológico, así como efectos adversos sobre la salud<sup>4,5,8</sup>. La característica de estos grupos de contaminantes es que no necesitan estar constantemente en el ambiente

para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/remoción se pueden compensar por su introducción continua en el ambiente.

La lista de CE incluye una amplia variedad de compuestos de uso diario, ya sea industrial o doméstico: pesticidas, productos farmacéuticos, compuestos de aseo personal y otros<sup>5,7,8,10</sup>. Algunos de ellos, como resultado de las investigaciones realizadas, ya han sido incluidos en el listado de sustancias contaminantes prioritarias en el agua, como es el caso de las parafinas cloradas y los retardantes de llama difenil éteres polibromados, entre otros<sup>10</sup>. Para otros CE, se conoce relativamente poco en cuanto a su presencia, impacto y tratamiento, y podrían llegar a ser candidatos para su futura regulación, dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia.

El presente trabajo tiene especial interés en investigar las reacciones fotodegradativas de un CE, Triclosán (TCS).



**Figura 1.** Estructura química del Triclosan

Este es un pesticida: fungicida y antimicrobiano de amplio espectro, usado también como conservante y desinfectante en productos de cuidado personal, pasta de dientes, jabones, desodorantes, antitranspirantes y jabones líquidos, detergentes, cosméticos y cremas anti-microbianos. También se utiliza como aditivo en plásticos, polímeros y textiles para dar a estos materiales propiedades antibacterianas<sup>11-15</sup>.

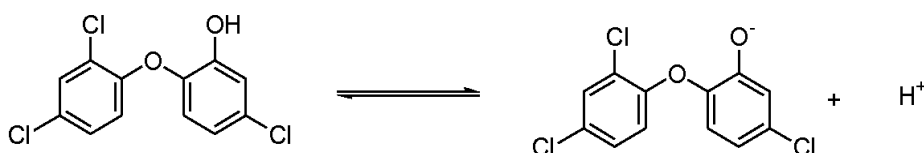
TCS llega al medio ambiente casi siempre a través de aguas residuales y tiene un impacto negativo sobre ecosistemas acuáticos debido a su persistencia en las aguas fluviales, ya que los procesos de depuración de las plantas de tratamientos no pueden eliminarlo<sup>16</sup>. Puede ser degradado por microorganismos o reaccionar con la luz del sol, lo que da lugar a compuestos como los clorofenoles. Estudios muestran que TCS



es un contaminante persistente y debido a su prolongado tiempo de vida ( $t_{1/2} \sim 8$  días) puede causar riesgos potenciales a largo plazo en la salud del humano<sup>17,18</sup>.

La acumulación del compuesto en el ecosistema puede llegar a generar resistencia por parte de los microorganismos bacterianos, al igual que sucede con los antibióticos<sup>19</sup> y se ha demostrado que es altamente tóxico para los organismos acuáticos<sup>17</sup>. La alta toxicidad de TCS se debe a los subproductos que se generan durante su degradación, dentro de los cuales, los más importantes son las dioxinas. La exposición a los compuestos formados inhibe parte del metabolismo de las enzimas en el hígado, se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal y, aunque a un ritmo inferior, también se absorben por la piel<sup>19</sup>. La concentración de Triclosán inhibe la fotosíntesis de las algas de los ríos y con el tiempo los ecosistemas fluviales afectados pueden llegar a deteriorarse por completo<sup>19, 20</sup>.

Una de las principales vías de eliminación del TCS es la fotólisis. Es un fenoxifenol clorado con un  $pK_a \sim 8.4$ , lo que lo hace fotodegradable en su forma fenolato, mientras que es fotoestable en su forma fenólica<sup>21</sup>.



**Figura 2.** Equilibrio químico del TCS con su forma fenolato

Aunque han sido estudiadas numerosas vías de eliminación de contaminantes o transformación de los mismos en especies no nocivas para la salud de seres vivos, que incluyen la degradación microbiológica como una de las más eficaces<sup>19</sup>, se cree que la vía fotoquímica tiene, dentro de esta problemática, interesantes aspectos a ser explotados. De por sí el hecho de que la fotodegradación pueda ocurrir en presencia de luz solar y fotosensibilizadores naturales hace que estos procesos resulten amigable para el medioambiente<sup>22</sup>.

Estas vías fotodegradativas ya han sido previamente estudiadas por otros autores frente a diversos contaminantes emergentes. Un ejemplo lo constituye el estudio de la degradación fotosensibilizada en aguas del pesticida fenólico bromoxinil en presencia de Riboflavina, como modelo de la fotodescomposición natural en el

ecosistema, el cual revela, a partir de las técnicas utilizadas, que el pesticida es fotodegradado debido a las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por el sensibilizador (estos mecanismos serán explicados en consideraciones teóricas)<sup>23</sup>. También podemos citar los trabajos realizados por miembros de nuestro grupo de investigación en el cual se investigaron las moléculas Norflurazon (herbicida)<sup>24</sup> y Bisfenol A<sup>25</sup>, por esta razón consideramos que el estudio de las reacciones de fotodegradación directa y/o sensibilizada de Triclosán pueden resultar un tópico de interés en cuanto al impacto ambiental.

## **2. Objetivos Generales y Específicos**

### *Objetivos Generales*

Realizar un estudio cinético del agente antibacteriano y fungicida, Triclosán. Evaluar la factibilidad de los procesos fotodegradativos naturales y artificiales, incluyendo un estudio de fotodegradabilidad, mediante determinaciones cinéticas y mecanísticas. Evaluar las vías más eficientes a aplicar en la de fotodegradación artificial sobre depósitos de pesticidas para su desecho seguro.

### *Objetivos Específicos*

- Estudiar los procesos de fotodegradación directa y sensibilizada del pesticida TCS. Para el estudio de los procesos de fotodegradación sensibilizados se usaran colorantes artificiales (Rosa de Bengala, Eosina y Perinaftena) que se caracterizan por generar mayoritariamente la especie oxígeno molecular singlete ( $O_2(^1\Delta_g)$ ) y colorantes naturales (Riboflavina, Rf) lo cual da lugar a procesos de degradación complejos, donde los estados electrónicamente excitados de la Rf pueden reaccionar con el Triclosán o bien generar especies reactivas de oxígeno (ROS), representadas principalmente por  $O_2(^1\Delta_g)$ , ion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radicales oxhidrilo ( $OH^{\bullet}$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) las cuales podrían degradar el pesticida bajo estudio.

### 3. Referencias

- <sup>1</sup> Wong-Wah-Chung P., Rafqah S., Voyard G., Sarakha M. "Photochemical behaviour of Triclosán in aqueous solutions: Kinetic and analytical studies". *J. of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 191 (2007) 201–208
- <sup>2</sup> Shinde S.S., Bhosale C.H., Rajpure K.Y. "Hydroxyl radical's role in the remediation of wastewater". *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 116 (2012) 66-74
- <sup>3</sup> Nollet L. M. L. Handbook of Pesticides, CRC Press. NY, USA, 2009
- <sup>4</sup> Grover R., Cessna A.J. "Environmental Chemistry of Herbicides" Vol.2. Cap. 6. CRC Press, Boca Raton, FL, 1991.
- <sup>5</sup> Köck-Schulmeyer M., Villagrasa M., Lopez de Alda M., Céspedes-Sánchez R., Ventura F., Barceló D. "Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact". *Science of the Total Environment* 458–460 (2013) 466–476
- <sup>6</sup> Marino D. J. G., Carriquiriborde P., Ronco A. E., Elorriaga Y. "Contaminantes emergentes: productos farmacéuticos en el medio ambiente". VII Congr. Medio Ambiente. 2013
- <sup>7</sup> Stuart M., Lapworth D., Crane E., A. Hart. "Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater". *Science of the Total Environment* 416 (2012) 1–21
- <sup>8</sup> Clarke B. O., Smith S. R. "Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids". *Environment International* 37 (2011) 226–247
- <sup>9</sup> Petrovic M., Radjenovic J., Postigo C., Kuster M., Farre M., Alda M. L., Barceló D. "Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste". *Hdb Env Chem* Vol. 5. Part S/1 (2008): 1-35
- <sup>10</sup> Barceló D., López M. J. "El Estado Ecológico Las Masas Agua". Panel Científico-Téc. Seguim. Política Aguas Sevilla Jorn. Present. Result. 2008
- <sup>11</sup> Maurer, T., Thomann P, Weirich EG, Hess R. "Predictive evaluation in animals of the contact allergenic potential of medically important substances. II. Comparison of different methods of cutaneous sensitization with "weak" allergens". *Contact Dermatitis*. 1978: 4: 321-333.
- <sup>12</sup> Veronesi S., Padova S. M. P., Vanni D., Melino M. "Contact dermatitis to Triclosán". *Contact Dermatitis*. 1986: 15: 257-8.
- <sup>13</sup> Zaugg, T., Hunziker T., "Germall II and Triclosán". *Contact Dermatitis*. 1987: 17: 262.
- <sup>14</sup> Steinkjer, B., Braathen L.R. "Contact dermatitis from Triclosán (Irgasan DP 300)". *Contact Dermatitis*. 1988: 18: 243-4.
- <sup>15</sup> Perrenoud, D., Bircher A, Hunziker T, Suter H, Bruckner-Tuderman L, Stäger J, Thürlimann W, Schmid P, Suard A, Hunziker N. "Frequency of sensitization to 13 common preservatives in Switzerland. Swiss Contact Dermatitis Research Group". *Contact Dermatitis*. 1994. 30(5): p. 276-9
- <sup>16</sup> Ricarta M., Guasch H., Alberch M., Barceló D., Bonninaub C., Geiszingerb A., Farréd M., Ferrerc J., Ricciardi F., Romaníb A.M., Morine S., Proiab L., Salaf L., Suredac D., Sabatera S. "Triclosan persistence through wastewater treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms". *Aquatic Toxicology* 100 (2010) 346–353
- <sup>17</sup> Taştan B.E., Dönmez G. "Biodegradation of pesticide triclosan by *A. versicolor* in simulated wastewater and semi-synthetic media". *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118 (2015) 33–37
- <sup>18</sup> Anger C.T, Sueper C., Blumentritt D.J., McNeill K., Engstrom D.R., Arnold W.A. "Quantification of Triclosan, Chlorinated Triclosan Derivatives, and their Dioxin Photoproducts in Lacustrine Sediment Cores". *Environmental Science & Technology*. 2013

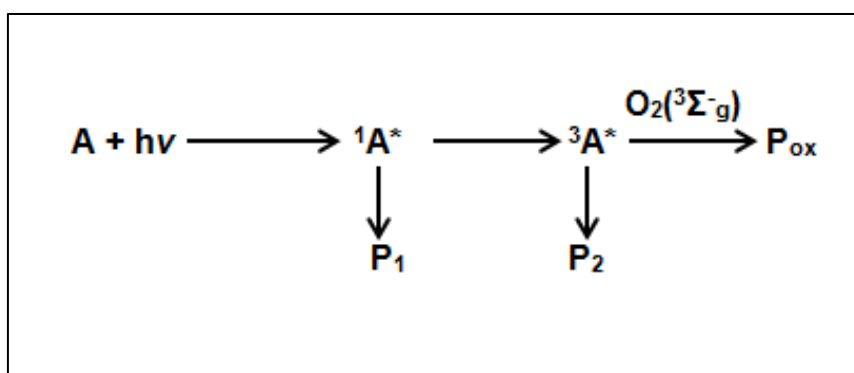
- 
- <sup>19</sup> Rocha da Cortez das Neves A. "Photochemical degradation of Triclosán and comparison between different light source". Maestría en Ingeniería Ambiental, perfil Ingeniero Sanitario. Lisboa, Portugal. 2014
- <sup>20</sup> GreenFacts. Triclosán y resistencia a los antibióticos. CCSC
- <sup>21</sup> Aranami K., Readman J.W. "Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater". *Chemosphere* 66 (2007) 1052–1056
- <sup>22</sup> Fresnadillo D.G. "Fotosensibilización y el sensibilizador: síntesis, propiedades y limitaciones". Lab. de Fotoquímica Aplicada. Madrid
- <sup>23</sup> Escalada J.P., Pajares A., Gianotti J., Biasutti A., Criado S., Molina P., Massad W., Amat-Guerri F., García N.A. "Photosensitized degradation in water of the phenolic pesticides bromoxinil and dichlorophen in the presence of ribofavin, as model of their natural photodescomposition in the Environment". *J. of Hazardous Materials* 186 (2011) 466–472
- <sup>24</sup> Massad W., Criado S., Bertolotti S., Pajares A., Gianotti J., Escalada J.P., Amat-Guerri F., García N.A. "Photodegradation of the herbicide Norflurazon sensitised by ribofavin. A Kinetic and mechanistic study". *Chemosphere* 57 (2004) 455–461
- <sup>25</sup> Barbieri Y., Massad W., Diaz D.J., Sanz J., Amat-Guerri F., García N.A. "Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of ribofavin: kinetics, mechanism and photoproducts". *Chemosphere* 73 (2008) 564–571

## 1. Reacciones de Fotodegradación

Un herbicida que absorbe la luz del sol puede ser espontáneamente degradado por procesos fotoquímicos iniciados desde los estados electrónicamente excitados, tales como la ruptura de enlaces moleculares y la reacción directa con oxígeno en su estado fundamental. Su degradación en un medio ambiente acuático también puede llevarse a cabo, a través de procesos sensibilizados por otros compuestos que son capaces de absorber la radiación solar (S). En estos casos, los estados electrónicamente excitados de S pueden reaccionar con el contaminante o bien generar especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de degradar el contaminante<sup>1</sup>.

### *Fotodegradación Directa*

La fotólisis directa comprende la absorción directa de la luz por el herbicida (A), seguido de la reacción química correspondiente, sin ninguna colaboración de otra sustancia química. En el proceso de fotólisis se irradia A, el cual al absorber la luz evolucionará hacia sus estados electrónicamente excitados singlete ( $^1A^*$ ) o triplete ( $^3A^*$ ), generando eventualmente productos  $P_1$ ;  $P_2$  o  $P_{ox}$  (Esquema 1).<sup>2</sup>



**Esquema 1.** Eventuales procesos en la fotólisis directa

Este proceso viene condicionado por variables ambientales tales como la radiación solar en la superficie del agua, eficiencia con que absorbe la luz y el rendimiento cuántico de la reacción fotoquímica<sup>3</sup>.

### *Fotodegradación Sensibilizada*

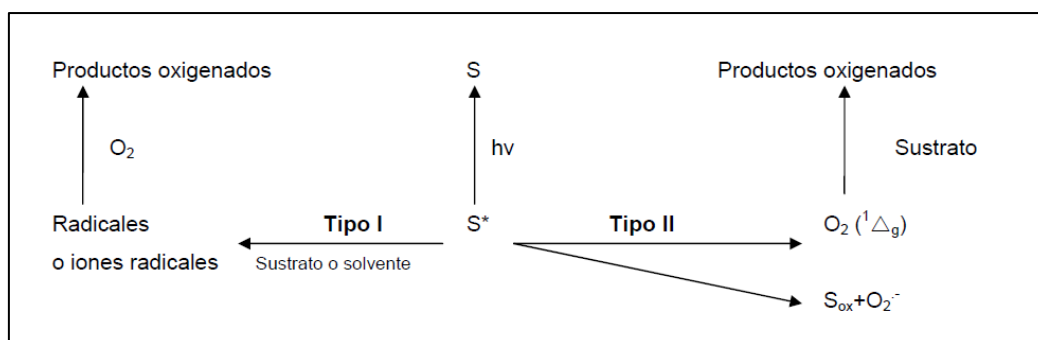
La degradación sensibilizada requiere el uso de una sustancia denominada sensibilizador o fotosensibilizador (S), el cual, mediante la absorción de la luz genera un estado excitado capaz de ceder o transferir su exceso de energía a otra

molécula presente en el medio, obteniéndose un estado excitado de la misma. Esta molécula excitada, durante su tiempo de vida, puede reaccionar con otras especies químicas existentes en el medio, dando lugar a productos de reacción o puede reaccionar con oxígeno y producir  $O_2(^1\Delta_g)$ , el cual podrá reaccionar con A para dar productos oxidados o la especie oxidada del sensibilizador y el ión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )<sup>4</sup>.

Una ventaja importante de la fotodegradación sensibilizada es la posibilidad de utilizar luz de longitudes de onda mayores a las correspondientes a la absorción característica del contaminante<sup>5</sup>.

Es de fundamental importancia tener en cuenta la posibilidad de reacciones fotosensibilizadas por sustancias naturales o artificiales en medio homogéneo dado que en las aguas naturales, y muy especialmente en medios contaminados, existen colorantes naturales tales como Riboflavina (Vitamina B2) que son capaces de absorber la luz solar, y generar este tipo de proceso<sup>2,3</sup>.

En el esquema 2 se muestra un mecanismo general, y muy simplificado, para los procesos fotosensibilizados en presencia de oxígeno.



**Esquema 2.** Mecanismos de fotosensibilización Tipo I y Tipo II

El primer paso corresponde a la absorción de luz por parte de sensibilizador en estado fundamental, para producir un estado singlete excitado ( $^1S^*$ ) que rápidamente se convierte, mediante cruce entre sistemas, en un estado triplete excitado ( $^3S^*$ ).

Mecanismo Tipo I: el estado triplete excitado del sensibilizador ( $^3S^*$ ) reacciona directamente con el solvente o el sustrato (A) donando o aceptando hidrógenos o electrones y produciendo radicales libres o iones radicales<sup>6,7</sup>. La reacción redox puede ir en cualquier dirección aunque generalmente el sensibilizador en estado excitado es oxidante. El  $^3S^*$  actúa como radical libre iniciador, fotoquímicamente activado, el cual produce la especie radicalaria del sensibilizador. Esta especie puede

abstraer hidrógeno de otro compuesto para iniciar una reacción en cadena o reaccionar instantáneamente con oxígeno generando especies reactivas del oxígeno (ROS)<sup>8</sup>.

Los compuestos que generalmente sufren reacciones Tipo I son ricos en electrones o poseen hidrógenos fáciles de abstraer.

Mecanismo Tipo II: el sensibilizador en su estado triplete excitado transfiere la energía al oxígeno molecular en su estado fundamental ( $O_2 (^3\Sigma_g^-)$ ) para generar oxígeno singlete ( $O_2 (^1\Delta_g)$ )<sup>6</sup>. Esta especie reacciona con numerosas moléculas orgánicas, particularmente moléculas con alta densidad electrónica, para dar peróxidos y otros productos oxidados.

En algunos casos puede ocurrir transferencia de electrones desde el sensibilizador al oxígeno para producir la especie oxidada del sensibilizador y el ión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) bajo esta definición también se trata de un mecanismo Tipo II, aunque ocasionalmente puede ser descripta como un mecanismo Tipo I.

Los mecanismos Tipo I y II pueden ocurrir uno, otro o ambos simultáneamente, dependerá del tipo de sensibilizador, sustrato, las concentraciones relativas de los mismos y de oxígeno y la naturaleza del medio. En general el mecanismo Tipo I es altamente dependiente del tipo y concentración del sensibilizador y del sustrato mientras que el mecanismo Tipo II es más dependiente de la solubilidad y la concentración de oxígeno del sistema<sup>7,8</sup>.

Los sensibilizadores más comúnmente usados en las reacciones fotosensibilizadas son sustancias tales como: colorantes como rosa de bengala, azul de metileno, rodaminas, pigmentos como flavinas y clorofilas, hidrocarburos aromáticos y coenzimas entre otros. También se utilizan, aunque en menor medida, compuestos de coordinación basados en complejos de rutenio y derivados metálicos de porfirinas y ftalocianinas. La elección del fotosensibilizador depende de las características del sustrato en estudio y del medio de reacción<sup>8</sup>.

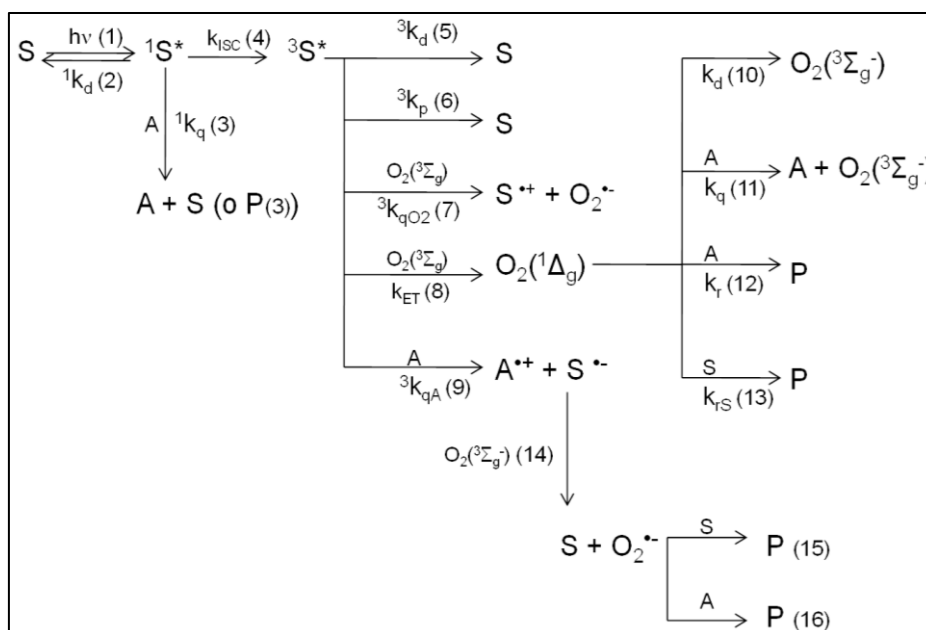
Un fotosensibilizador, para producir oxígeno singlete eficientemente debe absorber intensamente la radiación UV-vis (preferentemente en la región visible entre 400 y 750 nm) con coeficientes de absorción molar ( $\epsilon$ ) superiores a  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; debe poseer una eficiencia de paso del estado excitado singlete (S1) al estado excitado triplete (T1) del fotosensibilizador ( $\Phi_{ISC}$ ), próxima al 100%, así como una energía del estado triplete (T1) del fotosensibilizador superior a la del oxígeno singlete ( $> 95 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) para que exista una transferencia de energía eficiente desde el

fotosensibilizador al oxígeno. Además debe contar con tiempos de vida del estado excitado en el orden del  $\mu\text{s}$  o superior, con objeto de permitir que haya tiempo suficiente para la colisión entre las moléculas de fotosensibilizador y las moléculas de oxígeno presentes en el medio; debe tener un alto rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) en distintos medios. En general, los buenos fotosensibilizadores tienen valores de  $\Phi_{\Delta}$  próximos a la unidad; buena estabilidad térmica y fotoquímica a fin de evitar la descomposición de las moléculas de fotosensibilizador, incluso por el propio oxígeno singlete fotogenerado<sup>4</sup>.

El mecanismo propuesto en la Esquema 3 resume los principales procesos fotoquímicos que pueden ocurrir cuando una solución que contiene un fotosensibilizador (S) y un sustrato fotooxidable (A) son irradiados con luz visible en presencia de oxígeno disuelto.

Inicialmente se genera el estado singlete excitado del sensibilizador,  $^1\text{S}^*$  (1) el cual puede decaer al estado fundamental S (2), ser inactivado por A (3), o producir un estado triplete excitado  $^3\text{S}^*$  (4). El  $^3\text{S}^*$  puede decaer al estado fundamental S (5), puede generar productos (6) o puede ser inactivado por  $\text{O}_2(^3\Sigma_g^-)$  generando  $\text{O}_2^{\bullet-}$  por transferencia de electrón (7) u  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  por transferencia de energía (8). El  $^3\text{S}^*$  también puede aceptar un electrón de A formando la especie semireducida del sensibilizador,  $\text{S}^{\bullet-}$ , y el catión radical del sustrato,  $\text{A}^{\bullet+}$  (9). Por otro lado,  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  puede ser inactivado físicamente por el solvente (10), por el sustrato (11) o bien puede reaccionar con A (12) o con S (13). La reacción 12 es la vía de desaparición de A más común en procesos mediados por  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ <sup>8</sup>.





**Esquema 3.** Mecanismo propuesto para fotooxidaciones sensibilizadas. (k: constantes de velocidad de:  $^1k_d$ : desactivación natural de  $^1S^*$ ;  $^1k_q$ : desactivación de  $^1S^*$  por A;  $k_{ISC}$ : entrecruzamiento de sistemas;  $^3k_d$ : desactivación natural de  $^3S^*$ ;  $^3k_p$ : formación de productos,  $^3k_{qO_2}$ : desactivación de  $^3S^*$  por  $O_2(^3\Sigma_g^-)$ ;  $k_{ET}$ : transferencia de energía;  $^3k_{qA}$ : desactivación de  $^3S^*$  por A;  $k_d$ : desactivación natural de  $O_2(^1\Delta_g)$ ;  $k_q$  desactivación física de  $O_2(^1\Delta_g)$  por A;  $k_r$  desactivación química de  $O_2(^1\Delta_g)$  por A;  $k_{rS}$  desactivación química de  $O_2(^1\Delta_g)$  por S.

En paralelo,  $S^{\bullet-}$  puede generar  $O_2^{\bullet-}$  por transferencia de electrón al oxígeno (14) y el  $O_2^{\bullet-}$  generado puede reaccionar químicamente con S (15) o con A (16)<sup>7,8</sup>.

## 2. Especies Reactivas de Oxígeno

El término especies reactivas de oxígeno, ROS (*reactive oxygen species*) se emplea para incluir a todas las especies de oxígeno radicalarias u otras que, aunque no contienen electrones desapareados, están implicadas en la generación de radicales libres. Estas especies se pueden separar en dos grupos:

- Radicales libres de oxígeno, tales como anión radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ), radical peroxilo ( $RO_2^{\bullet}$ ) y radical alcoxilo ( $RO^{\bullet}$ ).

- Derivados no radicales, como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), ácido hipocloroso (HClO), oxígeno singlete ( $O_2(^1\Delta_g)$ ) y ozono ( $O_3$ )<sup>9</sup>.

La formación de ROS ocurre a través de una serie de reacciones químicas donde los radicales libres y los intermediarios no radicalarios están interrelacionados<sup>10</sup>. Son moléculas muy reactivas debido a que en el último orbital tienen un electrón no apareado (radical libre), lo cual les confiere inestabilidad física. Las principales especies que se forman son las que se producen por la ruptura o excitación del oxígeno y las especies parcialmente reducidas ( $O_2(^1\Delta_g)$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet}$  y  $H_2O_2$ ).

También, como consecuencia de procesos fotosensibilizados, las ROS pueden generarse en el medio ambiente debido a la presencia de moléculas con capacidad sensibilizadora. Se ha demostrado que la presencia de sustancias húmicas, tales como los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos, y riboflavina en aguas, está asociada a la degradación fotooxidativa de múltiples contaminantes ambientales<sup>1,11-14</sup>.

### *Oxígeno Singlete ( $O_2(^1\Delta_g)$ )*

El oxígeno singlete es el estado excitado de menor energía del oxígeno molecular,  $O_2$ . El oxígeno en estado fundamental, es decir, con su configuración electrónica de mínima energía, tiene dos electrones desapareados o de espines paralelos, por lo que se trata de un estado de multiplicidad triplete. Por otro lado, su estado excitado de menor energía, el oxígeno singlete  $O_2(^1\Delta_g)$ , posee dos electrones apareados o de espines contrarios y un exceso de energía de 94,2 KJ/mol respecto al estado fundamental. Esta especie química excitada del oxígeno molecular tiene un fuerte carácter oxidante y se puede usar en procesos de desinfección y de oxidación de contaminantes. Dichos procesos se pueden llevar a cabo empleando tecnologías económicas, autónomas y seguras con el medio ambiente mediante el uso de fotosensibilizadores adecuados<sup>4</sup>.

El  $O_2(^1\Delta_g)$  es una especie electrofílica sumamente reactiva que tiene la capacidad de atacar rápidamente compuestos orgánicos. Dado que numerosas sustancias con las que reacciona se encuentran en estado fundamental singlete, entonces la reacción singlete-singlete es más probable, debido a la misma multiplicidad de espín, que una reacción triplete-singlete.

Está demostrado que el  $O_2(^1\Delta_g)$  también participa en la fotodegradación sensibilizada de compuestos tales como pesticidas fenólicos<sup>1</sup>, fungicidas, diversos fármacos, antioxidantes sintéticos, productos industriales, entre otros<sup>15-21</sup>.

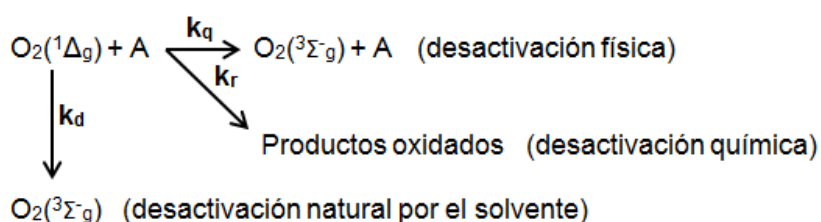
Debido a que el  $O_2(^1\Delta_g)$  es una molécula en estado electrónico excitado resulta muy inestable respecto a su estado fundamental, consecuentemente tiende a desactivarse por interacciones con moléculas de solvente y/o por colisiones con un sustrato, eventualmente, presente en el medio. La interacción con el sustrato puede ser de carácter físico, reactivo o ambos simultáneamente siendo este último el caso más típico.

La desactivación física ocurre cuando el sustrato desactiva a  $O_2(^1\Delta_g)$  por un mecanismo de transferencia de energía. Este proceso requiere que dicho sustrato tenga un estado triplete con energía menor a  $95 \text{ KJ mol}^{-1}$ . En general es un proceso que ocurre comúnmente en presencia de moléculas altamente conjugadas<sup>22</sup>.

La desactivación química ocurre cuando  $O_2(^1\Delta_g)$  reacciona químicamente con moléculas orgánicas para dar compuestos oxidados. La adición de oxígeno a dobles enlaces es el tipo de reacciones químicas en la que esta especie participa dada su configuración de electrones apareados. Se pueden mencionar como ejemplo las cicloadiciones (2+2) que dan lugar a dioxetanos, las cicloadiciones (4+2) que forman endoperóxidos y la reacción “eno” que generan hidroperóxidos alílicos<sup>21,22</sup>.

Ciertos compuestos pueden reaccionar con  $O_2(^1\Delta_g)$  a través de la formación de un complejo de encuentro con carácter parcial de transferencia de carga, en el cual  $O_2(^1\Delta_g)$  actúa como aceptor de electrones<sup>23,24,25</sup>. Luego, a partir del mismo, la desactivación de  $O_2(^1\Delta_g)$  puede ocurrir por vía química o física.

El esquema 4 representa un esquema simplificado de las posibles vías de desactivación.



**Esquema 4.** Esquema de desactivación de  $O_2(^1\Delta_g)$ . A: sustrato fotooxidable (desactivador),  $k_d$ : constante de velocidad de desactivación física de  $O_2(^1\Delta_g)$  por moléculas de solvente,  $k_q$ : constante de velocidad de desactivación física de  $O_2(^1\Delta_g)$  por el sustrato A,  $k_r$ : constante de velocidad de desactivación química de  $O_2(^1\Delta_g)$  por el sustrato A.

### *Anión Radical Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )*

En general la reactividad de  $O_2^{\bullet-}$  es débil. Interviene en procesos de fotodegradación sensibilizada de una gran variedad de sustratos entre los que se pueden mencionar fungicidas, antibióticos, herbicidas y otros compuestos<sup>14-18</sup>.

En el laboratorio, el método que se utilice para la generación de  $O_2^{\bullet-}$  dependerá del medio en el cual se lleve a cabo el estudio, ya sea solución acuosa o medio aprótico. En solución acuosa,  $O_2^{\bullet-}$  tiene un tiempo de vida corto, mientras que en medios apróticos, el tiempo de vida del ión es mucho más largo<sup>26</sup>.

Su reactividad está determinada por sus propiedades químicas tales como: basicidad, nucleofilicidad, propiedades de radical libre, propiedades redox, entre otras. Como la mayoría de las reacciones de  $O_2^{\bullet-}$  son estudiadas en solución, su reactividad también se verá afectada por la solvatación y la interacción con cationes, ya sea para formar pares iónicos de contacto o separados por solvente<sup>27</sup>.

### *Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ )*

Es un líquido altamente polar ligeramente más viscoso que el agua. Es relativamente estable a temperatura ambiente, pero se descompone con facilidad en oxígeno y agua por calentamiento o por exposición a la luz. Además, numerosas sustancias actúan como catalizadores de su descomposición, entre otras: metales de transición, álcalis, y óxidos metálicos.

No es un radical libre pero, al ser un oxidante débil, puede formarlos por interacción con metales. Las principales reacciones en las que participa son de descomposición, reacción de Fenton y Foto-Fenton y de óxido-reducción<sup>26,27</sup>.

### *Radical Hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ )*

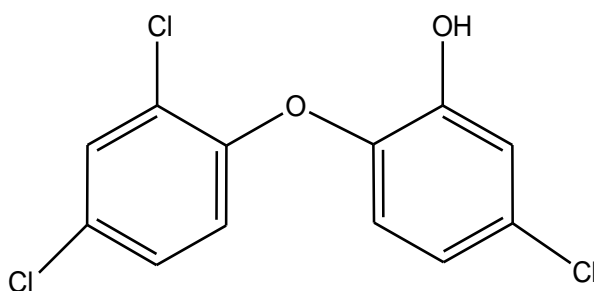
Es el radical libre más reactivo que existe<sup>28</sup>, participa en procesos de fotodegradación de compuestos como herbicidas, fungicidas, antibióticos, y otros contaminantes<sup>29-33</sup>.

En el laboratorio, la generación de este radical puede ser agrupada en métodos fotoquímicos y en métodos que involucran la transformación de especies químicas y otras formas de energía (métodos no fotoquímica) en el radical, por ejemplo, ozonización en medio alcalino, ozono/ $H_2O_2$ , oxidación electroquímica, etc.

### 3. Molécula de Estudio: Triclosán

Triclosán (TCS) es un pesticida que comercialmente se lo conoce como Irgasan<sup>34</sup>. Este antibacterial, posee en su mayoría, propiedades antibacterianas, aunque también algunas antifúngicas y antivirales<sup>35</sup>. Es un hidrocarburo aromático halogenado con peso molecular de 289,54 g/mol. Su nombre según IUPAC es 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol o 2,4,4-tricloro-2hidroxidifenileter. Su fórmula química es  $C_{12}H_7O_2Cl_3$ . Tiene un punto de fusión aproximadamente entre 54-57°C y un punto de ebullición 280-290°C. Es bastante insoluble en soluciones acuosas, a menos que sean a pH alcalinos, y es fácilmente soluble en solventes orgánicos<sup>34-37</sup>. Es químicamente estable y se puede calentar hasta 200°C durante 2hs. Esta estabilidad térmica lo hace adecuado para su incorporación a diferentes materiales plásticos<sup>35</sup>. Se encuentra en estado sólido como polvo blanco cristalino, poco volátil.<sup>36,37</sup>

Su estructura molecular es



**Figura 1.** Estructura molecular de Triclosán

En ecosistemas acuáticos, TCS existe mayoritariamente como su forma ionizada, y es la principal responsable de la mayoría de los efectos tóxicos que posee, por lo que controlar la concentración del compuesto es importante, ya que se ha demostrado, que su forma fenólica es bioacumulable en las especies acuáticas y persiste en estos ecosistemas por períodos prolongados de tiempo<sup>36,38</sup>

La fotodegradación del TCS dentro del rango de longitudes de onda de  $254 < \lambda < 305 \text{ nm}$  depende de la concentración de oxígeno como así también del pH<sup>33</sup>. Dado que la constante de disociación del compuesto es  $pK_a \sim 8,4$ , cuando el  $pH > pK_a$  se espera que se encuentre mayoritariamente en su forma desprotonada<sup>39</sup>. La forma disociada del TCS absorbe la luz del sol, por eso es posible su fotodegradación. Por otro lado, TCS es bastante estable a sufrir procesos de hidrólisis<sup>40</sup>.

De los posibles productos de fotodegradación directa de TCS, las dioxinas, específicamente 2,8-DCDD, es uno de los productos considerados peligrosos

para la salud<sup>34,41</sup>. Puede ser altamente cancerígeno y producir severos problemas como la debilitación del sistema inmunológico, disminución de la fertilidad, alteración de hormonas sexuales, etc<sup>35,36</sup>. También se producen por fotodegradación, el 2,8-diclorodibenzo-p-dioxina (2,8-DCDD) y el 2,4-diclorofenol (2,4-DCP). La fotodegradación tiene un rendimiento aproximado entre el 0,03-0,12 dependiendo de las condiciones usadas<sup>2,36,37,38</sup>.

#### **4. Referencias:**

<sup>1</sup> Escalada J.P., Pajares A., Gianotti J., Biasutti A., Criado S., Molina P., Massad W., Amat-Guerri F., García N.A. "Photosensitized degradation in water of the phenolic pesticides bromoxinil and dichlorophen in the presence of ribofavin, as model of their natural photodescomposition in the Environment". *J. of Hazardous Materials* 186 (2011) 466–472

<sup>2</sup> Gatica E.A. "Estudio de los mecanismos de fotodegradación directa y sensibilizada de contaminantes acuáticos". Tesis doctoral en Cs. Químicas. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup> Stumm W., Morgan J.J, "Aquatic Chemistry" *Wiley Interscience* Cap. 5. 1976

<sup>4</sup> Fresnadillo D.G. "Fotosensibilización y el sensibilizador: síntesis, propiedades y limitaciones". Lab. de Fotoquímica Aplicada. Madrid

<sup>5</sup> Burrows H.D., Canle M., Santaballa J.A., Steenken S. "Reaction pathways and mechanisms of Photodegradation of pesticides". *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 67 (2002) 71–108

<sup>6</sup> Foote C. S. "Definition of Type I and Type II Photosensitized oxidation". *Photochemistry und Photobiology* Vol. 54, No. 5, p. 659, 1991

<sup>7</sup> García N. A., Criado S. N., Massad W. A. "Riboflavin as a visible-light-sensitizer in aerobic photodegradation of ophthalmic and sympathomimetic drugs in: Comprehensive Series in Photosciences". *Photochemistry and Photobiology*. 2006.

<sup>8</sup> Reynoso E. "Cinética y mecanismo de la fotodegradación de antibióticos. Implicancias microbiológicas" Tesis Doctoral en Cs. Químicas. 2013

<sup>9</sup> Reiter R. J." The role of the neurohormone melatonin as a buffer against macromolecular oxidative damage". *Neurochemistry International*. 1995

<sup>10</sup> Gillham B., Papachristodoulou D. K., Thomas J. H. "Biochemical Basis of Medicine". Third Edition, Butterworth-Heinemann, London. 1997

<sup>11</sup> Aguer J.P., Richard C., Andreux F. "Effect of light on humic substance: production of reactive species". *Analysis*. 1999

<sup>12</sup> Ter Halle A., Richard C. "Simulated solar light irradiation of mesotriene in natural waters". *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, 3842-3847

<sup>13</sup> Halladja S., Amine-Khodja A., Ter Halle A., Boulkamh A., Richard C. "Photolysis of fluometuron in the presence of natural water constituents". *Chemosphere* 69 (2007) 1647–1654

<sup>14</sup> De la Rochette A., Silva E., Bilourez-Aragón I., Mancini A., Edwards A. M., Molière P. "Riboflavin photodegradation and photosensitizing effect is highly dependent on oxygen and ascorbate concentrations". *Photochemistry and Photobiology*, 2000, 72(6): 815–820

<sup>15</sup> Escalada J. P., Pajares A., Gianotti J., Massad W. A., Bertolotti S., Amat-Guerri F., García N. A. "Dye-sensitized photodegradation of the fungicide carbendazim and related benzimidazoles". *Chemosphere* 65 (2006) 237–244

<sup>16</sup> Massad W., Bertolotti S., Romero M., García N. A. "A kinetic study on the inhibitory action of sympathomimetic drugs towards photogenerated oxygen active species. The case of phenylephrine". *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 80 (2005) 130–138

<sup>17</sup> Reynoso E., Nesci A., Allegretti P., Criado S., Biasutti M. A. "Kinetic and mechanistic aspects of sensitize photodegradation of  $\beta$ -lactam antibiotics: Microbiological implications". *Redox Report*. 2012

- <sup>18</sup> Barbieri Y., Massad W., Diaz D., Sanz J., Amat-Guerri F., García N. A. "Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of Riboflavin: Kinetics, Mechanism and Photoproducts". *Chemosphere* 73 (2008) 564–571
- <sup>19</sup> Criado S., Allevi C., García N. A. "Visible-light-promoted degradation of the antioxidants propyl gallate and t-butylhydroquinone: Mechanistic aspect". *Redox Report*. 2012.
- <sup>20</sup> Purpora R., Massad W., Ferrari G., Reynoso E., Criado S., Miskoski S., Pajares A., García N. A. "The NAIDs indomethacin and diflunisal as scavengers of photogenerated reactive oxygen species". *Photochemistry and Photobiology*. 2013
- <sup>21</sup> Castillo C., Criado S., Díaz M., García N.A. "Riboflavin as a sensitizer in the photodegradation of tetracyclines. Kinetics, mechanism and microbiological implications". *Dyes and Pigments* 72 (2007) 178-184
- <sup>22</sup> Criado S. N. "Fotooxidaciones sensibilizadas de compuestos de importancia biológica" Tesis doctoral en Ciencias Químicas. 1997
- <sup>23</sup> Bellus D. "Singlet Oxygen. Reactions with Organic Compounds and Polymers". Ed. By B Ranby and J. F. Rabek. Jhon Wiley and Sons. New York. 1978
- <sup>24</sup> Gorman A. A., Hamblett I., Lambert C., Spencer B., Standen M. C. "Identification of both Preequilibrium and Diffusion limits for Reaction of Singlet Oxygen,  $O_2(^1\Delta_g)$ , with Both Physical and chemical quenchers: Variable-Temperature, Time-Resolved Infrared Luminescence Studies". *J. of the American Chemical Society* (1988) 110, 8053-8059
- <sup>25</sup> Gorman A. A., Lovering G., Rodgers M. A. J. "The Entropy-Controlled Reactivity of Singlet Oxygen ( $^1\Delta_g$ ) toward Furans and Indoles in Toluene. A Variable-Temperature study by Pulse Radiolysis". *J. of the American Chemical Society* 101-11(1979)
- <sup>26</sup> Afanas'ev I. B. "Superoxide ion: chemistry and biological implications". CRC Press, Boca Raton, Florida. 1989
- <sup>27</sup> Haber F., Weiss J. "The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts". *Proceeding of the Royal Society A*. 1934
- <sup>28</sup> George V., Clive L. Greenstock, W. Phillip Helman and Alberta B. Ross "Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ( $OH/O^-$ ) in Aqueous Solution".
- <sup>29</sup> Stangroom S. J., Macleod C. L., Lester J. N. "Photosensitized transformation of the herbicide 4-chloro-2-methylphenoxy acetic acid (MCPA) in water". *Water Research*. Vol. 32, No. 3, pp. 623-632, (1998)
- <sup>30</sup> Coelho C., Cavani L., Ter Halle A., Guyot G., Ciavatta C., Richard C. "Rates of production of hydroxyl radicals and singlet oxygen from irradiated compost". *Chemosphere* 85 (2011) 630–636
- <sup>31</sup> Song W., Chen W., Cooper W. J., Greaves J., Miller G. E. "Free-Radical Destruction of  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Aqueous Solution" *J. Physical Chemistry A*. (2008) 112, 7411–7417
- <sup>32</sup> Dail M. K., Mezyk S. P. "Hydroxyl-Radical-Induced Degradative Oxidation of  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Water: Absolute Rate Constant Measurements". *J. Physical Chemistry A*. (2010) 114, 8391–8395
- <sup>33</sup> Vialaton D., Richard C. "Phototransformation of aromatic pollutants in solar light: Photolysis versus photosensitized reactions under natural water conditions". *Aquat. Sci.* 64 (2002) 207–215
- <sup>34</sup> Wong-Wah-Chung P., Rafqah S., Vuyard G., Sarakha M. "Photochemical behaviour of Triclosán in aqueous solutions: Kinetic and analytical studies". *J. of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 191 (2007) 201–208
- <sup>35</sup> Schweizer H.P. "Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics". *FEMS Microbiology Letters* 202 (2001) 1-7
- <sup>36</sup> Rocha da Cortez das Neves A. "Photochemical degradation of Triclosán and comparison between different light source". Maestría en Ingeniería Ambiental, perfil Ingeniero Sanitario. Lisboa, Portugal. 2014
- <sup>37</sup> Dann A., Hontela A. "Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action" *J. Applied Toxicology*. 2011
- <sup>38</sup> Canosa Rodriguez. Ma.P "Desarrollo de metodología analítica para la determinación de Triclosán y parebenes. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales". Tesis doctoral en Cs. Químicas. Santiago de Compostela. 2008
- <sup>39</sup> Taştan B.E., Dönmez G. "Biodegradation of pesticide triclosan by *A. versicolor* in simulated wastewater and semi-synthetic media". *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118 (2015) 33–37

---

<sup>40</sup> Singer H., Müller S., Tixier C., Pillonel L. "Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments". *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 4998-5004

<sup>41</sup> Latch D., Packer J., Arnold W., McNeill K. "Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution". *J. of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 158 (2003) 63–66



## 1. Reactivos y Solventes

- *Solventes:*

Agua tridestilada (H<sub>2</sub>O) y Alcohol metílico (MetOH), grado HPLC. Sintorgan, Argentina

- *Sustancia de Estudio:*

Irgasan≥97.0% (HPLC). Sigma-Aldrich

- *Compuestos de referencia:*

Furfuril alcohol (FFA). Aldrich.

- *Sensibilizadores:*

Rosa de bengala (RB) 92%, Riboflavina (Rf) y Perinaftenona (PN) 97%. Aldrich.

- *Otros reactivos:*

Superóxidodismutasa (SOD). Sigma

Hidróxido de sodio (NaOH), Merk, 99% utilizado para ajustar el pH de las soluciones utilizadas.

## 2. Preparación de las soluciones

En las experiencias de fotólisis directa, se trabajó con concentraciones diferentes para TCS en solución de MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v y MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v 0,05M NaOH, dado que lo que se ajustó fueron las absorbancias a un valor de 0,8 a 254nm.

Para las experiencias de fotólisis sensibilizada se utilizaron soluciones recientemente preparadas de los sensibilizadores, con absorbancias de entre 0,35 y 0,6 en el máximo de absorción de cada colorante. En las experiencias resueltas en el tiempo se utilizaron soluciones de los sensibilizadores de absorbancia en el máximo comprendidas entre 0,1 y 0,3.

Las concentraciones del sustrato utilizadas variaron según la experiencia a realizar, y teniendo en cuenta la solubilidad del compuesto, la cual en agua ( 20°C) es aproximadamente 0,01 g/l, en n-hexano ( 25°C ) es 85 g/l y en otros disolventes tales como etanol y acetona es altamente soluble ( 25°C)>1000 g/l.

Para determinaciones de consumo de oxígeno (técnica explicada en equipamiento y metodología) con Rf, se trabajó con soluciones de concentración aproximada a  $5 \times 10^{-4}$ M en mezcla homogénea MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v. En el caso de RB y PN se utilizó la misma concentración en 3 medios diferentes: MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v, MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v pH~12 y H<sub>2</sub>O pH~12.

Para determinaciones de consumo de sustrato (técnica explicada en equipamiento y metodología) con Rf, se trabajó con una concentración aproximada de  $1,5 \times 10^{-4}$ M en la misma mezcla homogénea utilizada con anterioridad (MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v). Para la misma determinación pero utilizando como sensibilizador RB, se mantuvo el valor aproximado de la concentración del sustrato, y se realizó la experiencia en los 3 medios nombrados anteriormente.

Las soluciones se emplearon saturadas en aire o bien desoxigenadas por burbujeo con argón ultrapuro y saturado con el solvente de trabajo para evitar la evaporación de la muestra. El burbujeo se aplicó durante al menos 15 minutos para asegurar la completa desoxigenación.

En las medidas cinéticas resueltas en el tiempo por la técnica de láser flash fotólisis, el sustrato se disolvió en la solución del sensibilizador, utilizando MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v como disolvente. Previo a las medidas, la solución es desoxigenada por burbujeo con gas Argón ultrapuro, durante 20 minutos aproximadamente. La concentración del sustrato varió con el uso del sensibilizador. En el caso de la Rf, la concentración de TCS fue aproximadamente  $5 \times 10^{-4}$ M y en el caso del RB se trabajó con una concentración aproximada a  $1 \times 10^{-3}$ M.

Cabe aclarar que todas las determinaciones se realizaron a temperatura ambiente con soluciones preparadas recientemente, y que las experiencias se realizaron por duplicado y en algunos casos por triplicado.

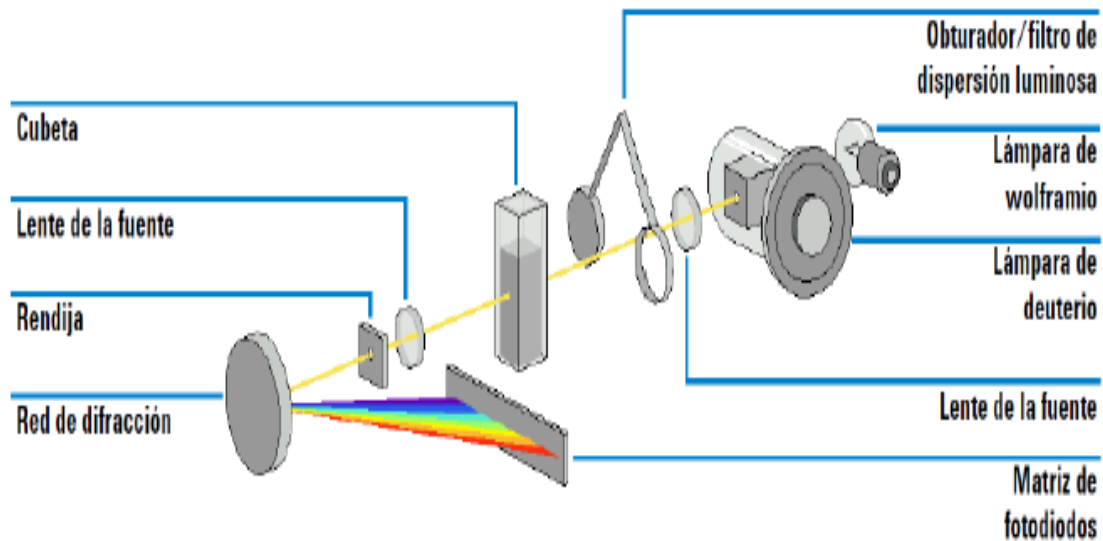
### **3. Equipamiento y metodología**

Los espectros de absorción se tomaron en un espectrofotómetro Agilent 8453. El sistema óptico del espectrofotómetro se muestra en la Figura 2. Su fuente de radiación consiste en una combinación de una lámpara de descarga de deuterio para el rango de longitudes de onda de UV (ultravioleta) y una lámpara de wolframio para el rango de longitudes de onda visible y de SWNIR (onda corta del infrarrojo cercano). La imagen del filamento de la lámpara de wolframio se enfoca en la abertura de descarga de la lámpara de deuterio mediante un diseño especial de la lámpara con acceso posterior que permite combinar ópticamente ambas fuentes luminosas y compartir un eje común con respecto a la lente de la fuente. La lente de la fuente forma un único haz luminoso colimado. El haz pasa a través del área del obturador/filtro de corrección de dispersión luminosa, y a continuación, a través de la muestra hasta la lente y la rendija del espectrógrafo. En el espectrógrafo, la luz se dispersa sobre una matriz de diodos mediante una red de difracción holográfica. Esto permite un acceso simultáneo a toda la información de longitudes de onda. El resultado es un aumento sustancial de la velocidad a la que se pueden adquirir espectros<sup>1,2</sup>.

La fuente luminosa utilizada para el rango de longitudes de onda de UV es una lámpara de deuterio con una abertura a través de la cuál pasa la luz. Como consecuencia de la descarga de plasma en un gas de deuterio de baja presión, la lámpara emite luz en el rango de longitudes de onda comprendido entre 190 nm y aproximadamente 800 nm. La fuente luminosa utilizada para el rango de longitudes de onda visibles y SWNIR es una lámpara de wolframio de bajo ruido. La lámpara emite luz a través del rango de longitudes de onda comprendido entre 370 y 1.100 nm.

La combinación de dispersión y representación de imágenes espectrales se consigue utilizando una red de difracción holográfica cóncava. Ésta dispersa la luz sobre la matriz de diodos a un ángulo proporcional a la longitud de onda.

La matriz de fotodiodos es el núcleo del espectrógrafo<sup>3</sup>. Se trata de una serie de 1024 fotodiodos y circuitos de control individuales grabados sobre un chip semiconductor, con un rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 1100 nm, el intervalo de muestreo nominal es de 0,9 nm.



**Figura 2.** Sistema óptico del espectrofotómetro

### *Experiencias de fotólisis de estado estacionario*

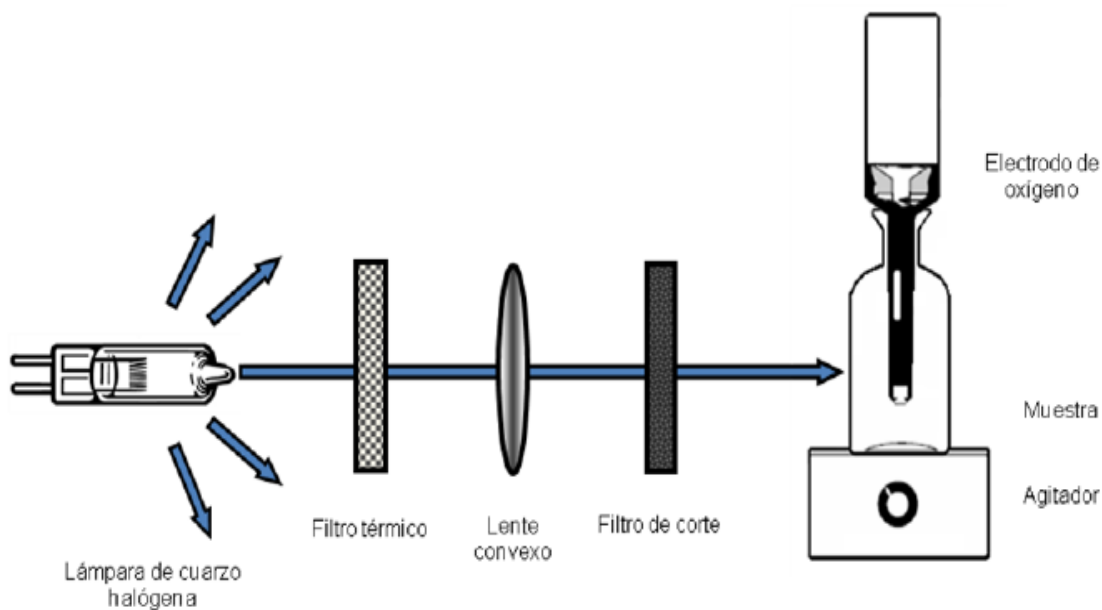
- Fotólisis directa:

Para la de fotodegradación directa del pesticida TCS se emplea un Reactor Rayonet con cuatro lámparas fluorescente de 6 w cada una, con emisión a 254 nm. Los espectros de absorción a diferentes tiempos de fotólisis se tomaron con un espectrofotómetro Agilent 8453 ya descrito en esta sección. Se utilizó para todos los métodos mencionados una celda de cuarzo de paso óptico 1 cm y capacidad 3,5 mL, siendo el volumen de solución utilizado para fotolizar de 2,5 mL.

- Fotólisis sensibilizada:

Las medidas de fotooxidación en condiciones estacionarias (con fuente de irradiación continua) se realizaron irradiando con luz visible soluciones acuosas del TCS en presencia del sensibilizador<sup>4</sup>. Las mediciones fueron, por consumo de oxígeno y de sustrato las que se realizaron de la siguiente manera:

- Consumo de oxígeno: Las medidas de consumo de oxígeno se realizaron en un equipo de fotólisis montado en nuestro laboratorio (Figura 5)<sup>4</sup>. El mismo consta de las siguientes partes:



**Figura 3.** Diagrama del equipo de consumo de oxígeno.

Como fuente de irradiación continua se utilizó una lámpara de cuarzo halógena con filamento de tungsteno de 150 W (OSRAM XENOPHOT HPLX 64640) focalizada en el recipiente que contiene el electrodo de oxígeno y, cuyo espectro de emisión describe una curva suave y continua que abarca todo el espectro visible e infrarrojo cercano, emitiendo también parte de radiación UV.

Se utilizó un filtro de vidrio de corte a 361nm cuando se utilizó Rf y de 330nm para RB y PN, es decir, que solo permite el paso de radiación de longitudes de onda superiores a las mencionadas, con lo cual se evita que el sustrato fotooxidable absorba radiación y que el único capaz de absorber la luz irradiada sea el sensibilizador.

Además el fotolizador cuenta con lentes convexas con la finalidad de focalizar en un área pequeña, la emisión dispersa de la lámpara.

El electrodo específico para oxígeno disuelto que se emplea es un electrodo de oxígeno ThermoOrion97-08 acoplado a un pH-metro Orion 720. Es un dispositivo polarográfico que consiste de un par de electrodos de plata polarizados y un electrolito, separados de la muestra por una membrana permeable a los gases. El oxígeno difunde a través de la membrana del electrodo y es reducido a iones hidroxilo en

el cátodo de plata.

A cualquier temperatura dada, la corriente que fluye entre el cátodo y el ánodo es directamente proporcional al nivel de oxígeno fuera de la membrana. La corriente producida por la reducción del oxígeno es convertida a voltaje de manera tal que la señal de salida del electrodo pueda ser utilizada por un medidor de pH para proveer una lectura directa de ppm de O<sub>2</sub> en la escala de pH.

El rango de detección de este electrodo es de 0 ppm a 14 ppm, la temperatura óptima de trabajo puede variar de 15 a 35°C, entre dichas temperaturas la precisión del electrodo es de ±0.05 ppm.

Se trabaja bajo agitación continua para garantizar la homogeneidad de la solución y la incidencia lumínica durante toda la experiencia<sup>5</sup>.

- Consumo de sustrato: En las experiencias de fotólisis estacionaria por consumo de sustrato monitoreada por espectroscopía UV-vis se empleó un espectrofotómetro Agilent 8453 en modo cinético con un portacelda especialmente diseñado para facilitar la toma de espectros de absorción a lo largo del tiempo de fotólisis (Figura 4)<sup>6</sup>. Dicho portacelda posee como fuente de iluminación 2 lámparas LED de colores intercambiables de manera tal de lograr la absorción de luz únicamente por el colorante. Por lo tanto cuando se trabajó con rosa de Bengala, se colocaron LEDs verdes mientras que para trabajar con Riboflavina se emplearon LEDs azules.



**Figura 4.** Imágenes del portacelda diseñado para de consumo de sustrato.

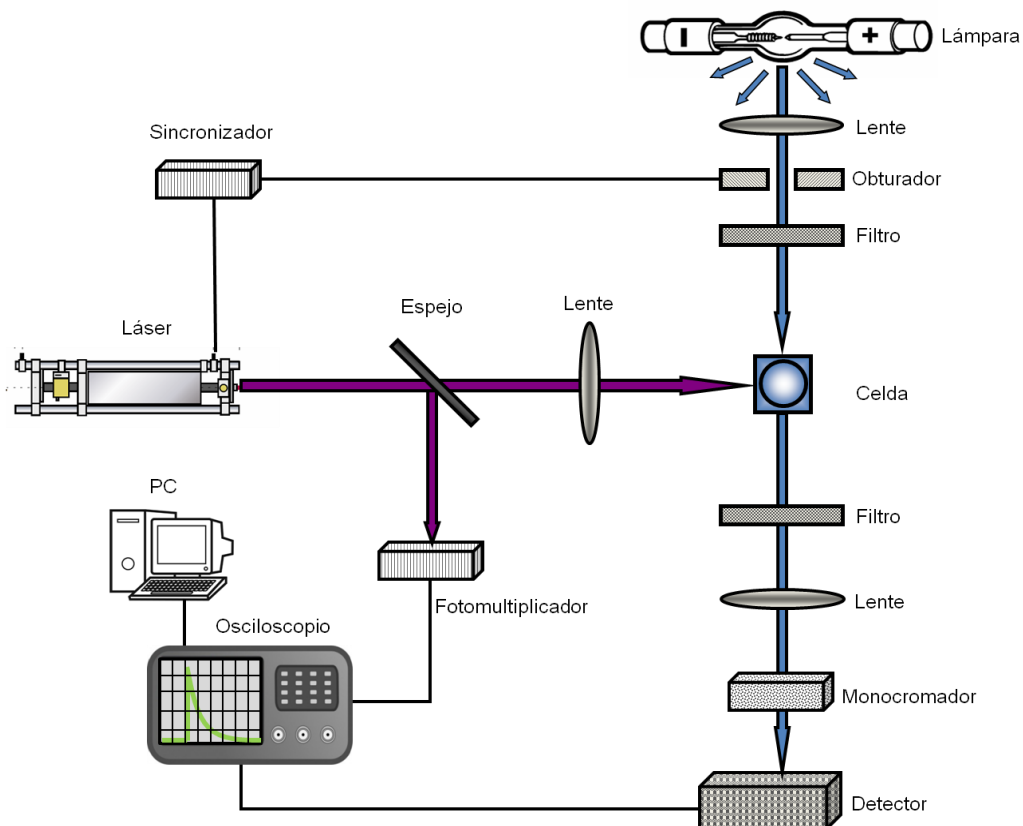
### *Experiencias resueltas en el tiempo*

- Láser Flash Fotólisis: La generación y desaparición del triplete excitado del sensibilizador ( $^3S^*$ ) se determina utilizando la técnica de láser flash fotólisis (LFF). La determinación del tiempo de vida de Rf en su estado triplete se realizó usando para la aplicación de esta técnica un láser de Nd:YAG Quantel (armónico a 355nm) y para excitar RB se utilizó un láser Nd-Yag, Spectron Lasser System, SL400 (armónico a 532nm).

El haz del láser fue desenfocado con la finalidad de cubrir todo el paso óptico (10 mm) del haz analizador proveniente de una lámpara de xenón de 150W (Figura 5). El haz de excitación se encuentra orientado a  $90^\circ$  respecto de la luz analizadora. Con el fin de proteger el tubo fotomultiplicador y de evitar la fotodegradación de la muestra por la absorción de la radiación de la lámpara analizadora, se coloca en el camino del haz de excitación un obturador (shutter) cuya apertura está sincronizada con la frecuencia de disparo del láser. La radiación transmitida por la muestra es recibida por el monocromador y detectada luego en el fotomultiplicador, donde es transformada a una señal eléctrica.

Los experimentos fueron realizados utilizando celdas de cuarzo rectangulares.

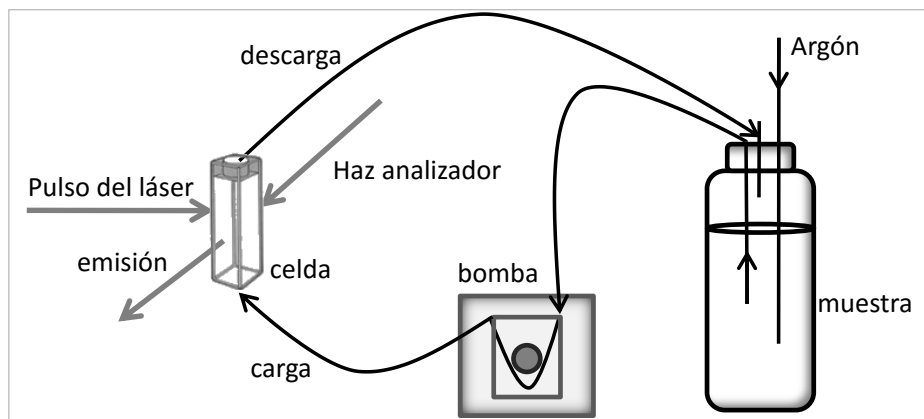
El sistema de detección consistió en un monocromador PTI acoplado a un tubo fotomultiplicador Hamamatsu R666. La señal fue adquirida por un osciloscopio HP 54502 donde fue promediada y luego transferida a una PC para su procesamiento mediante un programa de análisis (Microcal Origin)<sup>7,8</sup>.



**Figura 5.** Diagrama del Equipo para Flash Fotólisis.

Dado que el sensibilizador Rf es un colorante lábil a la luz, para la realización de los espectros de la especie excitada,  $^3Rf^*$ , en ausencia y presencia del CE se utilizó el equipamiento de LFF descrito anteriormente, adaptado a un sistema de flujo continuo a través de una bomba peristáltica (Master Flex C/L, Cole Parmer, Modelo 77122-22) la cual permite recircular la solución desgasada del sensibilizador (o sensibilizador y sustrato) a través de la celda que recibe el pulso de láser y el haz analizador. El recipiente que contiene la solución de Rf que circula por la celda posee tuberías impermeables al oxígeno que permiten la entrada y salida del líquido, así como también la entrada de gas Argón de forma constante. Todas las conexiones y recipientes se encuentran protegidos de la luz durante el transcurso del experimento. Un esquema del sistema utilizado se presenta a continuación.





**Figura 6.** Esquema del sistema utilizado para mantener flujo constante en medidas de LFF

#### **4. Métodos cinéticos de análisis**

El mecanismo requerido para comprender los mecanismos de reacción de la fotodegradación sensibilizada en la evaluación de las constantes de velocidad de desactivación total y reactiva de oxígeno singlete, fue mostrado en el Esquema 4 del capítulo Consideraciones Teóricas.

Las determinaciones se realizaron en presencia de RB y PN como sensibilizadores a pH neutro (MetOH/H<sub>2</sub>O 50%v/v), pH básico (MetOH/H<sub>2</sub>O 50%v/v y NaOH 0,05M) y en solución acuosa básica (H<sub>2</sub>O y NaOH 0,05M) con el fin de investigar la influencia de esta variable sobre el proceso fotooxidativo. En presencia de Rf las determinaciones solo se realizaron a pH neutro, debido a que el sensibilizador es sensible a las condiciones del medio<sup>9,10</sup>.

*Determinación de la constante de velocidad ( $k_r$ ) de oxidación por consumo de oxígeno.*

Se procedió a la irradiación sensibilizada del pesticida y de la referencia en condiciones de pseudo primer orden respecto de ambos. Se siguió el consumo de O<sub>2</sub> a través del tiempo utilizando un electrodo específico para oxígeno, descrito anteriormente. La referencia empleada en esta experiencia fue furfural alcohol (FFA), que posee un valor conocido de  $k_r$ :  $1,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  en agua y  $6,02 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  en MetOH/H<sub>2</sub>O 50%V/V<sup>11,12</sup>.

La velocidad relativa de consumo de oxígeno fue obtenida a partir de la

relación de las pendientes de los gráficos en función del tiempo de irradiación. Este método fue descrito por primera vez por Foote y Ching y compara las pendientes de los gráficos de primer orden para consumo del pesticida[P] y de la referencia[R] en un dado tiempo de irradiación<sup>13</sup>. En las condiciones de trabajo se cumple que [P] = [R], de manera que la relación de las pendientes es la relación de las constantes de velocidad. Esto se expresa claramente en la ecuación que sigue:

$$\text{Pendiente}_P / \text{Pendiente}_R = k_r [P] / k_{rR} [R]$$

Donde pendiente P y pendiente R son las pendientes de los gráficos de primer orden de consumo de oxígeno por P y un compuesto de referencia. Hay que notar que  $k_r^{CO_2} = k_r^{CS}$  solo se cumple cuando el pesticida incorpora una molécula de O<sub>2</sub> en el proceso de fotooxidación. Las constantes de velocidad por consumo de oxígeno se determinaran para TCS en las siguientes condiciones:

- Sensibilizador RB en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v, en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v con NaOH 0,05M y H<sub>2</sub>O con NaOH 0,05M
- Sensibilizador PN en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v, en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v con NaOH 0,05M y H<sub>2</sub>O con NaOH 0,05M

Además se realizó la experiencia con sensibilizador Rf en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v para establecer la posible participación de diferentes ROS en la fotodegradación sensibilizada del TCS; para la realización del consumo de oxígeno en condiciones aeróbicas de fotoirradiación estacionaria, fue evaluado en ausencia y en presencia del inhibidor SOD, para determinar la intervención de O<sub>2</sub>•-, y los resultados fueron expresados, en el caso de Rf, como la relación de las pendientes iniciales de los gráficos de consumo de oxígeno vs. tiempo de irradiación en presencia y ausencia del inhibidor ( $V_{inh}/V_0$ ).

### *Caracterización del estado triplete excitado de Rf*

Se utilizó la técnica de láser flash fotólisis para evaluar la interacción entre los sustratos y el estado triplete del sensibilizador en ausencia de oxígeno. Los tiempos de vida del estado triplete de Rf<sup>14,15</sup> se determinaron por medio de un ajuste monoexponencial de la señal de decaimiento de la especie obtenida a una longitud de onda dada, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A_t = A_0 \cdot e^{-t/{}^3\tau}$$

Donde:

$A_t$  es la absorbancia a un tiempo  $t$  posterior al pulso de excitación

$A_0$  es la absorbancia a  $t = 0$  y

${}^3\tau$  es el tiempo de vida del estado triplete del sensibilizador.

La absorbancia de las especies transitorias a una longitud de onda y un tiempo fijos se calculó utilizando la ley Lambert y Beer:

$$A_\lambda = -\log\left(\frac{I_t}{I_0}\right) = -\log\left(\frac{I_0 - I_a}{I_0}\right)$$

Donde

$I_t$  es la intensidad de luz transmitida

$I_0$  es la intensidad de luz incidente en la muestra

$I_a$  es la intensidad de luz absorbida que se logra analizando el decaimiento obtenido directamente en un osciloscopio.

Se determinó  ${}^3k_d$  (Esquema 3, capítulo Consideraciones Teóricas) aplicando un tratamiento de Stern-Volmer, a partir de la pendiente de la recta obtenida al graficar  $1/{}^3\tau$  vs  $[Q]$ :

$$\frac{1}{{}^3\tau} = \frac{1}{{}^3\tau_0} + {}^3k_d[Q]$$

Donde:

${}^3\tau$  es el tiempo de vida del estado triplete del sensibilizador en presencia de Q.

${}^3\tau_0$  es el tiempo de vida del estado triplete del sensibilizador en ausencia de Q.

${}^3k_d$  constante de quenching del estado triplete de Rf.

## 5. Referencias

- <sup>1</sup> Reynoso E. "Cinética y mecanismo de la fotodegradación de antibióticos. Implicancias microbiológicas". Tesis Doctoral en Cs. Químicas. 2013
- <sup>2</sup> Gatica E.A. "Estudio de los mecanismos de fotodegradación directa y sensibilizada de contaminantes acuáticos". Tesis Doctoral en Cs. Químicas.
- <sup>3</sup> Agilent 8453 Sistema de Espectroscopía UV-visible. *Guía del Usuario. ed 10*. 2003.
- <sup>4</sup> S. Miskoski, N.A. García."Dark and photoinduced interactions between Riboflavin and indole auxins" *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 1991
- <sup>5</sup> Orion Oxygen *Electrode Instruction Manual*. Thermo Electron Corporation. 2003
- <sup>6</sup> W. A. Massad, Y.Barbieri, M. Romero and N. A. García. "Vitamin B2-sensitized Photo-oxidation of Dopamine". *Photochemistry and Photobiology*, 2008, 84: 1201–1208
- <sup>7</sup> Y. Barbieri, W. A. Massada, D. J. Diaz, J. Sanz, F. Amat-Guerri b, N. A. Garcia. "Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of riboflavin: Kinetics, mechanism and photoproducts". *Chemosphere* 73 (2008) 564–571
- <sup>8</sup> Díaz M., Luiz M., Alegretti P., Furlong J., Amat-Guerri F., Massad W., Criado S., García N. A. "Visible-light-mediated photodegradation of 17 $\beta$ -estadiol: Kinetics, Mechanism and Photoproducts". *J. of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 202 (2009) 221–227
- <sup>9</sup> Schuman Jorns M., Schollhammer G., Hemmerich P. "Intramolecular addition of the riboflavin side chain. Anion-catalysed neutral Photochemistry". *European Journal of Biochemistry*. 57, 35-48 (1975)
- <sup>10</sup> Ahmad I., Fasihullah Q., Noor A., Ansari I. A., Ali Q. N. M. "Photolysis of riboflavin in aqueous solution: a kinetic study". *International Journal of Pharmaceutics* 280 (2004) 199–208
- <sup>11</sup> W. R. Hagg and J. Hoigné. "Singlet oxygen in surface waters. Photochemical formation and steady-state concentrations in various types of waters environmental". *Science and Technology*. 1986, 20, 341-348
- <sup>12</sup> Y. Barbieri, W. A. Massada, D. J. Diaz, J. Sanz, F. Amat-Guerri b, N. A. Garcia. "Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of riboflavin: Kinetics, mechanism and photoproducts". *Chemosphere* 73 (2008) 564–571
- <sup>13</sup> C. S. Foote and T. Y. Ching. "Chemistry of singlet oxygen. Kinetics of bilirubin photooxygenation". *J. of the American. Chemical Society*. 1975. p.:6209-6214.
- <sup>14</sup> I. Y. Carmichael, G. Hug. *J. Phys. Chem. Ref.Data*, 15:1. 1986
- <sup>15</sup> M. Keynes. "Light, chemical change and life". *J. D. Coyle, R. R. Hill and D. R. Roberts eds. Open University*. 1982.

## 1. Características de los sensibilizadores usados

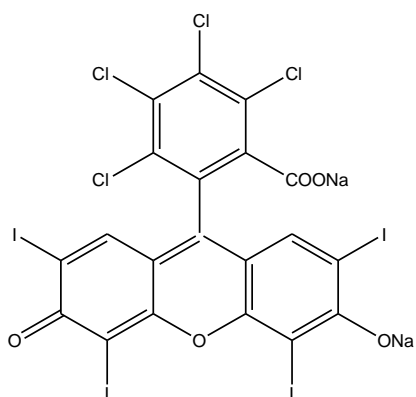
Los 3 sensibilizadores empleados en este Trabajo Final son: Rosa de Bengala (RB), Perinaftenona (PN) y Riboflavina (Rf). El RB es un colorante xanténico artificial el cual resulta uno de los fotosensibilizadores más empleados para el estudio de fotodegradación en general<sup>1</sup>, la PN es un fotosensibilizador generador exclusivo de  $O_2(^1\Delta_g)$ . Ambos producen esta especie con rendimientos en agua de 0,7 y 1 respectivamente.

La Rf es un pigmento natural, que fue elegido como sensibilizador debido a que es capaz de absorber luz visible y fotosensibilizar la degradación de un amplio rango de sustratos vía radicales libres (Mecanismo Tipo I) o mediados por oxígeno singlete (Mecanismo Tipo II)<sup>2</sup>. Es importante tener en cuenta que Rf es sensible a la luz. La naturaleza y la magnitud de las reacciones fotoquímicas que ocurren como interacción entre la luz y Rf dependen de varios factores tales como la polaridad del solvente, el pH del medio, fuerza iónica, contenido de oxígeno, intensidad de la luz y longitud de onda. En los experimentos en presencia de Rf se trabajó a pH~7 (MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v).

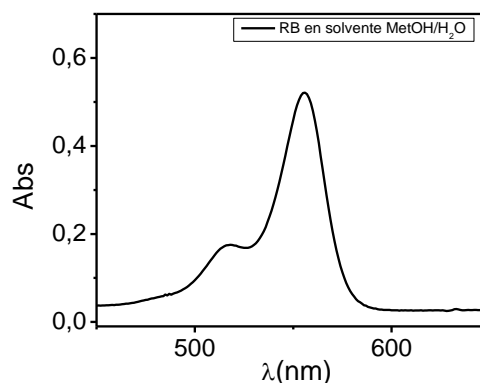
A continuación se presentan las estructuras químicas de los mismos y sus espectros de absorción.

- Rosa de bengala (fluoresceína 3, 4, 5, 6-tetracloro-2', 4', 5', 7'-tetraiodo-dianión)

a)

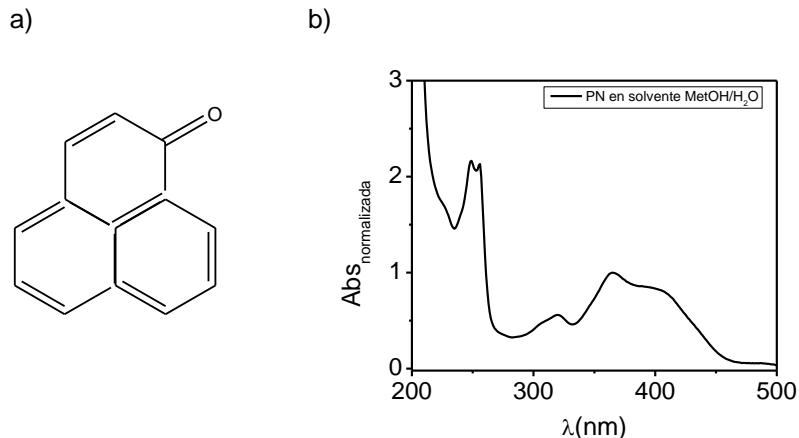


b)



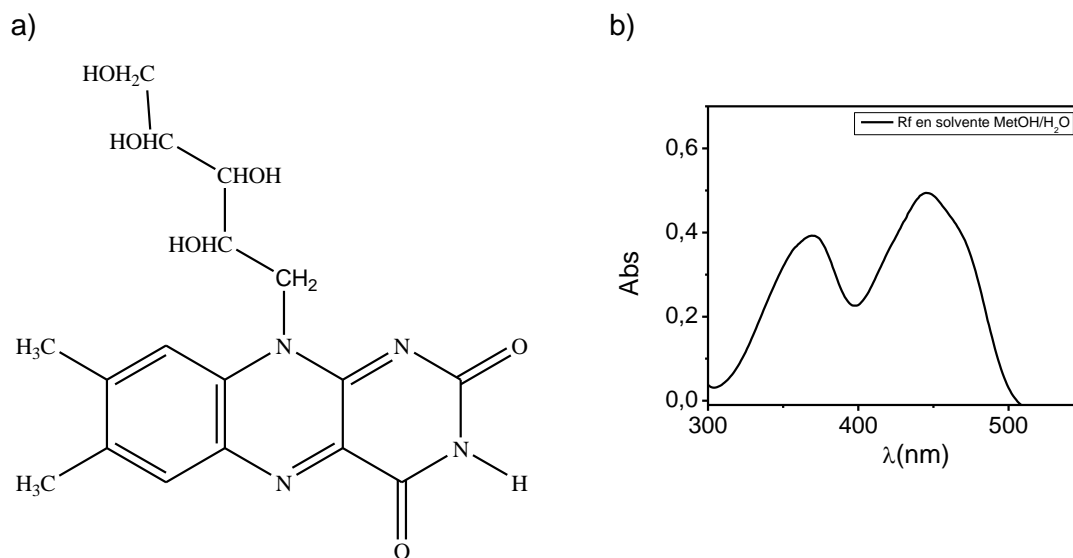
**Figura 1.1.** a) Estructura química de RB; b) Espectro de absorción del sensibilizador en medio MetOH/H<sub>2</sub>O

- Perinaftenona (1-H-fenalen-1-ona)



**Figura 1.2.** a) Estructura química de la PN; b) Espectro de absorción del sensibilizador en MetOH/H<sub>2</sub>O

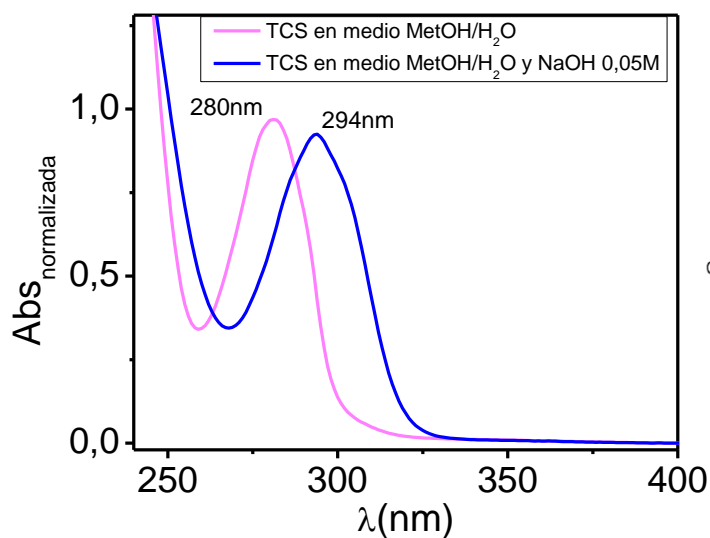
- Riboflavina (vitamina B2)



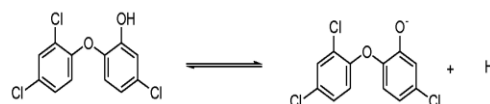
**Figura 1.3.** a) Estructura química de Rf; b) Espectro de absorción del sensibilizador en MetOH/H<sub>2</sub>O

## 2. Características del compuesto de estudio

En la siguiente figura se muestran los espectros de absorción normalizados a la longitud de onda máxima del sustrato (280nm en medio neutro y 294 en medio básico), obtenidos a partir de la medición en los 2 medios utilizados.



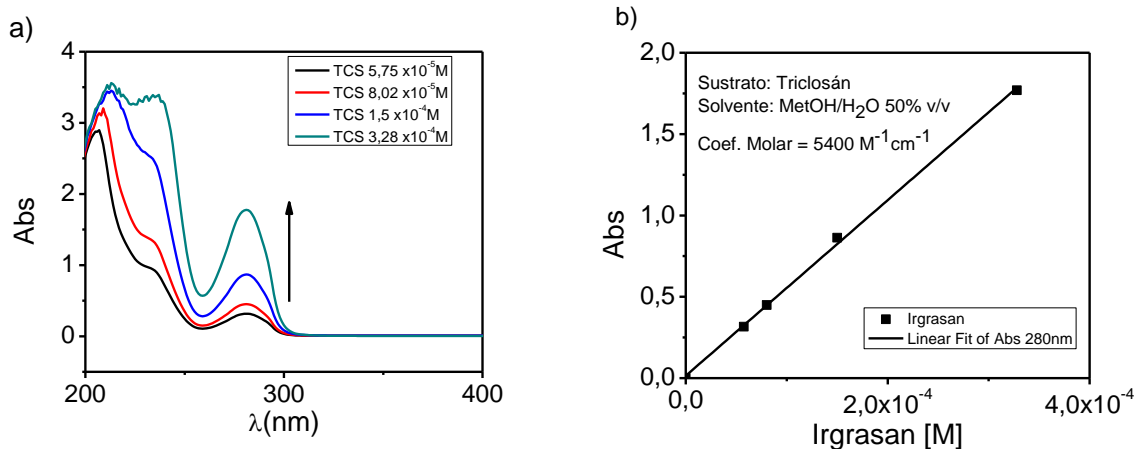
**Figura 2.1.** Espectros de absorción de TCS en diferentes medios.



Equilibrio químico del TCS con su forma fenolato

El pKa se obtuvo de bibliografía. Es un fenoxifenol clorado con un pKa~8.4<sup>3</sup>, cuando pH<pKa, predomina la especie protonada del TCS, y cuando pH>pKa se espera que predomine la especie desprotonada<sup>4</sup>.

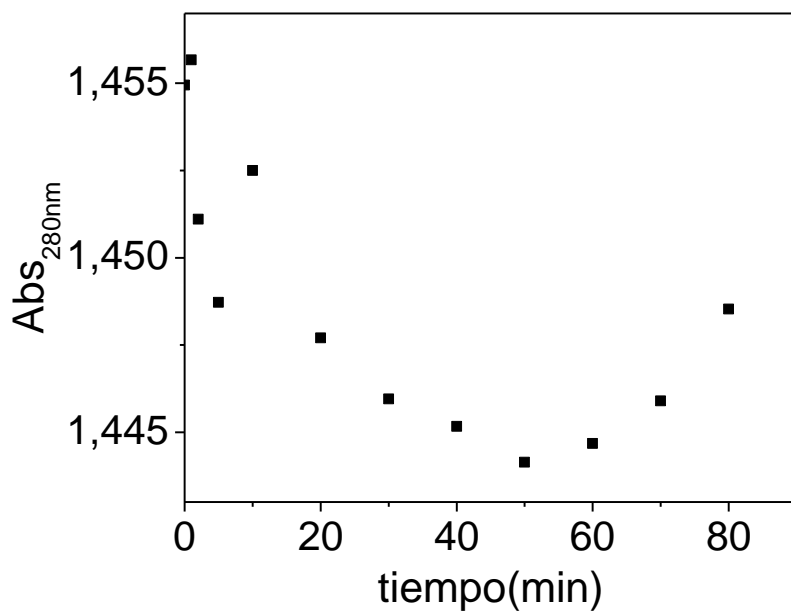
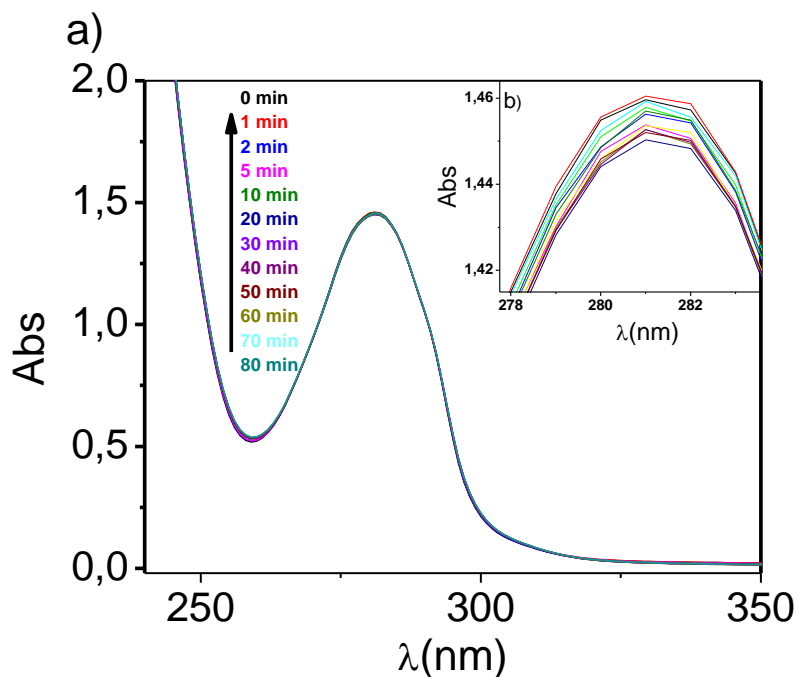
También se determinó el coeficiente de absorción molar ( $\epsilon$ ) del TCS en medio MetOH/H<sub>2</sub>O. El resultado se determinó por la ley de Lambert-Beer<sup>5</sup>, registrando los espectros de absorción a diferentes concentraciones del sustrato. Luego se graficó la absorbancia a la longitud de onda máxima de absorción en función de la concentración. De la pendiente es posible determinar  $\epsilon$ .



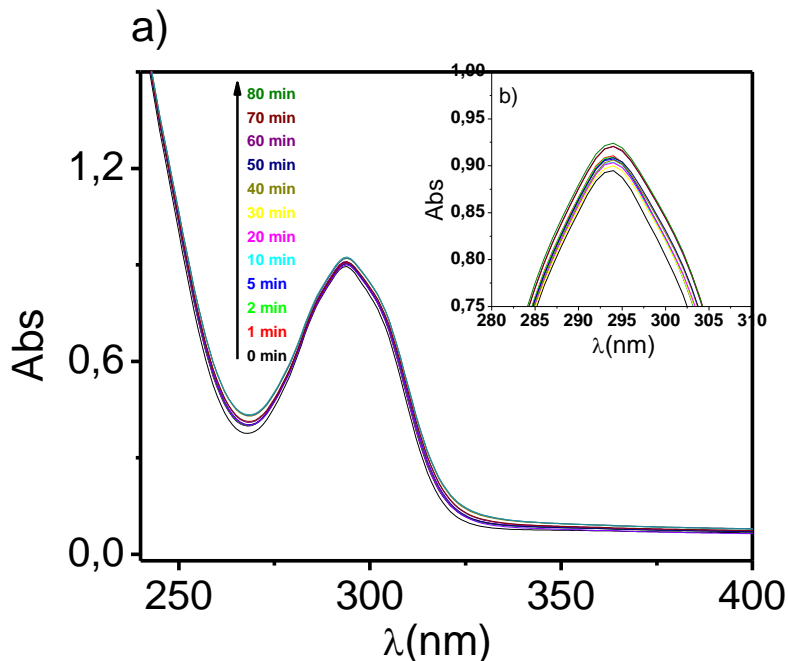
**Figura 2.2.** a) Espectros de absorción de TCS en función de la concentración molar en solvente MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v. b) Absorbancia a 280nm en función de la concentración molar de TCS.

### 3. Fotodegradación directa del TCS

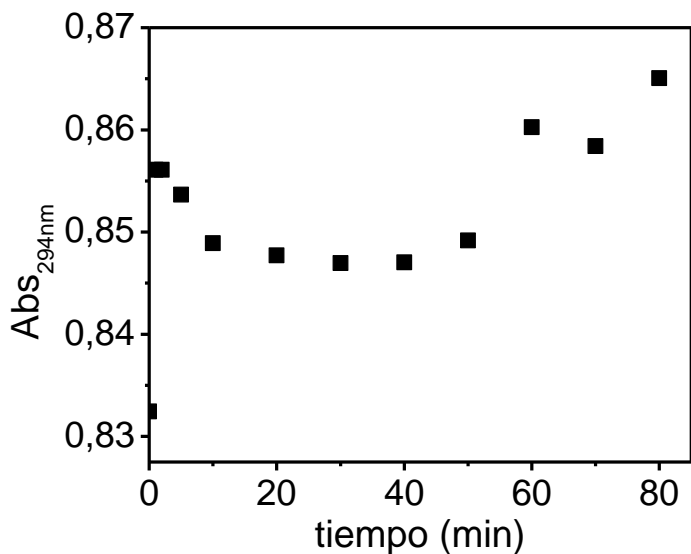
La fotólisis con radiación a 254 nm de 2,5 mL de una solución de TCS en una celda de cuarzo ( $b = 1$  cm), produce cambios espectrales como los que se observa en las siguientes figuras:







**Figura 3.3.** a- Espectro de absorción de TCS en función del tiempo de irradiación ( $t_{\text{FOT}}$  1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80min).  $[\text{TCS}] = 1,07 \times 10^{-4} \text{M}$  en  $\text{MetOH}/\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NaOH}$  0,05M. b- Espectro de absorción de TCS en función del tiempo de irradiación con escala aumentada para facilitar la observación de los cambios.

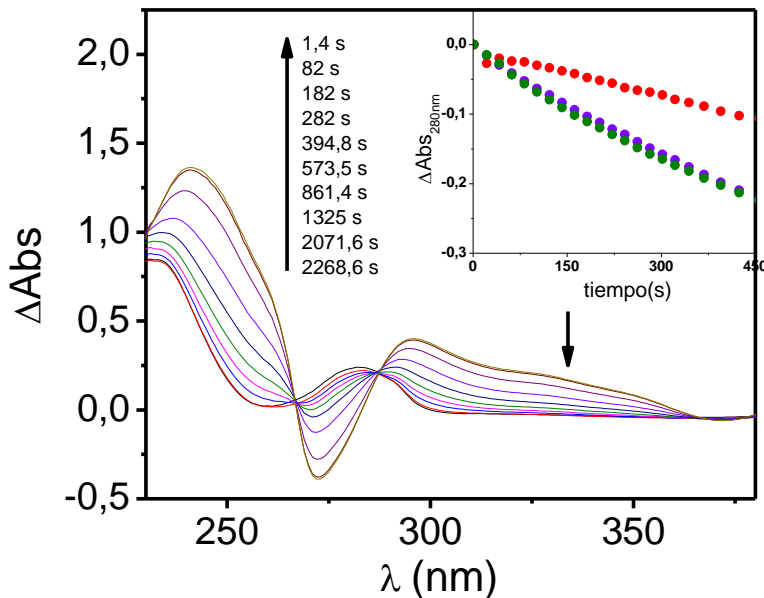


**Figura 3.4.** Gráfico de absorbancia a la longitud de onda máxima del TCS en función del tiempo de irradiación.  $[\text{TCS}] = 1,07 \times 10^{-4} \text{M}$  en  $\text{MetOH}/\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NaOH}$  0,05M

#### 4. Fotodegradación sensibilizada de TCS

La irradiación con luz visible al TCS con Rf como sensibilizador produce cambios en el espectro de absorción de la solución. Estos cambios no pueden ser solo atribuidos a la fotodescomposición del TCS ya que la Rf también sufre degradación por la

luz, de manera que, las modificaciones espectrales, como consecuencia de la irradiación son atribuidas a las transformaciones químicas de ambos.



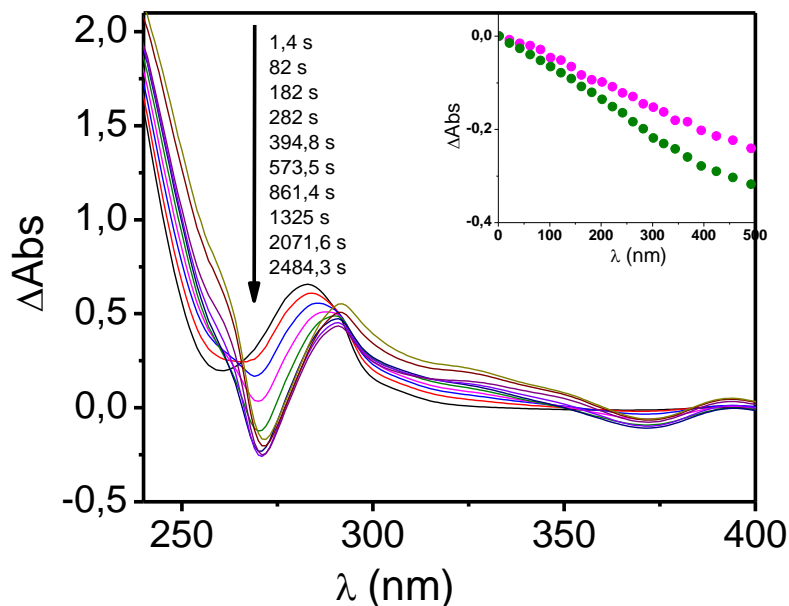
**Figura 4.1.** Evolución de los espectros de absorción en función del tiempo de fotólisis para TCS en MetOH/H<sub>2</sub>O y con Rf como sensibilizador.  $Abs_{Rf}^{445}$ : 0,54; [TCS]= $1,38 \times 10^{-4}$  M

Se utilizó como blanco Rf

Se acopla el gráfico de absorción en función de tiempo para (●) Rf, (●) TCS y (●) SOD como inhibidor.

Se observa una disminución en la banda de absorción máxima (280nm) del TCS y un corrimiento batocrómico a medida que aumenta el tiempo de fotólisis. Además se aprecian 2 puntos isobésticos, lo cual podría estar indicando la absorción por parte de algún fotoproducto que se esté formando.

Los cambios apreciables pueden atribuirse a la reacción del TCS con la Rf ( $^3Rf^*$ ) o con ROS. Para dilucidar con que especie reacciona (o descartar la participación de otras ROS), se realiza la fotodegradación en condiciones anaeróbicas (por burbujeo con gas Argón) de Rf.



**Figura 4.2.** Evolución de los espectros de absorción en función del tiempo de fotólisis para TCS en MetOH/H<sub>2</sub>O y con Rf como sensibilizador.  $Abs_{Rf}^{445}$ : 0,52; [TCS]= $1,38 \times 10^{-4}$ M, solución saturada de Argón.

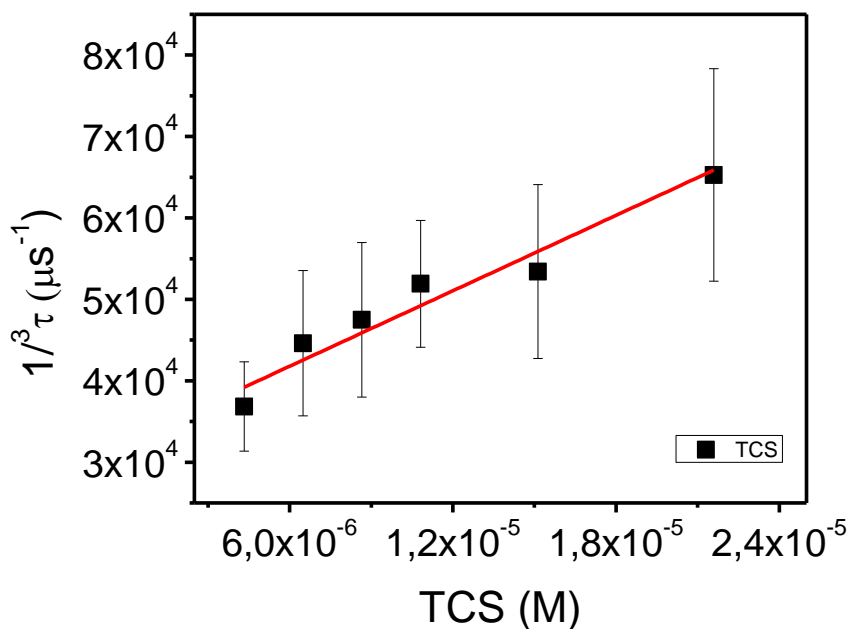
Se utilizó como blanco Rf

Se acopla el gráfico de absorción en función de tiempo para (●) Rf, (●) TCS.

En la figura se observa una clara disminución de la absorbancia a la longitud de onda máxima del TCS. Esto podría sugerir la existencia de interacción química entre el sustrato estudiado y estado excitado triplete de la Rf ( $^3Rf^*$ ). Para confirmar, se llevaron a cabo las experiencias de LFF.

La desaparición de la especie  $^3Rf^*$ , generada por un pulso láser a 355nm, en una solución MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v, en ausencia de oxígeno, fue seguida por el decaimiento de primer orden de la absorbancia a 670nm, observándose una disminución apreciable del tiempo de vida media en del sensibilizador en presencia del TCS. Se determinó el tiempo de vida media de  $^3Rf^*$  en ausencia ( $^3T_0$ ) y en presencia ( $^3T$ ) de distintas concentraciones del pesticida y mediante un tratamiento de Ster-Volmer se obtuvo el valor la constante de velocidad bimolecular  $^3k_q$ , que cuantifica la interacción entre  $^3Rf^*$ -TCS.

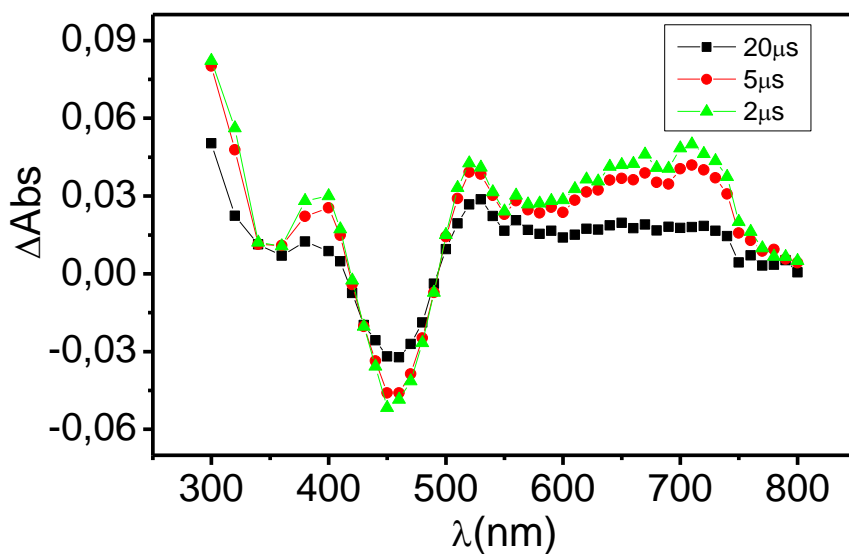
Además se realizó el espectro de absorción de la  $^3Rf^*$  en ausencia y en presencia del sustrato.



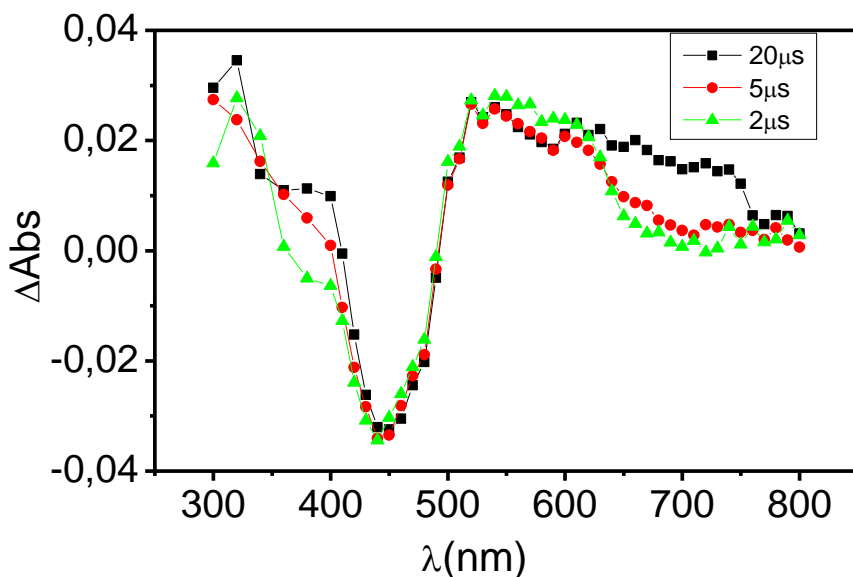
**Figura 4.3.** Gráfico de Ster-Volmer para la desactivación de  $^3\text{Rf}^*$  por TCS en medio MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v; Abs Rf<sub>355</sub>= 0,34

El error en la determinación es del 15-20%

$$^3k_q = 1,54 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$



**Figura 4.4.** Espectro del triplete de Rf en solución MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v saturada con Argón ultrapuro.

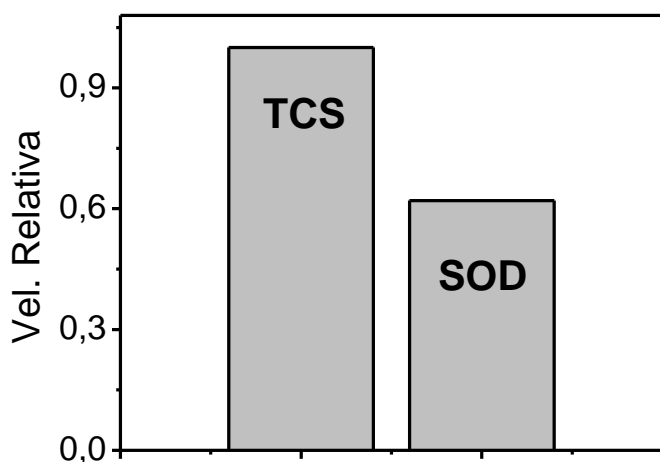


**Figura 4.5.** Espectro del triplete de Rf en presencia del  $[TCS]=5,04 \times 10^{-4} M$  en solución MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v saturada con Argón ultrapuro.

El valor de  ${}^3k_q$  es elevado y cercano al límite difusional ( $k_{diff}=7,4 \times 10^9 M^{-1}cm^{-1}$ )<sup>6</sup>. Por otro lado, en los espectros de absorción del  ${}^3Rf^*$  se observa una desaparición de la banda correspondiente al triplete, en presencia del TCS. Esto sugiere que la especie excitada de la Rf es desactivada por TCS en ausencia de oxígeno.

Como se sabe, el  ${}^3Rf^*$  puede generar ROS, como ser  $O_2^{\bullet-}$  y  $O_2({}^1\Delta_g)$ , con el fin de evaluar la participación de  $O_2^{\bullet-}$  en la degradación de TCS se realizó el experimento de consumo de oxígeno en presencia del inhibidor SOD (Los demás inhibidores – D-mannitol, CAT y  $NaN_3$  - no fueron utilizados debido a que las otras vía degradación por las ROS, no son estudiadas en este trabajo)

En la figura se muestra el gráfico de consumo de oxígeno en ausencia y presencia del inhibidor.

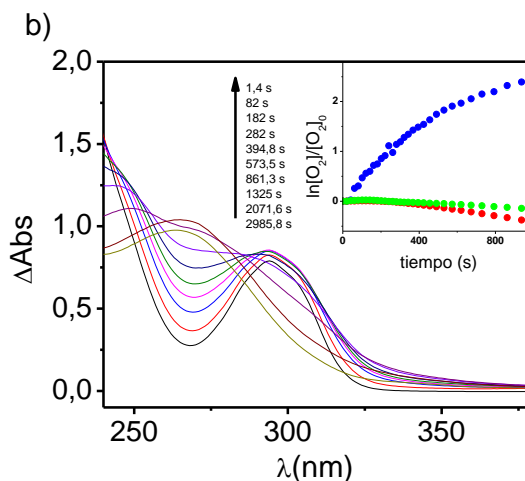
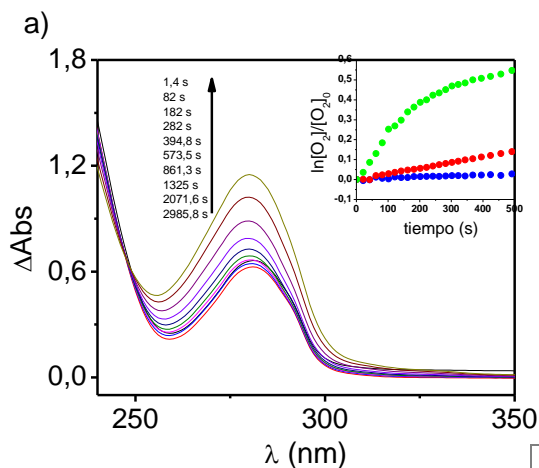


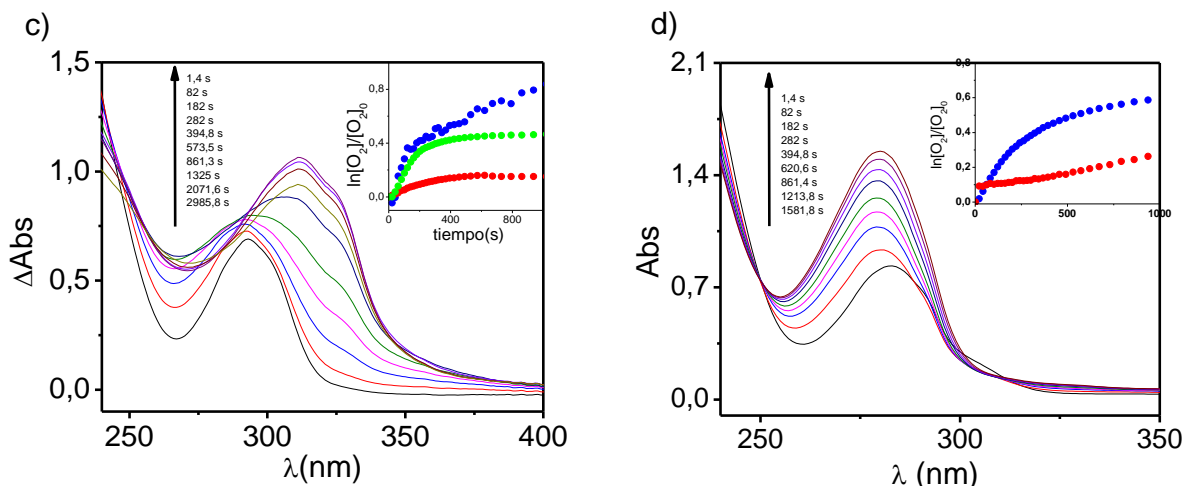
**Figura 4.5.** Gráfico en forma de barra de consumo de oxígeno en función del tiempo de fotólisis. Velocidades relativas.  $[TCS]= 3,2 \times 10^{-4}M$ , Abs  $Rf_{440nm}=0,4$ , medio MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v

Se observa que, el agregado de SOD genera una disminución de la velocidad de consumo de oxígeno del TCS, lo que confirma la participación de  $O_2^{\bullet-}$  en la degradación del herbicida.

Por otra parte, con el fin de evaluar la participación de  $O_2(^1\Delta_g)$ , se hicieron experiencias de fotólisis sensibilizada usando RB y PN como sensibilizador. Además, para discriminar la reactividad de la especie neutra e ionizada del TCS se realizaron las experiencias en distintos medios.

La irradiación fotosensibilizada en presencia de estos sensibilizadores, produce en algunos casos, claras modificaciones en los espectros de absorción del TCS, mientras que no se observan cambios significativos en el espectro UV-V de los sensibilizadores.





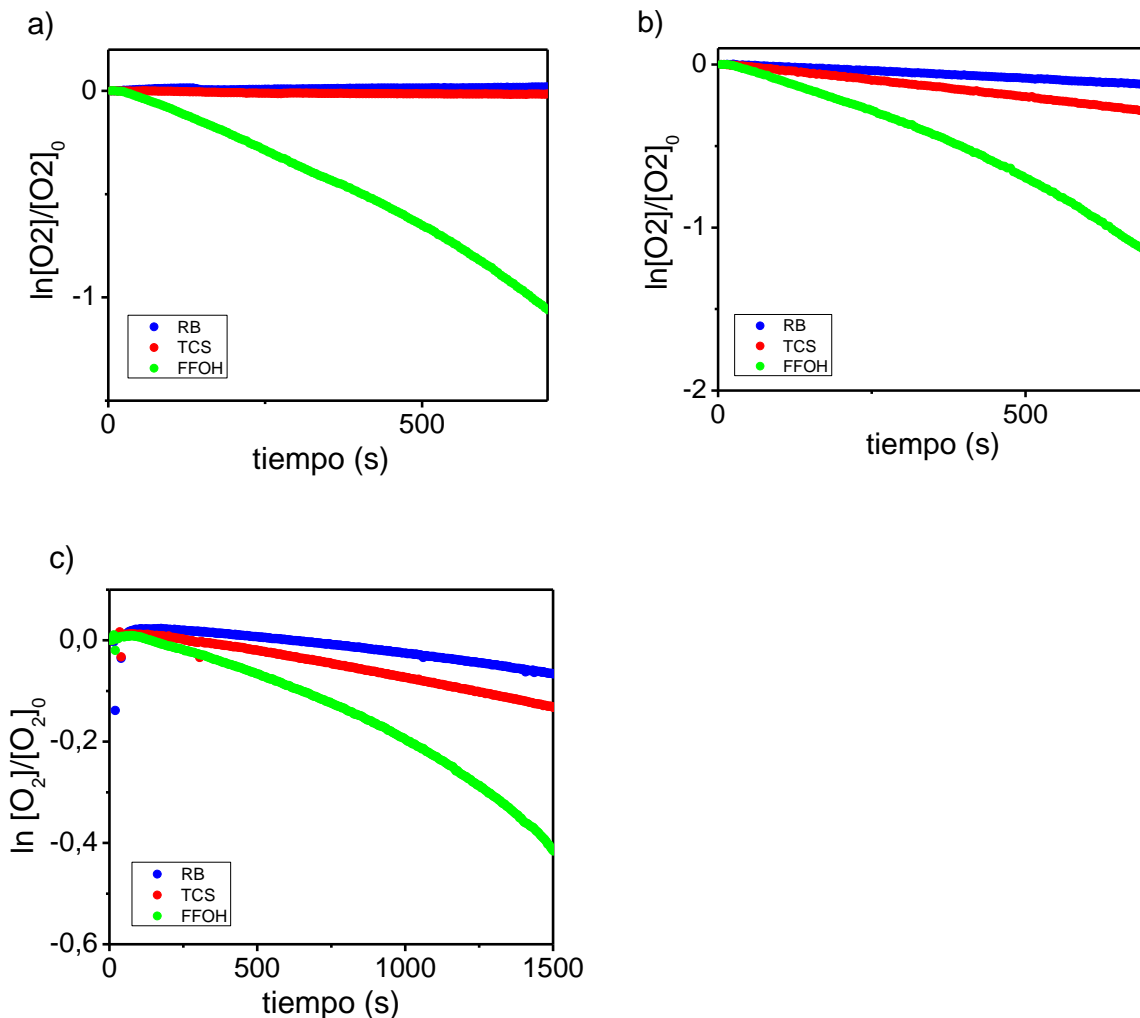
**Figura 4.6.** Evolución de los espectros de absorción en función del tiempo de fotólisis del TCS. a) [TCS]=  $1,93 \times 10^{-4}$  M en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v; RB<sub>555nm</sub>=0,54. b) [TCS]=  $1,8 \times 10^{-4}$  M en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v y 0,04M NaOH; RB<sub>555nm</sub>=0,5. c) [TCS]=  $1,65 \times 10^{-4}$  M en H<sub>2</sub>O y 0,051M NaOH RB<sub>555nm</sub>=0,54. d) [TCS]=  $1,43 \times 10^{-4}$  M en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v desgasado con Argón; RB<sub>555nm</sub>=0,56. (● TCS, ● RB, ● FFA)

En general, que se produzcan cambios significativos o no en los espectros de absorción, depende tanto del sustrato, como del pH del medio y la zona donde absorba los fotoproductos.

Las modificaciones observadas como consecuencia de la irradiación, indica la existencia de transformaciones químicas en el TCS como consecuencia de la interacción entre los mismos y los estados excitados de los sensibilizadores y/o con las ROS generadas por dichos estados.

La cinética de fotooxidación sensibilizada del sustrato se siguió a través de consumo de oxígeno en condiciones aeróbicas de fotoirradiación utilizando el electrodo específico de oxígeno ya descrito.

Las siguientes figuras muestran el consumo de oxígeno en función del tiempo de irradiación en presencia de RB como sensibilizador y en todos los medios de reacción.



**Figura 4.7.** Gráficos de consumo de oxígeno del TCS en función del tiempo de fotólisis. a)  $[TCS]=5,25 \times 10^{-4}M$  en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v,  $RB_{555nm}=0,43$ . b)  $[TCS]=5,38 \times 10^{-4}M$  en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v y 0,048M NaOH,  $RB_{555nm}=0,51$ . c)  $[TCS]=5 \times 10^{-4}M$  en H<sub>2</sub>O y 0,053 NaOH,  $RB_{555nm}=0,51$ .

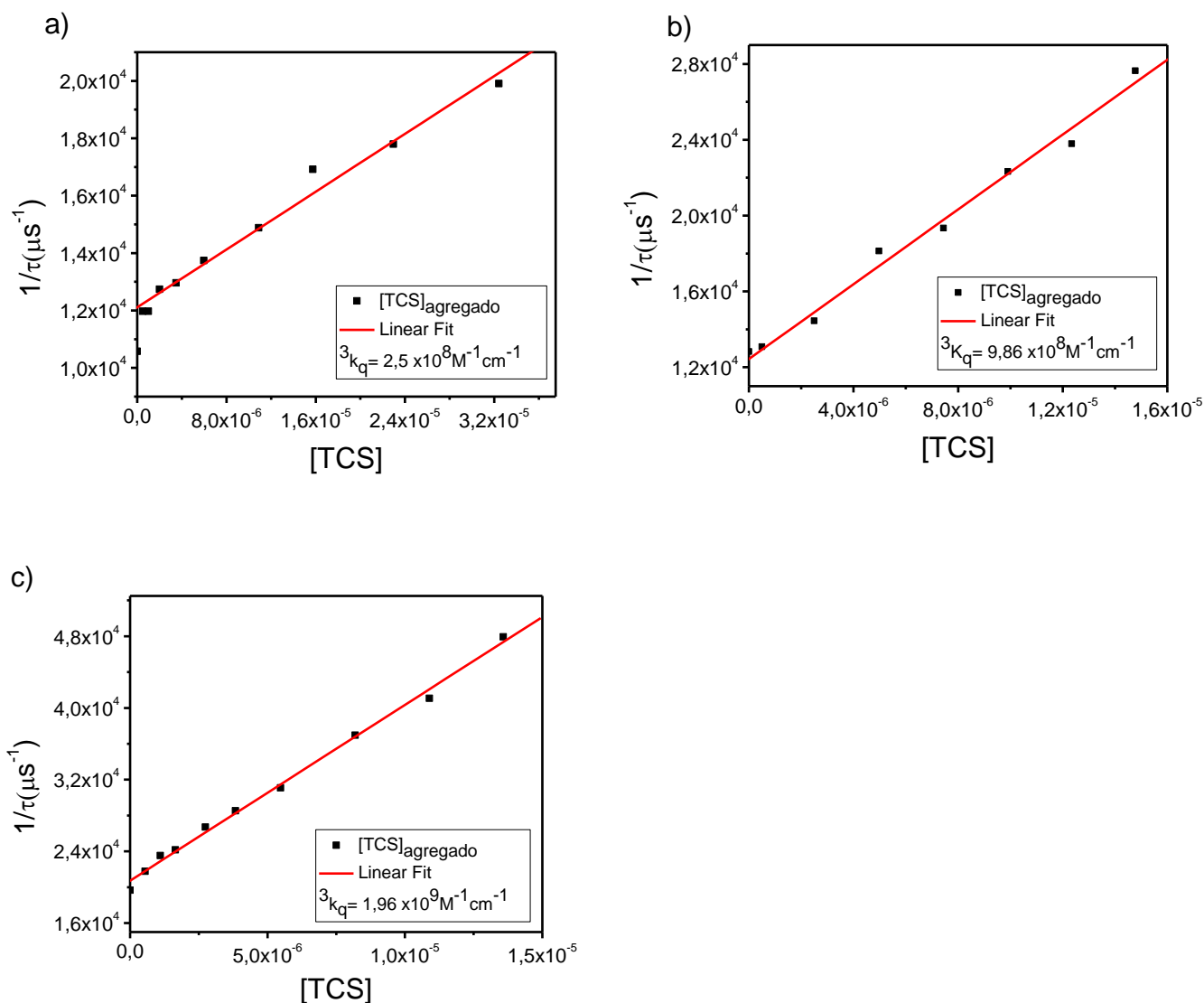
Dado que los gráficos muestran leves curvaturas en RB, cuando no deberían observarse cambios, y que los datos no fueron reproducibles, se puede suponer que varias reacciones de interacción estén sucediendo de forma simultánea entre TCS-RB, ejemplo la reacción del sustrato con el estado excitado del sensibilizador ( $^3RB^*$ ).

Para comprobar la posible interacción entre  $^3RB^*$  y TCS se realizaron experiencias de LFF. Es decir la desaparición del estado triplete excitado de RB,  $^3RB^*$ , generado por un pulso láser a 532 nm en ausencia de oxígeno, fue seguida por el decaimiento de primer orden de la absorbancia a 650 nm, observándose una disminución apreciable del tiempo de vida de dicha especie en presencia de TCS. Las trazas de



decaimiento se tomaron a dicha longitud de onda, dado que en esta región, la interferencia debido a otras especies transitorias de RB ( $RB^-$  y  $RB^{2+}$ ) es despreciable<sup>7</sup>.

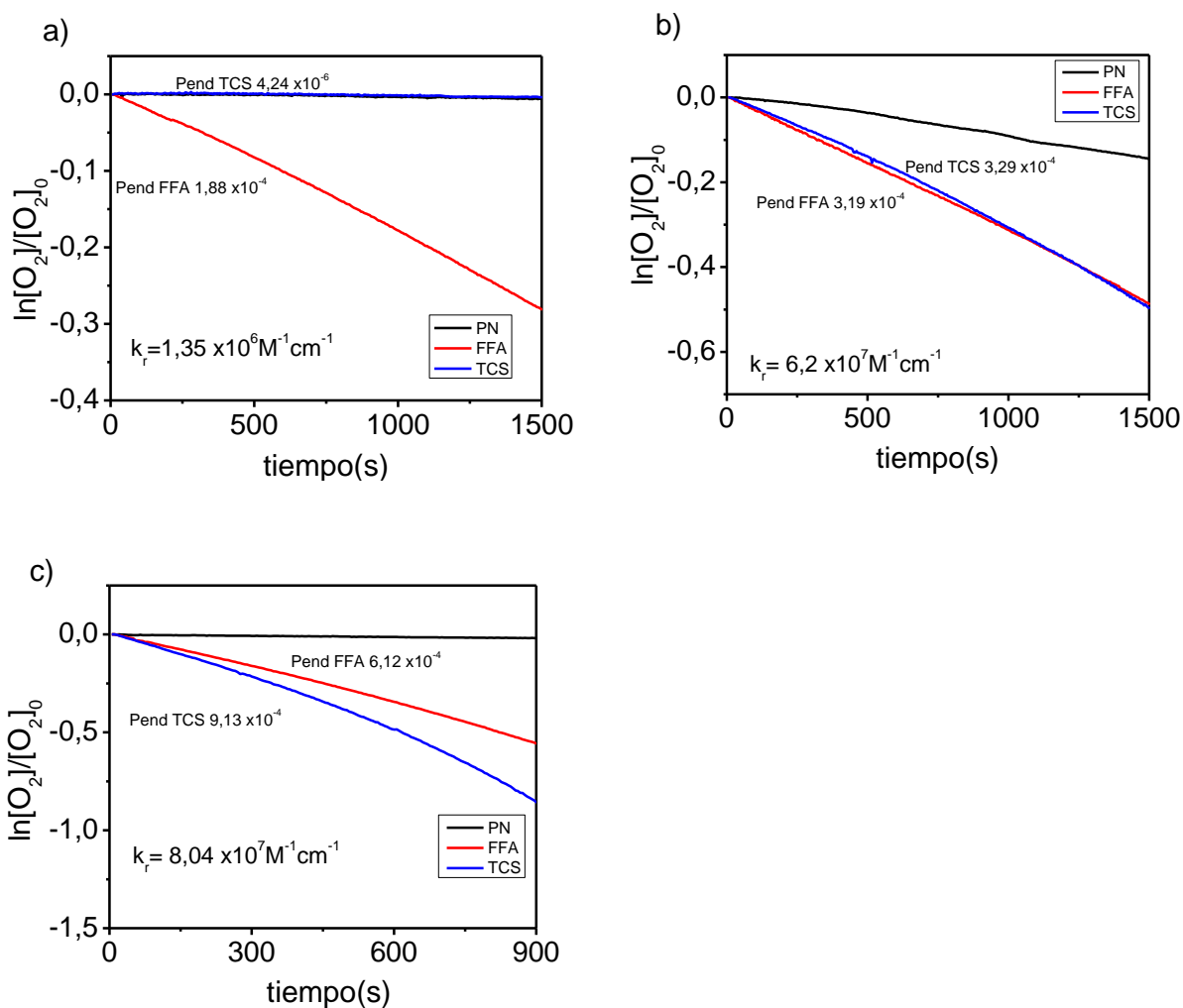
Se determinaron los tiempos de vida de  ${}^3RB^*$  en ausencia y en presencia de distintas concentraciones de TCS y mediante un tratamiento de Ster-Volmer se obtuvieron los valores de las constantes de velocidad bimoleculares,  ${}^3k_q$ , que cuantifican la interacción  ${}^3RB^*-TCS$ .



**Figura 4.8.** Gráficos de Ster-Volmer para la desactivación del estado triplete excitado de RB por TCS. a)  $[TCS]=1,08 \times 10^{-3}M$  en MetOH/ $H_2O$  50% v/v,  $RB_{532nm}=0,35$ ; b)  $[TCS]=1,08 \times 10^{-3}M$  en MetOH/ $H_2O$  50% v/v y 0,06M NaOH,  $RB_{532nm}=0,356$ ; c)  $[TCS]=1,1 \times 10^{-3}M$  en  $H_2O$  y 0,052M NaOH,  $RB_{532nm}=0,38$ .

A partir de los valores de  $^3k_q$  obtenidos, se puede decir que efectivamente existe una interacción entre TCS- $^3\text{RB}^*$ .

A partir de este resultado es que se utiliza el sensibilizador PN para la determinación de  $k_r$  por consumo de oxígeno, ya que no se produce interacción con el triplete del sensibilizador.



**Figura 4.9.** Gráficos de consumo de oxígeno por TCS en función del tiempo de fotólisis. a)  $[\text{TCS}] = 5,11 \times 10^{-4} \text{ M}$  en MetOH/ $\text{H}_2\text{O}$  50% v/v,  $\text{PN}_{363\text{nm}} = 0,52$ ; b)  $[\text{TCS}] = 4,9 \times 10^{-4} \text{ M}$  en MetOH/ $\text{H}_2\text{O}$  50% v/v y 0,048M NaOH,  $\text{PN}_{363\text{nm}} = 0,55$ ; c)  $[\text{TCS}] = 4,9 \times 10^{-4} \text{ M}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y 0,049M NaOH,  $\text{PN}_{363\text{nm}} = 0,44$ ;

## 5. Referencias

---

- <sup>1</sup> Neckers D. C. Rose Bengal. *Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* . 1989
- <sup>2</sup> Tayler M.B., Radda G.K. "Flavins as photosensitizers". *Methods in Enzymology*. 1971
- <sup>3</sup> Aranami K., Readman J.W. "Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater". *J. Chemosphere* 66 (2007) 1052–1056
- <sup>4</sup> Taştan B.E., Dönmez G. "Biodegradation of pesticide triclosan by *A. versicolor* in simulated wastewater and semi-synthetic media". *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118 (2015) 33–37
- <sup>5</sup> Rossiter B. W., Baetzold R. C. (Eds), *Physical Methods of Chemistry*, Vol VIII, John Wiley & Sons, Inc., New York. 1993
- <sup>6</sup> Turro N. J., Ramamurthy V., Scaiano J. C. Principles of molecular Photochemistry-An Introduction. *University Science Books*, California. 2009
- <sup>7</sup> Wintgens V., Scaiano J. C., Linden S. M., Neckers D. C. Transient phenomena in the laser flash photolysis of Rose Bengal C-2' ethyl ester C-6 sodium salt. *J. Organic Chemistry*. 1989

## 1. Discusión

Tal como se expresó en la introducción, el Triclosán, reacciona con la luz solar, y es esta una de las principales vías de eliminación del pesticida. Cuando se trabaja en condiciones de pH diferentes, se observa que TCS es altamente fotodegradable a pH alcalinos, es decir, cuando  $\text{pH} > \text{pK}_a$ .

Como se muestra en la Figura 2.1. TCS tiene una banda de absorción con un máximo a 280nm en medio neutro (MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v) la cual se corre batocrómicamente a 294nm cuando el medio en el que se trabaja es básico (agregado de NaOH 0,05M), banda absorción que corresponde a la forma aniónica del TCS.

La fotólisis directa del compuesto en MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v revela una pequeña fotodegradación (figura 3.1), y al observar la figura 3.2, se podría suponer la generación de fotoproductos, que absorben a las mismas longitudes de onda del sustrato original. Es por eso, que el gráfico muestra, primero una disminución de la absorbancia y luego, aumenta.

Un efecto más marcado se observa en la figura 3.3 correspondiente a la fotólisis directa en medio básico (MetOH/H<sub>2</sub>O 50% v/v con NaOH 0,05M), donde la disminución de la absorbancia menor a la correspondiente en medio neutro, y se observa prácticamente un aumento el cual también puede atribuirse a la aparición de un fotoproducto en la misma zona de absorción del TCS.

Las modificaciones en los espectros de absorción con el tiempo de irradiación, tanto en la zona donde absorbe el sustrato como donde absorbe la Rf, en presencia y ausencia de oxígeno, sugiere fuertemente la interacción química entre el TCS y estados excitados de la Rf y/o ROS generadas por dichos estados. La aparición de puntos isobésticos podrían indicar la aparición de fotoproductos (figura 4.1 y 4.2)

En cuanto a la interacción del  $^3\text{Rf}^*$  con TCS, el valor obtenido de  $^3k_q = 1,6 \times 10^9 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  (figura 4.3) también resulta cercano al límite difusional, indicando que el estado excitado triplete de la Rf es efectivamente desactivado por TCS-. Además se puede observar en los espectros del triplete de Rf y Rf/TCS, que existe una transferencia electrónica del TCS al  $^3\text{Rf}^*$  (figura 4.4 y 4.5).

En el experimento de consumo de oxígeno, en presencia de SOD (figura 4.5), las velocidades de consumo de oxígeno del TCS se vieron afectadas, observándose una disminución de la velocidad de la misma. Lo cual se le atribuye a la reacción de dismutación que produce SOD sobre  $O_2^{\bullet-}$ .

Por otro lado, el colorante RB, es probablemente el fotosensibilizador más utilizado en reacciones de fotooxidación que involucran  $^1O_2$ . Sin embargo, los resultados obtenidos indican que no representa un buen sensibilizador para estudiar la cinética de los procesos fotodegradativos del sustrato, debido a la interacción del  $^3RB^*$  con el TCS. (Figura 4.6).

Los resultados de consumo de oxígeno (figura 4.7) indican que RB sensibiliza la fotooxidación del TCS. Un resultado diferente se obtiene si se realiza la misma experiencia con PN como sensibilizador (figura 4.9), lo que confirma la interacción entre TCS y los estados excitados del RB y/o con las ROS generada a partir de dichos estados.

Los valores obtenidos de la desactivación del estado excitado triplete del RB,  $^3k_q$ , resultaron significativos, siendo más importantes en medio acuoso básico con pH aproximadamente 12; lo que podría estar indicando que la reacción con la especie ionizada es más efectiva con respecto a la especie neutra. (Figura 4.8)

En cuanto a los valores obtenidos de  $k_r$  a partir del consumo de oxígeno con PN, muestran que al cambiar el pH, se obtienen valores diferentes de la constante reactiva. Esto se debe a la estructura del compuesto. Como ha sido observado con anterioridad, compuestos aromáticos con grupos sustituyentes dadores de electrones, tales como OH (como es el caso del TCS, figura 1), modifican los valores de  $k_r$ , siendo más reactivos a pH elevados, debido a la ionización del grupo fenólico<sup>1</sup>.

## **2. Conclusión**

Los resultados obtenidos y discutidos demuestran que:

- Tanto los sensibilizadores sintéticos (RB y PN), como el sensibilizador natural (Rf), son capaces de sensibilizar la fotodegradación del TCS.

- TCS reacciona con los estados electrónicos excitados de la Rf y con las ROS generadas a partir de dichos estados ( $O_2(^1\Delta_g)$  y  $O_2^*$ )
- Los resultados muestran que en presencia de RB, la fotodegradación puede darse por la participación del  $^3RB^*$ .
- El proceso fotooxidativo por  $O_2(^1\Delta_g)$  se ve favorecido a pH alcalino debido a la ionización del grupo fenólico presente en la estructura del TCS.

La importancia de este resultado radica principalmente en que esta clase de pesticidas, considerado un contaminante emergente que se localiza en aguas superficiales, alterando el ecosistema acuático y produciendo numerosos efectos tóxicos sobre peces, algas, bacterias, humanos, etc., puede ser fotodegradado por la Rf que se encuentra distribuida en cantidades de trazas en ríos, lagos y océanos y por las ROS que se generan naturalmente en los medios acuáticos. Entonces, podemos decir, en función de los estudios realizados que, tanto la reacción de TCS con las ROS como la fotodegradación sensibilizada por Rf contribuirían a la disminución del pesticida en ambientes acuáticos.

### **3. Referencias**

---

<sup>1</sup> Bertolotti S. G., García N. A., Arguello G. Effect of the peptide bond on the singlet molecular oxygen-mediated photooxidation of tyrosine and tryptophan dipeptides. A kinetic study. *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1991.