

Degradación de Plaguicidas Organofosforados por Complejos Metálicos

José María Carrera Sánchez, Juan Carlos Arévalo Pérez,

Rafael Omar Saavedra Díaz, Irma Sánchez-Lombardo*

Laboratorio de Química Inorgánica y Biomateriales, CICTAT, División Académica de Ciencias Básicas,
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacán, Tab., México

*irma.sanchez@ujat.mx

Resumen

Los plaguicidas organofosforados son ampliamente utilizados en nuestro país en las prácticas agrícolas, a pesar de su alta toxicidad en bajas concentraciones, dicha toxicidad se atribuye a que los plaguicidas organofosforados tienen una estructura análoga a armas químicas como tabún, somán y VX, ambos grupos de moléculas presentan el mismo modo de acción al entrar en los organismos vivos, se unen irreversiblemente al grupo serina de la enzima acetilcolinesterasa lo que provoca paros neurotóxicos. El proyecto que actualmente está en ejecución pretende llevar a cabo reacciones de hidrólisis y transesterificación de etil paraoxón y etil paratión bajo condiciones de reacción suaves (pH neutro y temperatura ambiente), utilizando como catalizadores compuestos inorgánicos con ligantes nitrogenados con uno o dos núcleos metálicos, obteniendo productos estables y menos tóxicos que los materiales de partida.

Palabras claves: organofosforados, complejos metálicos, hidrólisis, degradación y plaguicidas.

Abstract

Organophosphorus pesticides are widely used in our country in agricultural practices, despite their high toxicity at low concentrations, this toxicity is attributed to the fact that organophosphorus pesticides have a chemical structure similar to chemical weapons such as tabun, soman and VX, both groups of molecules have the same mode of action when entering living organisms, irreversibly bind to the serine group of the enzyme acetylcholinesterase which causes neurotoxic stops. The project that is currently being carried out is intended to study the hydrolysis and transesterification reactions of ethyl paraoxon and ethyl parathion under mild reaction conditions (neutral pH and room temperature), using inorganic compounds catalysts with nitrogenous ligands with one or two metal centers, obtaining stable and less toxic products than the starting materials.

Keywords: organophosphorates, metal complexes, hydrolysis, degradation and pesticides

Recibido: 12 de mayo de 2019. Aceptado: 31 agosto 2019. Publicado: 1 de diciembre de 2019.

1. Introducción

El uso de plaguicidas sintéticos en las prácticas agrícolas en México, así como en muchas partes del mundo y sobre todo en países en vías de desarrollo es sumamente común, esta práctica se populariza a partir de la llamada revolución verde y la explosión demográfica de las últimas décadas a lo largo del globo. En los últimos años el uso de plaguicidas se ha duplicado, en la región que comprende el sureste de México se

estimó que en la década de 1995-2005 se utilizaron 54600 toneladas de plaguicidas y que estas sobrepasaron los 2200 millones de pesos en ventas [1]. En el estado de Tabasco se concentra gran parte de la producción agrícola del país teniendo a los municipios de Macuspana, Cárdenas, Huimanguillo, Centro, Comalcalco y Teapa como las regiones con mayor número de actividades agrícolas [2]. Sin embargo, es bien conocido que en la práctica agrícola tradicional existe una gran magnitud de pérdidas en la producción debido a una variedad de plagas que se presentan en los medios de cultivo. Para reducir las pérdidas económicas y mejorar la producción se ha incrementado el empleo de conocimientos, prácticas y tecnologías modernas en la agricultura de Tabasco lo cual incluye el uso de plaguicidas para proteger los cultivos [3]. En el estado de Tabasco se utilizan compuestos organofosforados como: malatión, cipermetrina y monocrotofos entre otros para eliminar las plagas en los cultivos de tomate, maíz, caña de azúcar, coco, cacao, etc. En ese sentido en el estado de Tabasco de un total de 87,587 unidades de producción rurales el 60.1 % emplea algún tipo de plaguicidas para favorecer los medios de cultivo [2].

2. Teoría

2.1 Clasificación de los Plaguicidas

Existe una amplia variedad de plaguicidas los cuales se clasifican en función de algunas de sus características principales como: *toxicidad, persistencia, estructura química, modo de acción y uso*. Por su *estructura química* se pueden clasificar en los siguientes grupos: organoclorados, organofosforados, derivados del ácido carbámico, compuestos organomercuriales derivados del dinitrofenol, derivados clorados del ácido fenoxiacético, derivados de la urea, derivados tiazídicos y piretroides [4]. Dependiendo de su *objetivo de uso*, los plaguicidas se pueden clasificar en: compuestos para el control de plagas (insecticidas, acaricidas, nematicidas, rodenticidas); para el control de enfermedades (fungicidas, protectores de semillas, bactericidas, micoplasmicidas, antisépticos) y para el control de malezas (herbicidas, alguicidas y defoliantes) [5]. Si la *persistencia* se toma como base para la clasificación estas pueden ser *permanentes, persistentes, de permanencia moderada y no moderada* siendo el criterio de cuantificación, el tiempo vida media del principio activo. Por último, se clasifican por su *modo de acción* sobre las plagas que atacan pueden ser *sistemáticos* y de *contacto*, y de acuerdo con su *especificidad, selectivos y no selectivos* [5].

2.2. Desarrollo de los Plaguicidas Organofosforados

Desde el comienzo de la agricultura los medios de cultivo padecían de ataques de plagas que los reducían drásticamente en producción. A lo largo de los siglos se pueden encontrar en la literatura ataques referidos a insectos, hongos, roedores y otros agentes como plagas que dañan los medios de cultivo. Uno de los resultados de la revolución verde fue el incremento en el uso de plaguicidas para combatir y fortalecer los medios de cultivo. Cabe señalar que los *plaguicidas organofosforados* constituyen un amplísimo grupo de compuestos sintéticos, en *general altamente tóxicos*, cuya síntesis fue inspirada en los gases de guerra conocidos bajo el apelativo de *gases nerviosos* entre los que se encuentran el *sarín, tabún y somán*, y que fueron sintetizados a partir de la Segunda Guerra Mundial [6].

2.3. Estructura de los Plaguicidas Organofosforados

Los plaguicidas organofosforados son ésteres orgánicos del ácido fosfórico, es decir, son compuestos que poseen la estructura química del ácido fosfórico en el cual los grupos hidróxilo han sido sustituidos por

los grupos alcóidos cuya estructura se muestra en la Figura 1.

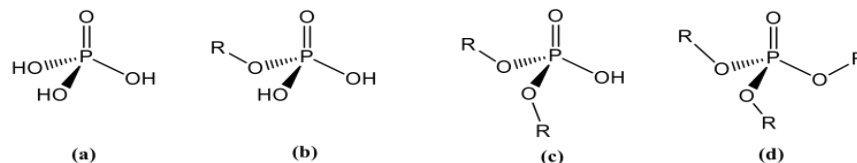


Figura 1. Estructura de: (a) ácido fosfórico, (b) mono, (c) di y (d) triéster de fosfato.

En los triésteres de fosfato usados como plaguicidas es común tener dos grupos sustituyentes iguales y uno diferente que es mucho más reactivo y se le llama *grupo saliente*. Holmsted hace una clasificación dependiendo el tipo de grupo saliente Figura 2 [7].

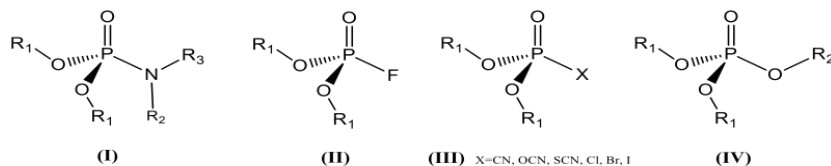


Figura 2. Clasificación de plaguicidas triésteres de fosfato de Holmsted.

Dentro de este tipo de plaguicidas también podemos encontrar *fosfotioésteres* donde el átomo de oxígeno oxo (=O) unido al fósforo es reemplazado por un átomo de azufre (=S) como el malatión y el etil paratión cuya estructura se muestra en la Figura 3 [7].

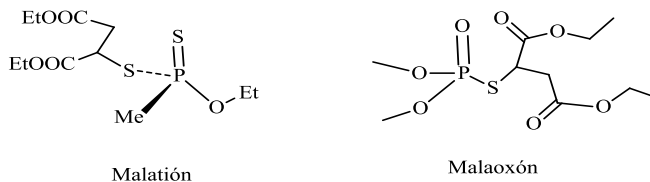


Figura 3. Estructuras y nombres de algunos plaguicidas organofosforados relevantes.

Los plaguicidas organofosforados se conocen mayormente por sus nombres comunes, comerciales o industriales, por ejemplo: clorpirifos, cumafós, cianofós, demetón, demetón-S-metilo, diazinón, diclorvos, dioxatión, glifosato, fonofos, malaoxón, malatión, metamidofos, mevinfos, oxidemetón-metilo, paraoxón y paratión, la estructura de algunos de ellos se muestra en la Figura 4 [8].

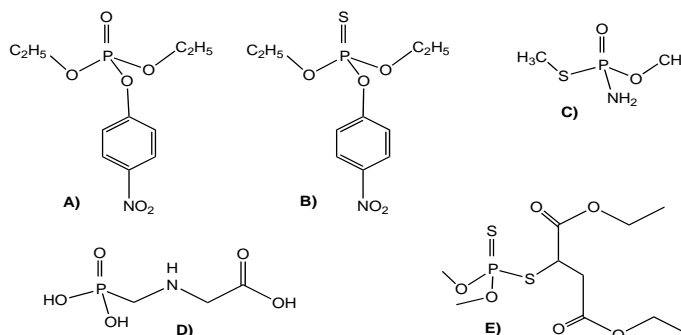


Figura 4. Estructuras de algunos plaguicidas organofosforados A) Etil paraoxón, B) Etil paratión, C) Metamidofos, D) Glifosato, E) Malatión.

2.4. Toxicidad de los Plaguicidas

Los ésteres de fosfato se encuentran en moléculas biológicas como el ADN o el ATP responsable de proporcionar energía a las células mediante diversos procesos de hidrólisis mediada por enzimas [7], por lo que no es de extrañar que los plaguicidas organofosforados puedan ser compatibles y procesados por las células vivas, de hecho su eficacia, toxicidad y peligrosidad se deben a la biocompatibilidad que tienen, es decir, las células poseen mecanismos para absorber y metabolizar los ésteres de fosfato naturales, pero un cambio en la estructura química de ellos puede producir un mal funcionamiento celular [9-10].

Los triésteres de fosfato son *altamente apolares*, es decir poco solubles en agua, por ello pueden ser transportados por corrientes de agua, y el *mecanismo de detoxificación* natural (hidrólisis) a pH neutro es muy difícil y lento [9]. Otro peligro es que son absorbidos a través de la piel y mucosas lo que es facilitado por su presentación comercial al estar disueltos en etanol [10-11].

El *paraoxón* (Figura 4A) *inhibe la acción* de la *acetilcolinesterasa* y provoca la acumulación de la acetilcolina en los tejidos, la cual es el mediador químico de la transmisión fisiológica de los impulsos nerviosos *produciendo paros neurotóxicos*, al ser metabolizado en el sistema biológico produce *p*-nitrofenol, un compuesto hidrosoluble que se excreta por la orina y el cual que indica el nivel intoxicación [10].

2.5. Degradación de Compuestos Organofosforados

El descubrimiento de la *alta toxicidad* para los seres vivos de varios compuestos *organofosforados* como insecticidas, herbicidas y algunas armas químicas (Figura 4) ha creado la necesidad de investigar procesos amigables con el ambiente y de *hidrólisis suave* (pH neutro y temperatura ambiente) para su transformación química en moléculas menos tóxicas [11]. Los mecanismos para la degradación de estas moléculas son el de hidrólisis, oxidación, combustión y degradación bacteriana [8]. En la actualidad ha habido un estudio más extenso de los procesos de oxidación fotocatalítica donde se utiliza el dióxido de titanio (TiO₂) como semiconductor para producir radicales hidróxilo OH•, las reacciones de foto oxidación tienen la desventaja de utilizar oxidantes muy fuertes y también de que el proceso no es selectivo [8]. La búsqueda de sistemas nucleofílicos capaces de hidrolizar a los triésteres de fosfato ha sido extensa; aparte de los derivados de iodosil y el iodilcarboxilato [12], otros sistemas incluyen a los alcóxidos, a las oximas, a los peróxidos y a diversos complejos metálicos [8]. Sin embargo, en el caso de los triésteres de fosfato que no poseen carga neta se ha demostrado que la *activación del sustrato* es un factor que contribuye más a la aceleración de la reacción que al decremento en la nucleofilia del anión hidroxilo al estar coordinado al metal. El nucleófilo OH⁻ en *agua* puede hidrolizar a la mayoría de los plaguicidas con una buena aceleración, ejemplo de ello es la constante de velocidad para la reacción de hidrólisis de paraoxón de 0.42 M⁻¹s⁻¹ a 25 °C en agua [12]. La hidrólisis asistida por metales [11] representa una alternativa para la degradación de plaguicidas, sin embargo, muy pocos complejos metálicos hasta el momento proveen mayor eficiencia catalítica que la del OH⁻ libre, los iones metálicos utilizados son los de transición y los lantánidos, y su mecanismo es el de activación electrofílica (ácido de Lewis), seguido por el ataque del hidroxilo unido al metal [13].

En la Figura 5 se ilustra la reacción general de hidrólisis de los triésteres de fosfato utilizando tres moléculas de agua como nucleófilo para dar como producto final: ácido fosfórico, fosfato ácido, fosfato diácido ó fosfato inorgánico, dependiendo del valor de pH [11].

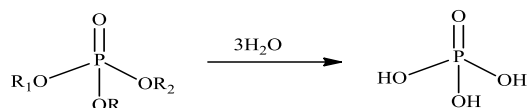


Figura 5. Reacción general de hidrólisis de un triéster de fosfato.

El *mecanismo* de hidrólisis para los ésteres de fosfato se ilustra en la Figura 6 y procede mediante un ataque nucleofílico al átomo de fósforo, se clasifican en tres tipos asociativo, disociativo y concertado, generalmente la hidrólisis de los monoésteres de fosfato proceden vía un mecanismo disociativo y la formación del *intermediario metafosfato*, mientras que los triésteres lo hacen por un mecanismo asociativo que se caracteriza por la formación de un *intermediario fosforano*, pero siempre puede haber combinaciones de ellos, como en el caso del *mecanismo concertado* que se presenta generalmente en diésteres de fosfato. El mecanismo por el cual se lleva a cabo la reacción dependerá del tipo de sustrato utilizado, del nucleófilo, el catalizador y de las condiciones de reacción como la temperatura, el pH, la concentración del catalizador y el medio de reacción [14], [15].

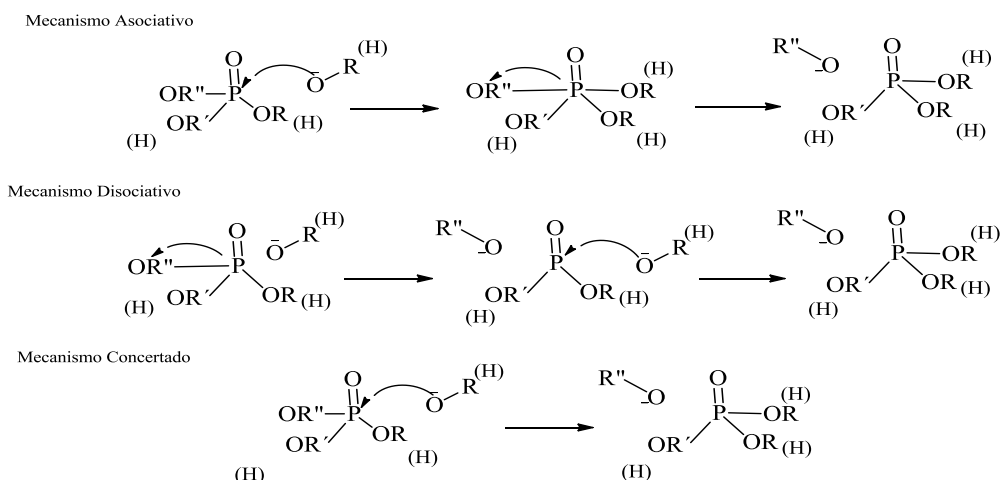


Figura 6. Mecanismos de reacción para la hidrólisis de ésteres de fosfato.

2.6. Degradación de Compuestos Organofosforados por Complejos Metálicos

El desarrollo de agentes artificiales basados en complejos metálicos para activar el enlace fósforo-oxígeno e hidrolizar ésteres de fosfato de diferentes clases ha atraído la atención de diversos grupos de investigación en los últimos 20 años [11-16]. Para que un ión metálico funcione como catalizador debe ser un ácido duro de Pearson, llevar a cabo procesos de sustitución de ligantes muy rápidamente (Tabla 1), deberá tener preferentemente números de coordinación grandes y sitios de coordinación vacantes en posición *cis* (para poder enlazar al sustrato y al nucleófilo) garantizando su proximidad. Los metales preferidos para el diseño de estos agentes artificiales son Zn^{2+} y Cu^{2+} , los cuales presentan geometrías definidas, alta densidad de carga, son ácidos de Lewis y son biológicamente relevantes (Tabla 1) [16]. Está bien documentado que la *catálisis en las reacciones de hidrólisis ya sea por iones metálicos y/o por grupos orgánicos funcionales* es promovida mediante alguno de estos modos:

- Activación electrostática del sustrato en el estado basal o en el estado de transición por un ión metálico coordinado, enlace de hidrógeno o transferencia de protón.

- Estabilización del grupo saliente por la coordinación con el ión metálico, enlace de hidrógeno o transferencia de protón.
- Ataque nucleofílico del sustrato por grupos funcionales o por un hidróxido coordinado al metal, el cuál es generado a pH neutro por activación de ácido de Lewis de una molécula de agua coordinada al metal.
- Generación del nucleófilo por abstracción del protón con un grupo básico [16].

Tabla 1. Propiedades físicas y cinéticas de algunos metales biológicamente relevantes.

Ión	Densidad de carga $(Z/r)(\text{Å})^{-1}$	$k_{\text{sub}} (\text{s}^{-1})^a$
Mg ²⁺	3.0	10 ^{5.1}
Ca ²⁺	2.0	10 ^{8.4}
Mn ²⁺	2.5	10 ^{6.6}
Fe ²⁺	2.7	10 ^{6.1}
Co ²⁺	2.8	10 ^{5.3}
Ni ²⁺	2.9	10 ^{4.2}
Cu ²⁺	2.8	10 ^{9.3}
Zn ²⁺	2.7	10 ^{7.4}
La ³⁺	2.8	10 ^{7.9}
Ce ³⁺	2.9	10 ^{7.9}
Eu ³⁺	3.2	10 ⁷ - 10 ⁸

^a Constantes de velocidad para la sustitución de agua de los aquaiones [16].

Una gran cantidad de *complejos metálicos: mononucleares, binucleares y trinucleares*, se han empleado como *modelos estructurales o funcionales de las nucleasas* (enzimas que pueden degradar ésteres de fosfato) [11]; sin embargo, quedan pasos dentro de la ruta mecanística que no están bien determinados, ya que los iones metálicos pueden realizar una amplia variedad de funciones. Existen tres modos de activación directa (*mecanismos de esfera interna*) que un ión metálico puede proveer para acelerar la hidrólisis de los ésteres de fosfato (Figura 7) [13]:

1. Activación por ácido de Lewis, en la cual el oxígeno u oxígenos del éster de fosfato se coordinan al metal.
2. Activación Nucleofílica, se caracteriza por la coordinación del nucleófilo al metal.
3. Activación del grupo saliente, en este caso, el oxígeno del grupo saliente se coordina al metal.

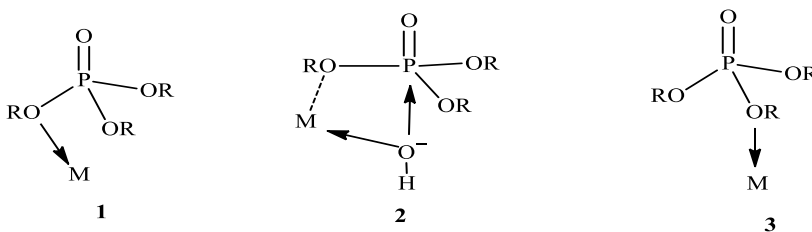


Figura 7. Mecanismos de esfera interna para la hidrólisis de ésteres fosfato promovida por iones metálicos.

También existen *tres mecanismos* en los que la *activación por el ión metálico* se hace de modo *indirecto*

[11], conocidos como mecanismos de *esfera externa* (Figura 8):

1. *Catálisis básica general*, en ésta participan los hidróxidos coordinados al metal.
2. *Catálisis ácida general* promovida por un agua coordinada al metal.
3. *Interacciones electrostáticas* entre el metal y el éster de fosfato no coordinado.

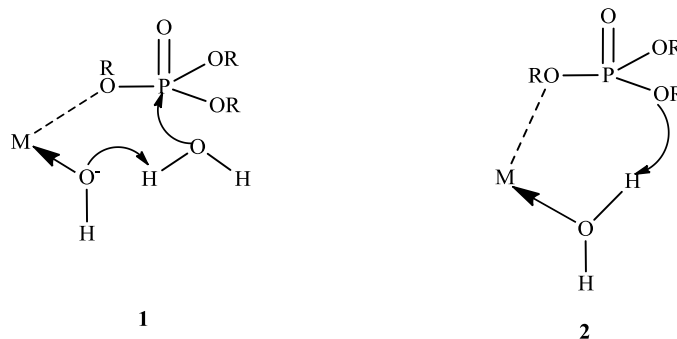


Figura 8. Mecanismos de esfera externa para la hidrólisis de ésteres fosfato promovida por iones metálicos.

En la hidrólisis catalizada por complejos binucleares o trinucleares, puede haber mezcla en el modo de activación por cada ión metálico, por lo cual es importante distinguir y además cuantificar de dónde proviene la aceleración que dichos iones metálicos proveen; es decir, qué papel desempeña el ión M_1 y si será diferente del rol del ión M_2 . Por ello profundizaremos en el *modo de activación por doble ácido de Lewis*, en el cual se pueden presentar *tres casos con dos centros metálicos* (Figura 9). Se sabe que *los fosfatos pueden formar un puente entre los metales*, de ahí surge la activación por doble ácido de Lewis, al unirse los dos oxígenos del fosfato a diferentes centros metálicos, sin embargo, es complicado cuantificar la doble activación por ácido de Lewis, ya que, puede envolver la suma de activación sencilla por ácido de Lewis más: a) *activación por hidróxido unido al metal*, b) *activación del grupo saliente*. Estos *tres mecanismos son cinéticamente indistinguibles* en presencia de *metales lábiles ante la sustitución*, ya que las tres especies pueden estar en equilibrio antes de realizar la hidrólisis [13].

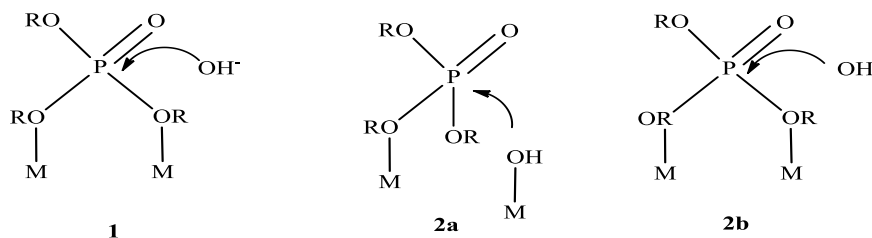


Figura 9. Mecanismos por doble activación de ácido de Lewis: 1) Doble activación por ácido de Lewis, 2a) Activación sencilla por ácido de Lewis más activación por un hidróxido unido al metal, 2b) Activación sencilla por ácido de Lewis más activación del grupo saliente

En general, podemos cuantificar los modos de activación con el efecto de la aceleración que proveen en la reacción de hidrólisis, es decir, podemos sostener que si la aceleración se debe a la activación por ácido de Lewis dará un incremento en la velocidad de $\cong 10^2$; en el caso de activación del nucleófilo el aumento en la velocidad será de $\cong 10^8$ y si es por activación del grupo saliente el incremento en la velocidad es de $\cong 10^6$. Si combinamos los tres modos, ya que, pueden ser aditivos, el aumento en la velocidad será de 16 órdenes de magnitud para la reacción de hidrólisis de los diésteres de fosfato, lo que significa disminuir el tiempo de vida media del ADN (que es un diéster de fosfato) de diez billones de años a 10 minutos a pH 7 y 25°C en agua [13], [16].

La ruptura de ésteres fosfato se puede realizar mediante procesos hidrolíticos ó por procesos oxidativos que por lo general son más rápidos. La vía hidrolítica tiene muchas ventajas para su aplicación, ya que elimina los radicales producidos al inducir la ruptura mediante iones metálicos y oxidantes muy fuertes como el peróxido de hidrógeno. Por ello, la mayoría de los modelos que promueven la hidrólisis de ésteres de fosfato están inspirados en las enzimas naturales. Uno de los aspectos que tienen en común las metalohidrolasas naturales y las sintéticas es la diversidad estructural de los sitios activos, ambas utilizan uno o más centros metálicos para llevar a cabo su función, pero la gran diferencia radica en que la mayoría de las nucleasas sintéticas carecen del ambiente proteico, que, en las enzimas, es el que asiste a la catálisis por metales [11]. Se han desarrollado sistemas con iones metálicos que generalmente contienen cationes como Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , iones lantánidos Eu^{3+} y Ce^{4+} algunas de sus estructuras se muestran en la Figura 10. Aunque estos dos últimos no se encuentran en las enzimas naturales, son mejores ácidos de Lewis que los cationes biológicamente relevantes (Tabla 1), lo que en principio podría atribuirles mejor reactividad [17-19]. *El diseño de ligantes que al coordinarse al metal mimeticen los sitios activos de las enzimas no es algo trivial, y a la fecha, es un área que está en desarrollo.*

La degradación de compuestos organofosforados por complejos metálicos en agua presenta constantes de velocidad moderadas [15-17], esto se puede explicar porque los triésteres de fosfato al no poseer carga neta no se sienten atraídos por los complejos metálicos lo que dificulta su activación y aunado a esto, la baja solubilidad de los triésteres en agua dificulta su estudio.

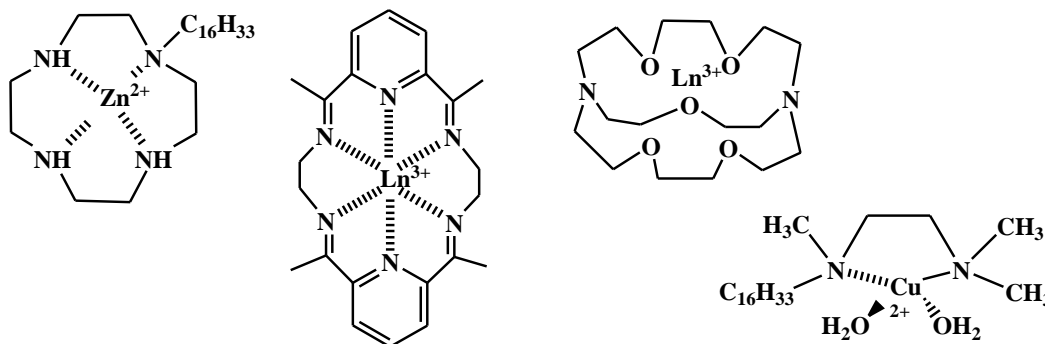


Figura 10. Estructuras de algunos de los complejos metálicos utilizados para hidrolizar triésteres de fosfato

Una alternativa es el utilizar medios de reacción polares, pero con constante dieléctrica menor que la del agua, lo que se ha demostrado permite una eficiencia en la catálisis, al promover las interacciones entre el catalizador y el sustrato [18-20]. Desde 2003 el grupo de Neverov y Brown han utilizado metanol como disolvente para la transesterificación de triésteres de fosfato y fosforotioatos con metales lantánidos y de transición como catalizadores [20]. Encontraron que especies del tipo $[La^{3+}(-OCH_3)]_2$ y complejos de metales de transición como Cu^{2+} y Zn^{2+} promueven activamente la descomposición de una serie de fosfatos neutros y fosforotioatos [21].

Aparentemente su descomposición presenta un mecanismo (Figura 11) del tipo bimolecular común para todas estas reacciones, en el cual se propone que un complejo formado por metal-metalóxido:sustrato, y presenta un desplazamiento concertado del grupo saliente (ariloxi, ariltio), para dar el producto final $P-OCH_3$, en donde el grupo saliente ariloxi se reemplaza por un grupo metóxi.

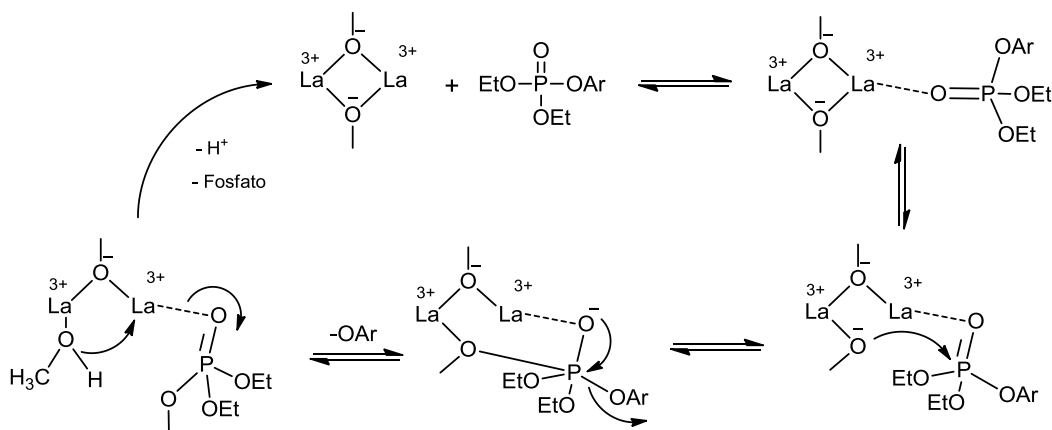


Figura 11. Mecanismo propuesto para la metanólisis de paraoxón promovido por $[La^{3+}]$ [20].

El estado de transición (ET) propuesto es concertado y el valor de α es 0.6 sugiere que la ruptura del enlace ariloxi-P se encuentra en un progreso de 60% con respecto al éster de partida. Los complejos estudiados por este grupo de trabajo parecen funcionar mediante una cinética simple que se muestra en la Figura 12, en donde K_b es la constante de formación del intermediario Substrato: $M^{X+}(\cdot OR)$ (metal-metóxido:sustrato) y k_{cat} es la constante cinética de transesterificación en metanol. Los autores encontraron que en metanol a 25 °C y un pH de 7.9 la constante catalítica de primer orden para este sistema fue de $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ y proponen un mecanismo de reacción en el cuál el mecanismo de reacción es concertado, por lo que no se puede medir la constante de formación metal-metóxido:sustrato. Pero este sistema provee una aceleración de 10^{11} órdenes de magnitud con respecto a la reacción no catalizada. La razón por la cual la velocidad se incrementa no se aprecia claramente en las ecuaciones cinéticas y notoriamente se relaciona con la disminución en la constante dieléctrica del medio al pasar de agua a metanol [20-22].



$$-d[\text{Substrato}]/dt = k_{cat} \cdot K_b [\text{Substrato}][M^{X+}(\cdot OR)]$$

Figura 12. Proceso secuencial para la metanólisis de compuestos organofosforados por iones metálicos y/o complejos metálicos.

La eficiencia de los sistemas catalíticos en metanol se debe al sinergismo que existe entre la baja polaridad, una menor constante dieléctrica del medio, y los alcóxidos coordinados al metal, lo que da origen a una alta reactividad de los sistemas. Esto se puede explicar por la unión de diferentes factores como el incremento entre las interacciones ion-dipolo que se dan entre el complejo metálico y el sustrato lo que da por resultado el decremento en el valor de la energía de activación de la reacción cuando se encuentran previamente asociados el catalizador y el sustrato, dicha pre-asociación es promovida por la baja polaridad del disolvente, lo que favorece los estados de transición en donde la carga se ve distribuida de una manera más uniforme si se compara con el estado inicial del sistema [22]. A pesar de que las reacciones catalizadas por iones metálicos sin ligantes son más rápidas, se dificulta el estudio de las especies catalíticas responsables, ya que pueden competir con reacciones de dimerización, o la formación de oligómeros, al igual que la precipitación de metóxidos neutros, por lo que el uso de ligantes estabilizadores facilita el estudio y la identificación de las especies activas. Una de las estrategias en el diseño de ligantes para la descomposición de triésteres es la incorporación de sustituyentes que puedan formar enlaces débiles de hidrógeno (puentes de hidrógeno), ya que estos favorecerán la catálisis al

augmentar las interacciones intermoleculares en el estado de transición.

3. Metodología

3.1. Procedimiento Experimental

El proyecto para la degradación de pesticidas organofosforados ayudará al entendimiento en los mecanismos de reacción y a futuro pretende desarrollar sistemas catalíticos eficientes que permitan degradar a los pesticidas organofosforados con velocidades moderadas, pero con subproductos menos tóxicos que los materiales de partida. Para ello es fundamental estudiar la cinética de hidrólisis de los compuestos organofosforados para obtener los parámetros cinéticos de la degradación en un ambiente controlado, es decir pH 7 u 8 en agua y temperatura ambiente.

En este estudio utilizamos como sustrato los pesticidas etil paraoxón y etil paratión (Figura 4A y 4B), debido a que en su estructura ambas moléculas presentan el grupo 4-nitrofenol, el cual al ser un cromóforo permite seguir la reacción de hidrólisis por Uv-Vis.

Los estudios cinéticos que se están desarrollando utilizan al ion hidroxilo como nucleófilo en la reacción de hidrólisis (Figura 5). Dicha reacción es altamente selectiva dando como producto de degradación el 4-nitrofenol que puede ser monitoreado a través de distintas técnicas analíticas y equipos especializados como IR, RMN y espectrofotometría UV-Vis.

Para tener una idea de la aceleración que proveen los complejos metálicos versus el ion hidroxilo, los estudios son realizados en presencia de complejos de metales de transición (Tabla 1) que promuevan la hidrólisis de los triésteres de fosfato, con estos datos se podrán comparar los resultados obtenidos con y sin los complejos para determinar la efectividad de los mismos como catalizadores en la degradación de los pesticidas.

Para medir la efectividad catalítica de los complejos metálicos se usan 2 métodos, uno de manera directa en el cual los complejos deben ser previamente sintetizados y caracterizados, por lo que se utiliza el compuesto aislado y puro durante los estudios de hidrólisis. La segunda forma consiste en disolver en las celdas de trabajo los ligantes del complejo y sales metálicas que produzcan los cationes metálicos para formar los respectivos complejos metálicos *in situ* y llevar a cabo los estudios cinéticos.

Se realizan varias series utilizando los diferentes complejos y modificando diversas variables en cada una de la series, como las concentraciones, temperatura, pH, disolvente, entre otros para obtener las condiciones óptimas de la hidrólisis mediada por cada compuesto.

Por su parte la síntesis y caracterización de los complejos metálicos requiere de un proceso laborioso que inicia con el diseño de los mismos (basado en la literatura) [11-17] una vez diseñados y propuestos los complejos se debe idear la ruta sintética de los ligantes elegidos, generalmente la síntesis de dichos ligantes se debe llevar a cabo mediante varias reacciones orgánicas en el laboratorio lo cual además incluye la caracterización de los ligantes mediante distintas técnicas espectroscópicas como RMN ^1H , espectroscopia infrarroja y espectrometría de masas.

La síntesis de los catalizadores metálicos se lleva a cabo haciendo reaccionar los ligantes aislados anteriormente con una sal apropiada del metal de transición que permita la formación de los enlaces metal ligante, este también es un proceso delicado y depende de las condiciones de reacción que se impongan, aunado a ello conlleva el proceso de purificación y la caracterización del complejo que se hace de forma similar a la del ligante libre.

Se deben sintetizar familias de complejos con distintos metales de transición [11-17] para poder estudiar los efectos que produce cada uno de los metales, así como los diferentes estados de oxidación que estos pueden adquirir dentro del complejo, lo que implica una variable más como un objeto de estudio entre

los sistemas.

4. Resultados experimentales

Los complejos que se trabajan actualmente consisten en el esqueleto formado por un ligante polidentado nitrogenado (3 o 4 sitios de unión al metal) cuya estructura se muestra en la Figura 13 y se utilizan cationes de metales de transición como Fe^{2+} , Co^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , además se proponen la utilización de complejos mono y bi nucleares [11], lo cual puede presentar diferencias importantes durante la catálisis debido a los mecanismos posibles de hidrólisis informados por otros autores [13], [16].

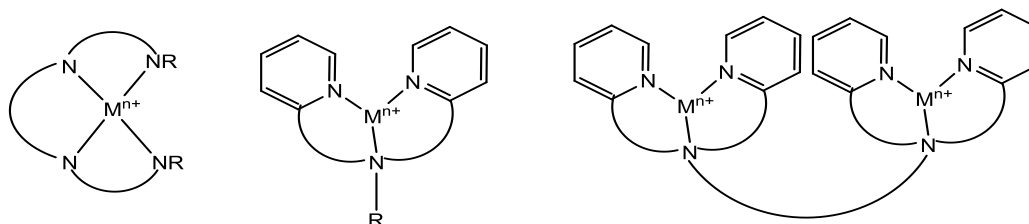


Figura 13. Estructura de los catalizadores metálicos sintetizados.

Los análisis de UV-Vis se hicieron en un equipo Shimadzu 2600 en celdas de cuarzo utilizando como disolvente mezcla 9:1 agua/metanol.

En la Figura 14 se observan los espectros UV-Vis obtenidos después de la hidrólisis del etil paraoxón, la línea intercortada corresponde al espectro obtenido cuando por la hidrólisis del compuesto fue debida únicamente al disolvente, donde se observa una longitud de onda máxima de absorción en 280 nm. La línea sólida corresponde al espectro del producto hidrolizado en presencia de iones hidroxilo a un pH = 10 se observa una segunda señal de absorción en la región del visible longitud de onda máxima de 400 nm que es responsable de proporcionar una coloración amarilla.

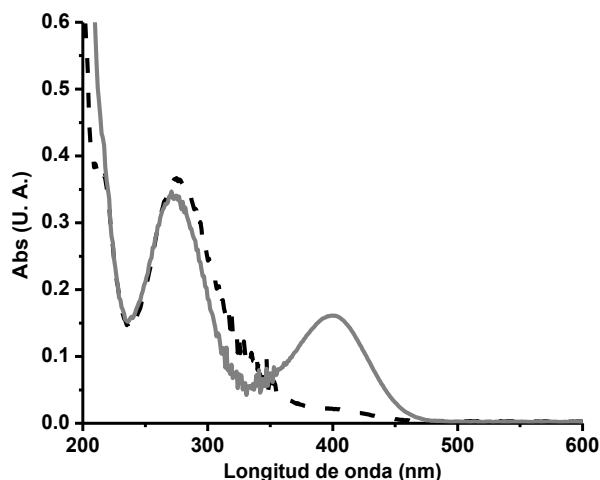


Figura 14. Espectros UV-Vis de la hidrólisis del etil paraoxón.

Este comportamiento se atribuye que la especie 4-nitrofenol presenta un equilibrio de desprotonación el cual depende del pH, ya que el valor de pKa del 4-nitrofenol es de 7.2, si el pH es menor a diez, el producto

será el 4-nitrofenol como se muestra en la Figura 15A y su banda de absorción máxima estará en 280 nm, pero si el pH se incrementa arriba de diez entonces la banda de absorción se correrá a 400 nm indicando la presencia de la especie 4-nitrofenolato cuya reacción se ilustra en la Figura 15B.

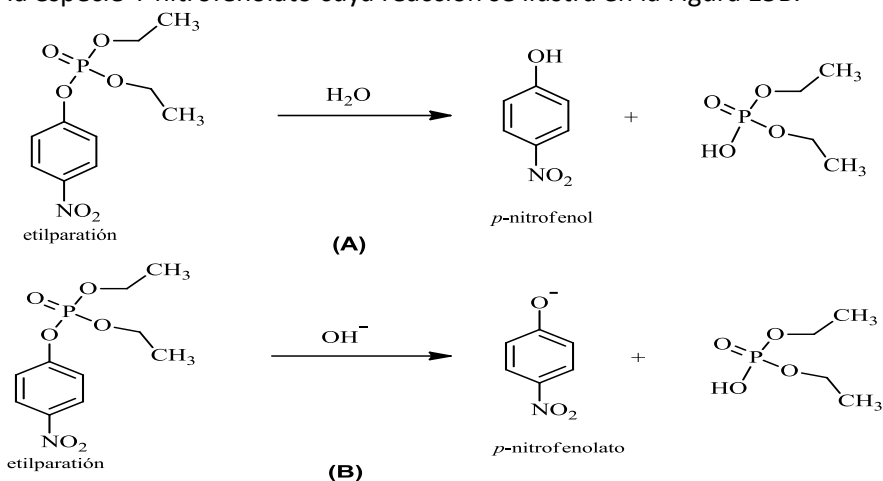


Figura 15. Productos de hidrólisis de etil paraoxón: (A) $pH < 10$ y (B) $pH > 10$.

Una muestra de etil paraoxón se almacenó en un frasco bajo las condiciones ambientales en el laboratorio durante 5 meses, después de este tiempo se procedió a tomar los espectros de RMN 1H y ^{31}P que se presentan en la Figura 16.

Los espectros de RMN 1H y ^{31}P fueron obtenidos en un equipo Bruker Advance 600, los desplazamientos químicos son reportados en ppm empleando como disolventes $CDCl_3$. La referencia para el espectro fue $Si(CH_3)_4$, las constantes de acoplamiento se reportan en Hz.

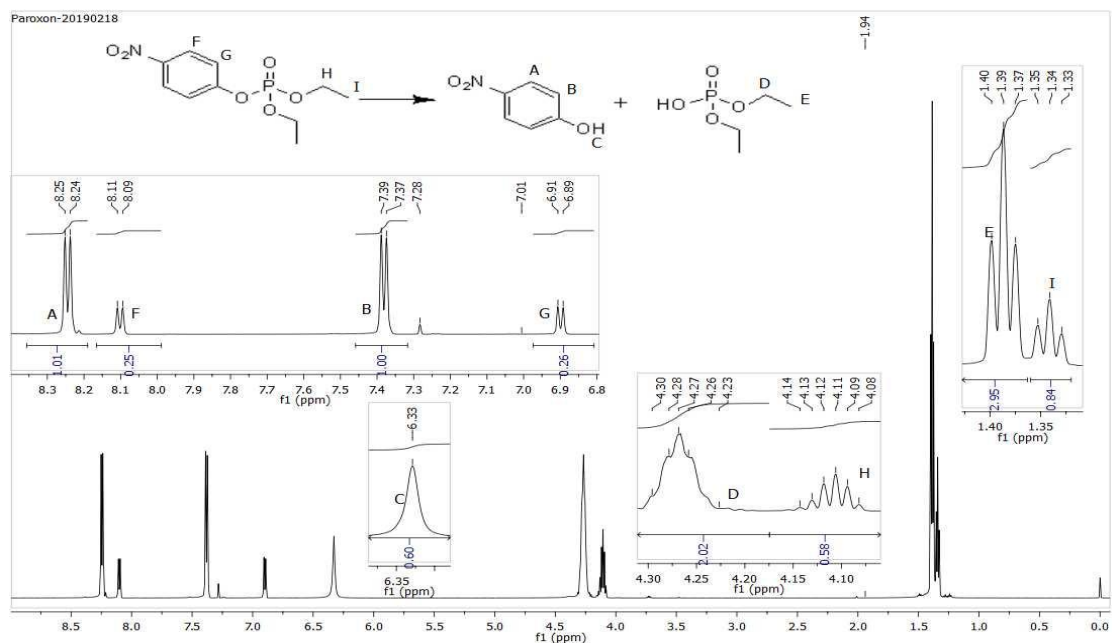
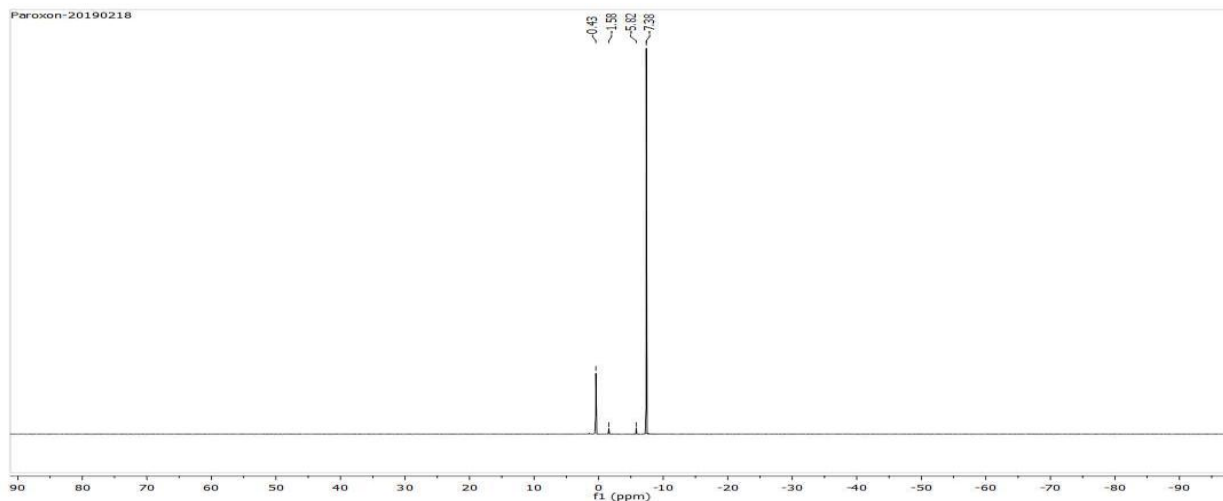


Figura 16. Espectro de RMN 1H al 80% de hidrólisis de etil paraoxon en $CDCl_3$.

En la Figura 16 se muestra el espectro de RMN de 1H del etil paraoxón, cuya fórmula es $[(CH_3CH_2O)_2PO(p-$

OC₆H₄NO₂]] cuyas señales encontradas para RMN de ¹H en CDCl₃ como disolvente son: en 8.10 ppm (*d*, 2H, ³J = 12 Hz, **F**), 6.90 ppm (*d*, 2H, ³J = 12 Hz, **G**), 4.11 ppm (*m*, 4H, ³J = 6 Hz, **H**), 1.34 ppm (*t*, 6H, ³J = 6 Hz, **I**). Una vez hidrolizado el triéster de fosfato, encontramos como productos al ácido dietil fosfórico cuya fórmula es (CH₃CH₂O)₂POOH, y presenta sus señales en RMN de ¹H en CDCl₃ como disolvente una en 4.27 ppm (*m*, 4H, ³J = 9 Hz, **D**) y otra en 1.39 ppm (*t*, 6H, ³J = 9 Hz, **E**). Otro producto de la hidrólisis es el *p*-Nitrofenol, cuya fórmula es *p*-HOC₆H₄NO₂, y presenta tres señales en RMN de ¹H en CDCl₃, una en



8.24 ppm (*d*, 2H, ³J = 10 Hz, **A**), otra en 7.38 ppm (*d*, 2H, ³J = 10 Hz, **B**) y la última en 6.33 ppm (*s*, 1H, **C**).

Figura 17. Espectro de RMN ³¹P al 80% de hidrólisis de etil paroxon en CDCl₃.

En la Figura 17 se muestra el espectro de RMN de ³¹P para etil paroxon, cuya fórmula es [(CH₃CH₂O)₂PO(*p*-OC₆H₄NO₂)] como disolvente se utilizó CDCl₃ y se observa una sola señal, que corresponde a un singulete (*s*) en -7.4 ppm. Para el producto de hidrólisis tenemos al ácido dietil fosfórico cuya fórmula es (CH₃CH₂O)₂POOH y en CdCl₃ se observa una sola señal que corresponde a un singulete (*s*) en 0.43 ppm.

Discusión

En el espectro de RMN ¹H en la Figura 16 se observan las señales debido tanto al etil paraoxón como a los 2 productos de la hidrólisis del fragmento fenóxido: el nitrofenol y el ácido dietil fosfórico (no se observa la señal del proton ácido debido al rápido intercambio con deuterio del disolvente). Mediante la integración de las señales podemos observar claramente una proporción de 1:4 etilparoxon/nitrofenol por lo que concluimos que se ha hidrolizado el 80% del paraoxon.

En el espectro de RMN ³¹P en la Figura 17 se observan las señales del etil paraoxón y el ácido dietil fosfórico en proporción similar a lo establecido anteriormente. En este espectro también se observan 2 pequeñas señales en 1.5 ppm y 5.8 ppm debido a la formación de ácido etilfosfórico y ácido fosfórico productos de la segunda y tercera hidrólisis, la proporción de estos subproductos es tan baja que no es posible observar las señales en el espectro de ¹H.

5. Conclusiones

El proyecto de ciencia básica se encuentra en ejecución y se espera obtener resultados en los próximos meses que nos permitan comparar la eficiencia de los complejos y otros sistemas reportados en la literatura, para de este modo poder entender el mecanismo con el que la reacción de hidrólisis procede,

y probar otros sustratos organofosforados que también se utilizan en la actualidad como plaguicidas tanto en el estado de Tabasco como en México. Este grupo de investigación ratifica su preocupación por la sobre exposición de los trabajadores agrícolas a los agroquímicos y hace un llamado a la sociedad para que haya mayor difusión sobre las consecuencias a corto y largo plazo sobre el uso de estos compuestos sin protección.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Proyecto PRODEP con registro UJAT-PTC-277, para la realización de este Proyecto Experimental.

7. Referencias

- [1] Palacios N, M. E., Paz, M. P. Sintomatología persistente en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas órgano-fosforados. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 29(2), (2011), 153–162. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2011000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- [2] INEGI. La agricultura de Tabasco. (1996), Recuperado de http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/1329/702825112899/702825112899_2.pdf
- [3] José, M., Calzada, E., Jorge, M., Narváez, A., & Mayor, O. SAGARPA: Agenda Técnica Agrícola de Tabasco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Coyoacán, México. (2017), 11-119.
- [4] Ramírez, J. A., Lacasaña, M. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición, *Arch Prev Riesgos Labor*. 4(2), (2001), 67–75.
- [5] Albert, L. A., Benítez, J. A. Impacto ambiental de los plaguicidas en los ecosistemas costeros. En Botello A.V., Rendon von Osten, J., y Hernández, C.A. Segunda edición, Golfo de México. Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnostico y Tendencias. Veracruz, México: Univ. Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, (2005), 157–176.
- [6] Obiols Quinto, J. NTP 512: Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene En El Trabajo, (I), (1999). Recuperado de http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_512.pdf
- [7] Corbridge, D.E.C. Sexta Edición. Phosphorous. Chemistry, Biochemistry and Technology. Florida, Estados Unidos, (2013): CRC Press.
- [8] Jeong Jang, Y., Kim, K., Tsay, O.G., Atwood, D.A., Churchill, D. G. Destruction and detection of chemical warfare agents. *Chemical Reviews*. (2015), 115. PR1- PR76.
- [9] Ferrer, A. Intoxicación por plaguicida. *ANALES del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(Supl.1), (2003), 155-171.
- [10] Clavijo, C. M. H., De Salazar, M. G. Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de La Facultad de Medicina*, 53(4), (2005), 244–258.
- [11] Liu, C., Wang, Li. DNA hydrolytic cleavage catalyzed by synthetic multinuclear metallonucleases. *Dalton Trans.*, (0). (2009), 227-239.

- [12] Morales Rojas, H., Moss, R.A. Phosphorolytic reactivity of o-iodosylcarboxylates and related nucleophiles. *Chemical Reviews*. 102. (2002), 2497-2521.
- [13] Kramer, R. Bioinorganic models for the catalytic cooperation of metal ions and functional groups in nuclease and peptidase enzymes. *Coord. Chem. Rev.* 182, (1999), 243-261.
- [14] Tarrat, N. Alkaline hydrolysis of phosphate triesters in solution: Stepwise or concerted? A theoretical study. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 941(1-3), (2010), 56-60.
- [15] Florián, J., & Warshel, A. Phosphate Ester Hydrolysis in Aqueous Solution: Associative versus Dissociative Mechanisms. *The Journal of Physical Chemistry B*102(4), (1998), 719-734.
- [16] Hegg, E., Burstyn, J. Toward the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: a rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry. *Coord. Chem. Rev.* 173, (1998), 133-165.
- [17] Schroeder, G., Lad, C., Wyman, P., Williams, N., Wolfenden, R. The time required for water attack at the phosphorus atom of simple phosphodiester and of DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103, (2006), pág. 4052-4055.
- [18] Aguilar Pérez, F., Gomez Tagle, P., Collado Fregoso, E., Yatsimirsky, A. Phosphate Ester Hydrolysis by Hydroxo Complexes of Trivalent Lanthanides Stabilized by 4-Imidazolecarboxylate *Inorg. Chem.* 45. (2006), 9502-9517.
- [19] Sanchez-Lombardo, I., Yatsimirsky, A. K. Simplified Speciation and Improved Phosphodiesterolytic Activity of Hydroxo Complexes of Trivalent Lanthanides in Aqueous DMSO. *Inorganic Chemistry*. 47(7), (2008), 2514-2525.
- [20] Tsang J.S., Neverov A.A., Brown R.S. Billion-fold acceleration of the methanolysis of paraoxon promoted by $\text{La}(\text{OTf})_3$ in methanol. *J Am Chem Soc.* 125(25), (2003), 7602-7607.
- [21] Edwards, D.R., Brown, R.S. Development of metal-ion containing catalysts for the decomposition of phosphorothioate esters. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics*. 1834(1), (2013), 433-442.
- [22] Maxwell, C., Neverov, A. A. Brown, R. S. Solvent deuterium kinetic isotope effects for the methanolysis of neutral C=O, P=O and P=S esters catalyzed by a triazacyclododecane: Zn^{2+} methoxide complex. *Organic and Biomolecular Chemistry*. 3, (2005), 4329-4336.