



Universitat de Lleida

## Degradación fotoquímica de compuestos tóxicos en fluidos alimentarios

Raquel Ibarz Martínez

<http://hdl.handle.net/10803/386412>

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**Universitat de Lleida**

*Departament de Tecnologia dels Aliments*

**Ciència i Tecnologia Agrària i Alimentària**

**DEGRADACIÓN FOTOQUÍMICA DE COMPUESTOS  
TÓXICOS EN FLUIDOS ALIMENTARIOS**

**Raquel Ibarz Martínez**

**Abril 2016**





# **Universitat de Lleida**

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària

*Departament de Tecnologia dels Aliments*

**Ciència i Tecnologia Agrària i Alimentària**

**Memoria presentada por Raquel Ibarz Martínez para optar  
al grado de Doctor**

Dirigida por:

Dr. Alfonso Garvín Arnés

Candidata a Grado de Doctor

Raquel Ibarz Martínez

Lleida, abril 2016





**Universitat de Lleida**  
**Departament Tecnologia d'Aliments**

Av. Alcalde Rovira Roure, 191  
25198 Lleida  
Tel.: (+34 973 702521 / 973 702500  
Fax :(+34 973 702596  
[dta@tecal.udl.es](mailto:dta@tecal.udl.es)

El Dr. Alfonso Garvín Arnés, Profesor Agregado del Área de Tecnología de Alimentos del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Lleida.

**Hace constar:**

Que la Tesis Doctoral titulada “*Degradación Fotoquímica de Compuestos Tóxicos en Fluidos Alimentarios*”, de la que es autor Raquel Ibarz Martínez, ha sido realizada bajo su dirección, su contenido se corresponde con el proyecto de tesis aprobada en su momento y cumple las condiciones requeridas para optar al grado de Doctor por la Universidad de Lleida. Por todo ello,

**Autoriza:**

A que esta memoria se presente para su defensa oral.

Lleida, 8 de Febrero de 2016

Fdo: Alfonso Garvín Arnés



## Agradecimientos

*Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de una manera u otra han contribuido en la realización de este trabajo.*

*En primer lugar quiero dar las gracias a mi director de tesis al Dr. Alfonso Garvín por su ayuda, apoyo constante, estímulo, aportación de ideas y consejos que han contribuido a formarme en el campo de la investigación.*

*Agradezco el apoyo que me han prestado todas las personas que forman parte del laboratorio de investigación de Ingeniería de Alimentos, con las que he compartido todas las instalaciones donde he desarrollado el trabajo experimental de esta tesis. En especial a Shirley Rojas y Karla Aguilar con las que he invertido largas horas de trabajo, no sólo de laboratorio, sino también de intercambio cultural.*

*A mis amigos, por tener siempre “una estona” para animarme a seguir con ganas e ilusión mi trabajo de investigación.*

*Por último, agradecer el apoyo incondicional de mi familia, que ha sido el pilar más importante de esta tesis, sin el cual no hubiera sido posible llegar hasta aquí. A mis padres Albert y Fely por su apoyo, cariño, confianza y el consejo de que todo trabajo duro y esfuerzo siempre conduce a buen puerto. A mi hermano Albert que, pese a los kilómetros de distancia que nos separan, siempre ha estado a mi lado para recordarme que todo sacrificio tiene su recompensa. A Oriol, por la paciencia y por su apoyo constante, además, por su comprensión para entender que no siempre es posible pasar juntos todas las horas que hubiésemos deseado.*





# ÍNDICE GENERAL

	Índice general.	I
	Índice de Figuras.	III
	Índice de Tablas.	VII
0	Resumen.	IX
1	INTRODUCCIÓN.	1
1.1	Problemas en la elaboración de zumos.	3
1.2	Fundamentos de los tratamientos fotoquímicos.	5
1.2.1	Efecto de la radiación UV sobre microorganismos.	5
1.2.2	Efecto de la radiación UV y solar sobre enzimas.	7
1.2.3	Efecto de la radiación UV y solar sobre las toxinas.	8
1.2.4	Efecto de la radiación UV sobre zumos.	9
1.2.5	Tratamiento fotoquímico de contaminantes en agua.	10
1.2.6	Mejora de las películas biopoliméricas tratadas con radiación UV.	12
1.3	Fuentes de irradiación.	14
1.4	Reactores fotoquímicos.	17
1.5	Modelo matemático para un fotorreactor plano.	20
1.5.1	Balace de materias.	20
1.5.2	Balace de radiación.	20
1.5.3	Potencia de radiación absorbida.	23
1.5.4	Rendimiento cuántico.	24
1.5.5	Mecanismo cinético de fotodegradación.	26
1.6	Compensación cinética-termodinámica.	28
1.6.1	Compensación cinética.	31
1.6.2	Compensación termodinámica.	32
1.6.3	Control de la reacción.	34
1.7	Reacción Actinométrica.	38
1.7.1	Descomposición fotoquímica de ácido oxálico en presencia de sales de uranilo.	39
2	OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.	43
2.1	Justificación e interés de la tesis doctoral.	45
2.2	Objetivos.	46
2.3	Plan de trabajo.	48
3	MATERIALES Y MÉTODOS.	51
3.1	Instalación experimental.	53
3.2	Preparación de las muestras a irradiar.	57
3.3	Tratamiento con radiación UV.	57
3.4	Determinaciones analíticas.	58
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	61
4.1	Actinometría. Potencia real de la lámpara.	63
4.2	Potencia absorbida en el interior del fotorreactor.	66
4.3	Fotodegradación de patulina.	78

4.3.1	Mecanismo de fotodegradación de patulina.	80
4.3.2	Potencia radiante absorbida en función de la concentración de patulina.	82
4.3.3	Fotólisis de patulina en solución acuosa.	85
4.3.4	Fotodegradación de patulina en zumo de manzana.	89
4.3.5	Compensación cinética-termodinámica.	91
4.4	Fotodegradación de ocratoxina A.	99
4.4.1	Mecanismo de fotodegradación de ocratoxina A.	100
4.4.2	Potencia radiante absorbida en función de la concentración de ocratoxina A.	101
4.4.3	Fotólisis de ocratoxina A en solución acuosa.	105
4.4.4	Fotodegradación de ocratoxina A en mosto de uva.	109
4.4.5	Compensación cinética-termodinámica.	111
4.5	Fotodegradación de tiabendazol.	119
4.5.1	Mecanismo de fotodegradación de tiabendazol.	120
4.5.2	Potencia radiante absorbida en función de la concentración de tiabendazol..	122
4.5.3	Fotólisis de tiabendazol en solución acuosa.	128
4.5.4	Compensación cinética-termodinámica.	134
4.6	Fotodegradación de benomilo.	146
4.6.1	Mecanismo de fotodegradación de benomilo.	146
4.6.2	Potencia radiante absorbida en función de la concentración de benomilo.	149
4.6.3	Fotólisis de benomilo en solución acuosa.	152
5	CONCLUSIONES.	155
6	RECOMENDACIONES.	161
7	BIBLIOGRAFÍA.	165
8	NOMENCLATURA.	185
9	ANEJOS.	189
	Publicaciones científicas.	191

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.3-1.</b> Espectro de emisión de diferentes fuentes de radiación UV.	16
<b>Figura 1.3-2.</b> Tipos de fotorreactores.	19
<b>Figura 1.5-1.</b> Esquema de un fotorreactor plano.	23
<b>Figura 1.6-1.</b> Cambio de energía potencial para cualquier reacción química.	29
<b>Figura 3.1-1.</b> Esquema de la instalación fotoquímica.	54
<b>Figura 3.1-2.</b> Fotografía de la instalación fotoquímica.	54
<b>Figura 3.1-3.</b> Esquema de la lámpara Philips HPM-12.	55
<b>Figura 3.1-4.</b> Espectro de emisión de la lámpara Philips HPM-12.	55
<b>Figura 4.1-1.</b> Variación de la conversión de ácido oxálico con el tiempo de irradiación.	64
<b>Figura 4.2-1.</b> Esquema y geometría de un fotorreactor plano.	67
<b>Figura 4.2-2.</b> Esquema de un fotorreactor plano dividido en capas.	67
<b>Figura 4.2-3.</b> Espectro de absorción de una solución acuosa de patulina de 25 mg/L.	72
<b>Figura 4.2-4.</b> Potencia radiante espectral en función de la concentración de patulina.	72
<b>Figura 4.2-5.</b> Potencia radiante espectral incidente.	73
(a). En la superficie del reactor, $P(0)$ .	
(b). En el fondo del reactor, $P(c)$ , para solución de patulina de 50 $\mu\text{g/L}$ .	
(c). En el fondo del reactor, $P(c)$ , para solución de patulina de 100 $\mu\text{g/L}$ .	
<b>Figura 4.2-6.</b> Relación potencia radiante espectral absorbida/potencia radiante espectral incidente en la superficie del reactor en función de la profundidad y del coeficiente de absorción.	77
(a). En los primeros 5 cm de profundidad y valores del coeficiente de absorción entre 0,1 y 10 $\text{cm}^{-1}$ .	
(b). En el primer cm de profundidad y valores del coeficiente de absorción entre 0,1 y 100 $\text{cm}^{-1}$ .	
<b>Figura 4.3-1.</b> Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de patulina de 500 $\mu\text{g/L}$ .	84
<b>Figura 4.3-2.</b> Influencia de la concentración de patulina ( $C_P$ ) en $P_{abs}$ . Determinación de la constante de proporcionalidad $k_R$ .	85
<b>Figura 4.3-3.</b> Cromatograma HPLC mostrando los picos de absorbancia de patulina a diferentes tiempos de irradiación, para soluciones acuosas a pH=4 y 25°C.	86
<b>Figura 4.3-4.</b> Evolución del contenido en patulina con el tiempo de irradiación para soluciones acuosas a pH=4 y pH=7, a diferentes temperaturas.	87
<b>Figura 4.3-5.</b> Cromatograma HPLC mostrando los picos de absorbancia de patulina a diferentes tiempos de irradiación, para zumos de manzana 25°C.	89
<b>Figura 4.3-6.</b> Evolución del contenido en patulina en zumo de manzana, con el tiempo de irradiación a diferentes temperaturas.	91
<b>Figura 4.3-7.</b> Compensación cinética para la fotodegradación de patulina.	94
<b>Figura 4.3-8.</b> Valores de las constantes para la fotodegradación de patulina en función de la temperatura para diferentes valores de pH.	95
<b>Figura 4.3-9.</b> Compensación termodinámica para la fotodegradación de patulina.	96

<b>Figura 4.4-1.</b> Espectro de absorción de una solución de ocratoxina A de 50 mg/L.	102
<b>Figura 4.4-2.</b> Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de ocratoxina A de 100 $\mu$ g/L.	104
<b>Figura 4.4-3.</b> Variación de $P_{abs}$ en función de la concentración de ocratoxina A. Determinación de la constante de proporcionalidad $k_R$ .	105
<b>Figura 4.4-4.</b> Evolución de la concentración relativa de ocratoxina A con el tiempo de irradiación, a diferentes temperaturas, para soluciones acuosas a (a) pH=4, y (b) pH=7.	106
<b>Figura 4.4-5.</b> Evolución del contenido de ocratoxina A en mosto de uva, con el tiempo de irradiación a diferentes temperaturas.	110
<b>Figura 4.4-6.</b> Compensación cinética para la fotodegradación de ocratoxina A.	113
<b>Figura 4.4-7.</b> Valores de las constantes para la fotodegradación de ocratoxina A en función de la temperatura para diferentes valores de pH.	115
<b>Figura 4.4-8.</b> Compensación termodinámica para la fotodegradación de ocratoxina A.	116
<b>Figura 4.4-9.</b> Cambios de la energía libre de Gibbs en función de la temperatura para cada valor de pH.	118
<b>Figura 4.5-1.</b> Espectro de absorción de una solución de tiabendazol de 10 mg/L.	123
<b>Figure 4.5-2.</b> Potencia radiante espectral absorbida en función de la concentración de tiabendazol utilizando las ecuaciones simplificada y no simplificada.	124
<b>Figure 4.5-3.</b> Potencia radiante espectral total absorbida por la solución ( $P_{abs}$ ) de tiabendazol entre 3 y 10 mg/L.	125
<b>Figure 4.5-4.</b> Dependencia de la relación radiación absorbida/radiación incidente con la profundidad del reactor para una disolución de tiabendazol de 10 mg/L.	126
<b>Figura 4.5-5.</b> Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de tiabendazol de 10 mg/L.	129
<b>Figura 4.5-6.</b> Evolución del espectro de absorción de tiabendazol con el tiempo de irradiación, a pH=3 y 15°C.	130
<b>Figure 4.5-7.</b> Evolución de la concentración relativa de tiabendazol con el tiempo de irradiación a pH=3 y diferentes temperaturas.	130
<b>Figura 4.5-8.</b> Compensación cinética para mecanismos cinéticos de diferente orden, para la degradación fotoquímica de tiabendazol.	137
<b>Figura 4.5-9.</b> Compensación termodinámica para mecanismos cinéticos de diferente orden, para la degradación fotoquímica de tiabendazol.	140
<b>Figura 4.5-10.</b> Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de orden cero.	143
<b>Figura 4.5-11.</b> Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de primer orden.	144
<b>Figura 4.5-12.</b> Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de pseudo primer orden.	145
<b>Figura 4.6-1.</b> Espectro de absorción de una solución acuosa de benomilo de 11 mg/L.	150

**Figura 4.6-2.** Potencia de radiación en la superficie (a) y en el fondo (b) de un fotorreactor. La Figura b se ha obtenido para una solución de benomilo de 50 mg/L.

151

**Figura 4.6-3.** Evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación a pH=4.

153



## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.7-1.</b> Características de la lámpara y de la reacción actinométrica nitrato de uranilo-ácido oxálico.	42
<b>Tabla 3.1-1.</b> Características de emisión de la lámpara.	56
<b>Tabla 4.1-1.</b> Características energéticas, teóricas y reales, de la lámpara	65
<b>Tabla 4.2-1.</b> Coeficientes de extinción molar de patulina y coeficientes de absorción para concentraciones de patulina de 50 µg/L y 100mg/L, a diferentes longitudes de onda.	71
<b>Tabla 4.2-2.</b> Valores de la asíntota y de la profundidad para conseguir una radiación absorbida del 50% y 90% de la radiación incidente en la superficie del reactor, para coeficientes de absorción en el intervalo de 0,1 a 100c m <sup>-1</sup>	76
<b>Tabla 4.3-1.</b> Coeficientes de extinción molar de patulina a diferentes longitudes de onda.	83
<b>Tabla 4.3-2.</b> Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la degradación fotoquímica de soluciones acuosas de patulina a pH = 4 and pH = 7, a diferentes temperaturas.	88
<b>Tabla 4.3-3.</b> Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la degradación fotoquímica de patulina en zumo de manzana, a diferentes temperaturas.	91
<b>Tabla 4.3-4.</b> Parámetros del ajuste a la Ec. 4.3-6 para fotodegradación de patulina en solución acuosa.	92
<b>Tabla 4.3-5.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius para los diferentes pH ensayados	93
<b>Tabla 4.3-6.</b> Valores de la variación de entropía y entalpía para los estados de transición para los diferentes pH ensayados.	96
<b>Tabla 4.4-1.</b> Energía emitida por la lámpara, coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) y coeficientes de absorción de soluciones acuosas de ocratoxina de 100 µg/L, a diferentes longitudes de onda.	103
<b>Tabla 4.4-2.</b> Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la fotodegradación de ocratoxina A en solución acuosa a pH = 4 and pH = 7, a diferentes temperaturas.	108
<b>Tabla 4.4-3.</b> Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la fotodegradación de ocratoxina A en mosto de uva, a diferentes temperaturas.	110
<b>Tabla 4.4-4.</b> Parámetros del ajuste a la Ec. 4.4-6 para fotodegradación de patulina en solución acuosa.	112
<b>Tabla 4.4-5.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius para los diferentes pH ensayados.	113
<b>Tabla 4.4-6.</b> Valores de la variación de entropía y entalpía para los estados de transición a los diferentes pH ensayados, para fotodegradación de ocratoxina A.	116
<b>Tabla 4.5-1.</b> Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) de tiabendazol y coeficientes de absorción de soluciones acuosas de tiabendazol para 10 mg/L, a diferentes longitudes de onda.	124
<b>Tabla 4.5-2.</b> Parámetros de los ajustes obtenidos para la relación entre $P_{abs}$ y la concentración de tiabendazol.	126
<b>Table 4.5-3.</b> Parámetros de los ajustes a cinética de orden cero para soluciones de tiabendazol a diferentes pH y temperaturas.	132



<b>Tabla 4.5-4.</b> Parámetros de los ajustes a cinética de pseudo-primer orden para soluciones de tiabendazol a diferentes pH y temperaturas.	133
<b>Tabla 4.5-5.</b> Parámetros de los ajustes a cinética de primer orden para soluciones de tiabendazol a diferentes pH y temperaturas.	134
<b>Tabla 4.5-6.</b> Constantes cinéticas para fotodegradación de tiabendazol ajustado a diferentes tipos de cinéticas para los diferentes pH ensayados.	136
<b>Tabla 4.5-7.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius y entropías y entalpías para los estados de transición para los diferentes pH ensayados.	137
<b>Tabla 4.5-8.</b> Temperatura isocinética y constante de reacción a la temperatura isocinética, para los tres modelos cinéticos, para degradación fotoquímica de tiabendazol.	138
<b>Tabla 4.5-9.</b> Temperatura isocinética y energía libre de Gibbs a la temperatura isocinética, para los tres modelos cinéticos, para degradación fotoquímica de tiabendazol.	140
<b>Tabla 4.5-10.</b> Valores de la energía libre de Gibbs para las diferentes cinéticas, a los diferentes pH ensayados.	142
<b>Tabla 4.6-1.</b> Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar y coeficiente de absorción (benomilo 11 $\mu\text{g/L}$ ), para longitudes de onda seleccionadas.	150
<b>Tabla 4.6-2.</b> Parámetros de los ajustes a una ecuación cinética de primer orden para la fotodegradación de benomilo a pH = 4.	153

# 0. RESUMEN



## RESUMEN

La elaboración de zumos y derivados de frutas se suele realizar bajo las condiciones higiénicas que aseguren la inocuidad del producto final. En algunos casos se ha observado la presencia de micotoxinas en los zumos, que se atribuye a que algunos frutos utilizados como materia prima están contaminados con la presencia de hongos productores de estas micotoxinas y que no se eliminan en el proceso industrial.

Muchas frutas, previo a su almacenamiento bajo frigoconservación, son tratadas con plaguicidas para evitar problemas de crecimiento de hongos. Debido a ello, y a los tratamientos previos en los campos de cultivo, las frutas están impregnadas de estos plaguicidas, y como su persistencia suele ser elevada, si estas frutas se utilizan en la elaboración de zumos y derivados, muy probablemente los plaguicidas pasarán al producto final.

En la presente tesis se muestra un estudio de la eliminación de diversos compuestos tóxicos presentes en zumos y aguas aplicando un tratamiento con radiación UV. Se ha estudiado y modelizado la degradación fotoquímica de patulina, ocratoxina A, tiabendazol y benomilo, utilizando un fotorreactor plano, cuya fuente de radiación es una lámpara de mercurio de media presión, que emite en el intervalo de longitudes de onda de 255 a 700 nm. Para ello, se han irradiado soluciones acuosas que contienen estos compuestos tóxicos a diferentes pH y temperaturas de tratamiento. Asimismo, se ha estudiado la fotodegradación de patulina en zumos clarificados de manzana y de ocratoxina A en mostos clarificados de uva.

Para el cálculo de la potencia radiante espectral incidente en la superficie del reactor y de la potencia espectral absorbida por la solución reaccionante, se ha desarrollado una ecuación generalizada. La potencia absorbida es función de las características geométricas del fotorreactor y del coeficiente de absorción del medio, y para calcular el valor de dicha potencia se ha utilizado esta ecuación y una simplificada, habiendo obtenido que los valores de la potencia son coincidentes para valores bajos del coeficiente de absorción; sin embargo, difieren mucho para valores elevados de este coeficiente. Con la ecuación propuesta se obtiene que la potencia absorbida aumenta con el aumento del coeficiente de absorción y tiende asintóticamente al valor de la potencia incidente para valores elevados de dicho coeficiente de absorción. También se

ha observado que para valores bajos del coeficiente de absorción la potencia absorbida es una función lineal de la concentración, lo que da lugar a cinéticas de primer orden. Sin embargo, cuando la concentración del medio es lo suficientemente elevada, toda la radiación que llega al fotorreactor es absorbida y coincidiendo ambos valores, lo que da lugar a cinéticas de orden cero.

Por otra parte, para los tratamientos de degradación fotoquímica de patulina, ocratoxina A y tiabendazol, se ha estudiado la compensación cinética-termodinámica, con el fin de obtener el tipo de control que se ejerce sobre el proceso global de fotodegradación. En el caso de la fotodegradación de patulina y tiabendazol en solución acuosa se ha obtenido que el control es entrópico, mientras que para la ocratoxina A el control es entálpico. Que el mecanismo de control sea entrópico indica que el parámetro cinético que influye más en el valor de la constante cinética global de fotodegradación de patulina y tiabendazol es el factor de frecuencia  $k_0$  y no la energía de activación; es decir, aplicando energía mecánica de agitación se puede mejorar la degradación fotoquímica de estos dos compuestos. Mientras que para la ocratoxina A es al contrario, un aumento de la agitación no influirá en la degradación de esta toxina, pero la fotodegradación sí se verá favorecida por un aumento en la temperatura de tratamiento.

## RESUM

L'elaboració de suc i derivats de fruita es du a terme sota condicions higièniques que assegurin la innocuïtat del producte final. En alguns casos s'ha observat la presència de micotoxines en els suc, que s'atribueix a que alguna fruita utilitzada com a matèria primera està contaminada amb la presència de fongs productors de micotoxines i que no han estat eliminades en el processat industrial.

Moltes fruites, previ al seu emmagatzematge sota conservació refrigerada, són tractades amb pesticides per tal d'evitar problemes de creixement de fongs. Degut això, i al tractaments previs en els camps de conreu, les fruites estan impregnades d'aquest pesticides. I com la seua persistència sol ser elevada, si aquests fruits s'utilitzen en l'elaboració de suc i derivats, molt probablement els pesticides passaran al producte final.

A la present tesi es mostra un estudi de l'eliminació de diversos compostos tòxics presents en suc i aigües aplicant un tractament amb radiació UV. S'ha estudiat i modelitzat la degradació fotoquímica de patulina, ocratoxina A, tiabendazol i benomil, utilitzant un foto-reactor pla, en que la font de radiació és una làmpada de mercuri de mitja pressió, que emet en l'interval de longitud d'ona de 255 a 700 nm. S'han irradiat solucions aquoses d'aquests compostos tòxics a diferents pH i temperatures de tractament. Tanmateix, s'ha estudiat la fotodegradació de patulina en suc clarificats de poma i de ocratoxina A en mostos clarificats comercials de raïm.

Per al càlcul de la potència radiant espectral a la superfície del reactor i de la potència espectral absorbida per la solució reaccionat, s'ha desenvolupat una equació generalitzada. La potència absorbida es funció de les característiques geomètriques del foto-reactor i del coeficient d'absorció del medi, i per a calcular la dita potència s'ha utilitzat aquesta equació i una simplificada, havent obtingut que els valors de la potència són coincidents per a valors elevats del coeficient d'absorció, però difereixen bastant per a valors elevats d'aquest coeficient. Amb l'equació proposada s'obté que la potència absorbida augmenta amb l'augment del coeficient d'absorció i tendeix asimptòticament al valor de la potència incident per a valor elevats d'aquest coeficient. També s'ha observat que per valors baixos del coeficient d'absorció la potència absorbida és una funció lineal de la concentració, lo que fa que les cinètiques de degradació fotoquímica siguin de primer ordre. Però, quan la concentració del medi és el suficientment elevada,

tota la radiació que arriba al foto-reactor és absorbida i coincideixen ambdós valors, i això fa que les cinètiques siguin d'ordre zero.

D'altra banda, per als tractaments de degradació fotoquímica de patulina, ocratoxina A i tiabendazol, s'ha estudiat la compensació cinètica-termodinàmica, a fi d'obtenir el tipus de control que s'exerceix sobre el procés global de fotodegradació. En el cas de fotodegradació de patulina i tiabendazol en solució aquosa s'ha obtingut que el control és entròpic, mentre que per a la ocratoxina A el control és entàlpic. Que el mecanisme de control sigui entròpic indica que el paràmetre cinètic que influeix més en el valor de la constant cinètica global de fotodegradació de patulina i tiabendazol és el factor de freqüència  $k_0$  i no l'energia d'activació; és a dir, aplicant energia mecànica d'agitació es pot millorar la degradació fotoquímica d'aquests dos compostos. Mentre que per a l'ocratoxina A és al contrari, un augment de l'agitació no influirà en la degradació d'aquesta toxina, però la fotodegradació sí es veurà afavorida per un augment de la temperatura de tractament.

## ABSTRACT

The production of juices and fruit products is usually done under hygienic conditions that ensure the safety of the final product. In some cases there has been the presence of mycotoxins in juices. It is attributed to some fruit used as raw material producers are contaminated by these mold producing mycotoxins and are not removed in the manufacturing process.

Many fruits, before storage under cold, are treated with pesticides to prevent mold growth problems. Because of this, and previous treatments in the fields, fruits are infused with these pesticides. Presence of pesticides is generally high, and if these fruits are used in the production of juices and derivatives, probably pesticides pass to the final product.

In this thesis, a study of removing various toxic compounds present in fruit juices and water by applying a treatment with UV radiation is shown. It has been studied and modeled photochemical degradation of patulin, ochratoxin A, thiabendazole and benomyl, using a flat photoreactor, the radiation source is a mid-pressure mercury lamp, emitting on the 250-700 nm wavelength range. To do this, they have been irradiated aqueous solutions containing these toxic compounds at different pH and temperature treatment. It has also studied the photodegradation of patulin in clarified apple juice and ochratoxin A in clarified grape musts.

To calculate the spectral radiant power incident on the reactor surface and the spectral power absorbed by the reaction solution, there has developed a generalized equation. The power absorbed is depending on the geometric characteristics of the photoreactor and the absorption coefficient of the medium, and to calculate the value of that power has been used and a simplified equation, having obtained the power values are coincident for low values of the absorption coefficient; however, they differ greatly for high values of this coefficient. With the proposed equation is obtained that the power consumption increases with increasing absorption coefficient and tends asymptotically to the value of incident power at high values of absorption coefficient. It has also been observed that for low values of the absorption coefficient the absorbed power is a linear function of concentration, leading to first-order kinetics. However,



when the concentration of the medium is sufficiently high, all the radiation reaching the photoreactor is absorbed and both values coincide, giving rise to zero order kinetics.

Moreover, for the treatment of photochemical degradation of patulin, ochratoxin A and thiabendazole, the kinetic-thermodynamic compensation it has studied, in order to get the kind of control exercised over the global process of photodegradation. For photodegradation of patulin and thiabendazole in aqueous solution it is obtained which is entropic control while for ochratoxin A is enthalpic control. That the control mechanism is entropic indicates that the kinetic parameter that most influences the value of the overall constant kinetics of photodegradation of patulin and thiabendazole is the frequency factor  $k_0$  and no activation energy; ie applying mechanical agitation energy can improve the photochemical degradation of these two compounds. While for ochratoxin A is the contrary, increasing agitation does not affect the degradation of the toxin, but photodegradation will be favored by an increase in the treatment temperature.

# 1. INTRODUCCIÓN



## 1.1.- Problemas en la elaboración de zumos

La elaboración de zumos de frutas suele realizarse bajo las condiciones higiénicas que aseguren la inocuidad del producto final. Dependiendo del tipo de zumo que se desea obtener, la presencia de enzimas puede resultar perjudicial para la calidad del zumo obtenido. Así, la polifenoloxidasas (PPO) es un enzima que puede provocar los denominados pardeamientos enzimáticos, ya que actúa sobre los sustratos fenólicos para producir las melaninas, que son compuestos pardos, que provienen de la polimerización de las *o*-quinonas. Éstas aparecen cuando la PPO actúa sobre los polifenoles presentes en las frutas, y finalmente a través de un proceso de polimerización aparecen las melaninas. Por otra parte, en los zumos pueden aparecer otros compuestos pardos, las melanoidinas, provenientes de los pardeamientos no enzimáticos, a través de la reacción de Maillard. Tanto las melaninas como las melanoidinas son compuestos que inciden negativamente en la calidad final del zumo.

Además de la PPO, otros enzimas de gran incidencia en la elaboración de zumos son los enzimas pécticos y las amilasas. Si se desean elaborar zumos clarificados y despectinizados, es esencial que se dejen actuar estos enzimas con el fin de eliminar las pectinas y almidón presente en el zumo extraído de las frutas. Sin embargo, si se desean obtener cremogenados y zumos con pulpa en suspensión es esencial que se inactiven estos enzimas, con el fin de que el producto final posea pectinas que evitan que exista una sedimentación de la nube formada en el zumo. Si no se han inactivado completamente los enzimas pécticos, en la etapa de almacenamiento puede darse el caso que estos enzimas continúen actuando sobre las fracciones pécticas y finalmente aparecerá una sedimentación de la pulpa, debido a la desestabilización del sistema como consecuencia del proceso de despectinización que pueden sufrir. De este modo, es imprescindible que en este tipo de productos se asegure que no existe actividad enzimática, ya que puede afectar de forma negativa a la calidad del zumo.

Además, en algunos casos se ha observado la presencia de micotoxinas en los zumos, que se atribuye a que algunos frutos utilizados como materia prima están contaminados con la presencia de hongos productores de estas micotoxinas y que no se eliminan en el proceso industrial.

En derivados de frutas pueden encontrarse plaguicidas debido a los tratamientos que han recibido en campo o en la propia industria. Muchas frutas, previo a su

almacenamiento bajo frigoconservación, son tratadas con compuestos antifúngicos para evitar problemas de crecimiento de hongos. Debido a ello y a los tratamientos previos en los campos de cultivo, las frutas están impregnadas de estos plaguicidas, y como su persistencia suele ser elevada, si estas frutas se utilizan en la elaboración de zumos y derivados, muy probablemente dichos plaguicidas pasarán al producto final. De hecho, en 655 muestras de zumos de naranjas, de diferentes puntos de Estados Unidos, se encontraron 21 plaguicidas diferentes, siendo los más frecuentes benomilo y carbendazima, seguidos de imazalil y tiabendazol (EFSA, 2011). Se ha encontrado que la presencia de plaguicidas en zumos de frutas con pulpa es significativamente más elevada que en los zumos frescos naturales, lo que se atribuye a la preconcentración de la pulpa durante el proceso de producción, que posteriormente es añadida a los zumos (Bedendo *et al.*, 2012).

Se ha comprobado que muchos de estos plaguicidas presentan toxicidad, persistencia en el medioambiente y bioacumulación, por lo que representan una importante fuente de contaminación de las aguas (Montforts, 2006; US-EPA, 2015). Muchos efluentes de las industrias agro-alimentarias dedicadas al procesado de frutas y hortalizas para la producción de zumos, sopas y otros productos derivados de ellas, presentan cantidades apreciables de pesticidas, que provienen de las etapas de lavado de las materias primas previo a su procesado. De entre todos estos pesticidas, el tiabendazol es el compuesto que con más frecuencia se ha detectado en dichas aguas, como consecuencia de su resistencia a los tratamiento biológicos aplicados (Sánchez-Pérez *et al.*, 2014).

Para la eliminación de pesticidas en solución acuosa se han utilizado diversos adsorbentes naturales, entre los que los minerales arcillosos naturales son una buena opción, debido a su área superficial y su capacidad de intercambio catiónico (Crini, 2006; Roca-Jalil *et al.*, 2014). También se han utilizado sistemas que combinan un biorreactor de membrana seguido de un proceso de oxidación avanzada (Fenton/solar Photo-Fenton) (Sánchez-Pérez *et al.*, 2014).

## **1.2.- Fundamentos de los tratamientos fotoquímicos**

Los tratamientos que reciben los alimentos se enfocan principalmente a obtener unos productos con una mayor vida comercial, pero que ante todo sean seguros para el consumidor. Las tecnologías térmicas son las que más ampliamente se han aplicado para conseguir estos fines; sin embargo, este tipo de tratamientos incide negativamente sobre ciertos componentes del propio alimento, disminuyendo su contenido en vitaminas y otros nutrientes, así como en características sensoriales, que los hacen menos atractivos, en cuanto a su color y propiedades texturales. Las tecnologías no térmicas son una alternativa a los tratamientos térmicos, con el fin de obtener un producto final de mejor calidad sensorial, pero sin dejar de lado la seguridad, en cuanto a su contenido microbiano. Estas tecnologías alternativas a la térmica pueden producir alimentos sin la presencia de microorganismos peligrosos y sin enzimas, manteniendo al mismo tiempo las características sensoriales y nutritivas (Butz y Tauscher, 2002).

El tratamiento con luz ultravioleta (UV) se puede utilizar para inactivar los microorganismos presentes en los alimentos, incluyendo virus. Sin embargo, tiene cierta limitación por su poca penetración en el alimento, que se puede solventar con una buena agitación del medio de reacción. La radiación UV se puede utilizar para el tratamiento de superficies y en alimentos líquidos que presenten poco camino óptico de absorción.

Las fuentes de radiación UV son diversas. Así, la radiación solar es la primera fuente que puede considerarse. La densidad de flujo que llega al nivel del mar es de 35 a 50 W/m<sup>2</sup> (Kramer y Ames, 1987, Bintsis *et al.*, 2000). Como fuentes artificiales se utilizan lámparas, que suelen ser de vapor de mercurio a diferente presión, lo que permite obtener espectros de emisión diferentes, y que clasifica las lámparas según que en este espectro de emisión sean predominantes las longitudes de onda corta, media o larga.

### **1.2.1.- Efecto de la radiación UV sobre microorganismos**

La luz UV se ha utilizado con fines de desinfección de superficies (Sizer y Balasubramaniam, 1999), aunque se puede aplicar para la inactivación de la mayoría de microorganismos, por sus efectos letales (Bintsis *et al.*, 2000; Gayán *et al.*, 2014a, b). La luz UV afecta el ADN de los microorganismos expuestos a este tipo de radiación. El ADN posee una banda de absorción alrededor de 254 nm, por ello, la luz UV-C incidirá de forma positiva en este aspecto, de tal forma que este tipo de radiación posee efectos

germicidas frente a muchos microorganismos, tales como bacterias, virus, mohos y levaduras (Morgan, 1989, Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004; Gayán *et al.*, 2013). Debido a su efecto germicida, la luz UV-C se ha utilizado en la desinfección de superficies y del aire, aunque también se puede utilizar en la desinfección de líquidos. Así, se utiliza para tratar el aire con el fin de reducir su carga bacteriana (Bailey *et al.*, 1996; Bintsis *et al.*, 2000). Se ha utilizado para desinfectar aguas residuales, agua de grifo y en aguas de piscinas, combinando la luz UV con ozono, lo que permite obtener aguas con contenidos orgánicos extremadamente bajos. Este tipo de tratamiento permite obtener aguas microbiológicamente seguras, sin afectar su color, olor, sabor o pH (Snowball y Hornsey, 1988; Bintsis *et al.*, 2000). Algunos procesos industriales utilizan esta tecnología para tratar sus aguas de procesado. Así es el caso de las industrias cerveceras y de bebidas (Egberts, 1990; Oliver *et al.*, 1990; Greig y Warne, 1992). Este tipo de radiación también se ha utilizado en la industria láctea; así, se han tratado las salmueras usadas en la salinización de queso Mozzarella (Anónimo, 1994). También se puede utilizar para rebajar la carga microbiana de la leche, obteniendo un producto pasteurizado, en el que la carga microbiana ha sido rebajada sensiblemente (Ibarz *et al.*, 1986; Lodi *et al.*, 1996; Burton, 1951; Crook *et al.*, 2015), pudiéndose llegar a una reducción del 99% de las bacterias presentes inicialmente, y mostrando un efecto positivo en el incremento de la concentración de vitamina D. La luz UV también ha sido considerada para tratar zumos de frutas, con el fin de eliminar los microorganismos patógenos presentes (Anónimo, 1999). Este tipo de tratamiento también se ha utilizado para reducir la carga microbiana de *E. coli* 0157:H7 en sidra de manzana (Harrington y Hills, 1968; Wright *et al.*, 2000; Basaran *et al.*, 2004). En zumos de manzana inoculado con *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, y *Listeria innocua* la luz UV ha resultado efectiva al rebajar su contenido en varios ciclos logarítmicos (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2005; Gayán *et al.*, 2013; Orłowska *et al.*, 2015). La irradiación UV puede llegar a reducir la carga microbiana de carne fresca en dos o tres ciclos logarítmicos, sin cambiar el color y la apariencia general de la carne fresca. Sin embargo, estos tratamientos son sobre la superficie, ya que la luz UV no puede penetrar en materiales opacos (Stermer *et al.*, 1987). Se ha encontrado que con este tipo de tratamiento la vida comercial de la carne fresca puede aumentar de 12 a 28 días (Dejenane *et al.*, 2001).

La luz UV-C también se puede aplicar en frutas frescas, hortalizas y raíces comestibles, antes de su almacenamiento. La finalidad de este tratamiento es doble:

puede reducir la carga microbiana superficial y además inducir la resistencia a los microorganismos. El efecto beneficioso de este tipo de tratamiento sobre los alimentos frescos es denominado “hormesis”, siendo la luz UV el agente que provoca este efecto hormético (Stevens *et al.*, 1997, 1999). Este efecto es debido a que la luz UV puede estimular la producción de fenilalanina amonoliase (PAL), que induce la formación de compuestos fenólicos (fitoalexinas) que pueden mejorar la resistencia de las frutas y hortalizas a los microorganismos (Ben-Yehoshua *et al.* 1992; Stevens *et al.* 1999; D’Halewin *et al.*, 2000).

### **1.2.2.- Efecto de la radiación UV y solar sobre enzimas**

No existen muchos trabajos sobre el efecto de la radiación UV sobre enzimas. En el tratamiento ultravioleta a 254 nm de zumo de naranja (Tran y Farid, 2004), además de los efectos sobre la desinfección, vida comercial, contenido en vitamina C, también se estudió el efecto sobre la actividad de la pectinmetilesterasa. El zumo fue tratado con radiación UV de 73,8 mJ/cm<sup>2</sup>, obteniendo una inactivación del 5%. Sin embargo, cabe resaltar que la lámpara utilizada en el tratamiento presenta una emisión únicamente a 254 nm; por ello, sería conveniente realizar un tratamiento con lámparas que emitan en un espectro más amplio de emisión (Falguera *et al.*, 2011c). Además, en este estudio se trabajó con zumos que contenían pulpa en suspensión, que seguramente ejercen un efecto protector frente a la luz UV debidos a su absorción.

En relación a enzimas gástricos, Ibarz *et al.* (2009) han irradiado soluciones de los enzimas carboxipeptidasa A y tripsina, utilizando una lámpara de mercurio de media presión que emite en el intervalo de 250 a 650 nm. Se ha observado que existe una inactivación de estos dos enzimas.

La inactivación de los enzimas quimotripsina, lisozima, ribonucleasa y tripsina mediante luz ultravioleta a 253,7 nm (Luse y McLaren, 1963) se puede atribuir a la probabilidad de que la luz sea absorbida por un determinado residuo de aminoácido, en los que la ruptura del enlace no es importante. McLaren *et al.* (1953) estudiaron la inactivación de ribonucleasa y carboxipeptidasa utilizando luz UV (252,7 nm), con rendimientos cuánticos de 0,03 y 0,001-0,005, respectivamente.

Por otra parte, las moléculas de tirosinasa, ATPasa y ácido fosfatasa pueden ser desnaturalizadas cuando son irradiadas con luz ultravioleta, con la consiguiente disminución en su actividad enzimática (Seiji y Iwashita, 1965). La pérdida de actividad



enzimática depende de la intensidad de radiación, pudiéndose llegar a inactivaciones del 75% en el caso de la tirosinasa y de alrededor del 50% para los otros dos enzimas.

Además, en un estudio reciente se ha comprobado que la irradiación con una lámpara UV es efectiva en la inactivación de polifenol oxidasa, peroxidasa y enzimas pectinolíticos en zumos no clarificados de manzana de distintas variedades (Falguera *et al.*, 2011a).

### **1.2.3.- Efecto de la radiación UV y solar sobre las toxinas**

La presencia de micotoxinas en alimentos representa un problema grave para la seguridad alimentaria. Además, en los procesos convencionales de tratamiento térmico, las micotoxinas no se ven afectadas, por lo que sería necesario buscar un tratamiento alternativo que eliminara o rebajara su contenido en los alimentos. Así, las aflatoxinas pueden ser destruidas en cierta extensión aplicando radiación UV y luz solar intensa. Existen trabajos que demuestran que es posible destruir esta toxina en cacahuete (Leeson *et al.*, 1995). En el caso de citrinina y ocratoxina A, se ha comprobado que existe una descomposición al ser tratada con luz UV (Neely y West, 1972).

Se ha utilizado radiación UV para degradar la aflatoxina M<sub>1</sub> en leche cruda y calentada (Yousef y Marth, 1985), observando que en leche irradiada a 25°C la cantidad de aflatoxina M<sub>1</sub> se reduce un 32% más que la leche irradiada a 5°C. Estos datos sugieren que es posible degradar aflatoxina en leche en un intervalo de temperaturas menores que las de pasteurización. Asimismo, se ha estudiado la degradación de esta toxina en solución acuosa (Yousef y Marth, 1987).

Entre los materiales comestibles, el aceite de cacahuete es el producto más común que contiene aflatoxinas (Shantha y SreenivasaMurthy, 1977). Estos autores muestran el efecto de la luz de diferente longitud de onda, utilizando lámparas que emiten luz solar y ultravioleta. Los resultados muestran que con tiempos largos de irradiación pueden obtenerse porcentajes de eliminación elevados; así, para luz UV se llega a un 87% de destrucción, mientras que con luz solar se llega a un 82%. Los espectros de absorción de las muestras conteniendo aflatoxina, expuestas a luz solar y ultravioleta muestran un desplazamiento del máximo de absorción, que va acompañado por una considerable reducción de la toxicidad (Shantha y SreenivasaMurthy, 1977). Asimismo, se ha observado que la aflatoxina B<sub>1</sub> presente en arroz es degradada bajo la acción de la luz emitida por una lámpara de mercurio-wolframio (Nkama y Muller, 1988). En este caso

se ha observado la influencia del contenido en humedad de las muestras y de la intensidad de la luz utilizada.

Samarajeewa *et al.* (1990) han realizado una recopilación de los métodos físicos y químicos utilizados en la detoxificación de aflatoxina en alimentos y piensos. Entre estos métodos muestran el efecto de la luz ultravioleta y visible. La radiación solar, que presenta energía radiante en el espectro ultravioleta y visible, ha mostrado una gran eficacia en la degradación de aflatoxinas en alimentos (Samarajeewa *et al.* 1974). Aceites comestibles irradiados con luz solar no han mostrado toxicidad en experimentos con ratas y patos (Gamage *et al.*, 1985; Samarajeewa *et al.*, 1987; Shantha y SreenivasaMurthy, 1977).

A diferencia de los alimentos sólidos, la radiación solar puede penetrar más fácilmente en películas delgadas de líquidos, proporcionando de esta forma un medio de descontaminación. Estudios llevados a cabo a nivel de planta piloto han mostrado la eficacia de la radiación solar en la degradación de aflatoxinas en aceite de coco y en aceite de cacahuete (Samarajeewa *et al.*, 1985; Shantha y SreenivasaMurthy, 1981). Con todo lo expuesto parece que la radiación solar puede ser efectiva en la degradación de aflatoxinas. En la bibliografía también se encuentran estudios sobre la degradación fotoquímica de patulina a longitudes de onda muy definidas en zumo de manzana y soluciones modelo (Zhu *et al.*, 2013; 2014).

Los tratamientos con luz UV se pueden considerar como una tecnología emergente de procesado no térmico (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004). El procesado con luz UV puede proporcionar alimentos con características de más frescos. Además, la radiación UV-C es letal para la mayoría de microorganismos y se puede aplicar para obtener alimentos más seguros. Actualmente, esta tecnología no es muy utilizada en el tratamiento de alimentos, pero potencialmente se podría aplicar en alimentos líquidos y sólidos, aunque en cada proceso se debería tener en cuenta el tipo de lámpara a utilizar, con el fin de obtener el máximo provecho de sus efectos sobre los microorganismos patógenos y de deterioro. Asimismo, es muy importante llevar a cabo estudios sobre el efecto que este tipo de radiación ejerce sobre los alimentos, desde el punto de vista nutritivo y de evaluación sensorial.

#### **1.2.4.- Efecto de la radiación UV sobre zumos**

La irradiación de zumos de frutas presenta la problemática de que el camino óptico de la radiación es pequeño, debido a que se absorbe completamente a poca distancia de

la superficie. Ello es debido a que la mayoría de los zumos de frutas son “opacos” a la radiación UV debido a los sólidos en suspensión en zumos con pulpa y a la coloración de los clarificados. Sin embargo, es posible asegurar una penetración efectiva de la radiación en los zumos, siendo necesario que exista una buena agitación del mismo en el recipiente que lo contiene, y en el caso de utilizar un flujo continuo asegurar que el fluido circula con una gran turbulencia (Keyser *et al.* 2008). En este sentido, se ha comprobado que la radiación UV es efectiva en el tratamiento de zumos de manzana no clarificados de diferentes variedades, lo que indica que el grado de penetración de la radiación es suficiente para inactivar los enzimas presentes (Falguera *et al.*, 2010).

Los zumos tratados térmicamente, con fines de obtener un producto pasteurizado o esterilizado, tienden a cambiar su color y pierden parte de sus aromas y vitaminas durante el proceso de calentamiento (Choi y Nielsen, 2005), mientras que los zumos tratados con radiación UV tienden a mantener su aroma y color (Tran y Farid, 2004).

Son pocos los estudios llevados a cabo sobre la irradiación de zumos de frutas, focalizándose en su mayoría en la eliminación de microorganismos (Nakayama y Shinya, 1981; Gibbs, 2000; Farid *et al.*, 2000; Tran y Farid, 2004; Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2005; Keyser *et al.*, 2008), no centrándose en la inactivación de enzimas ni en la fotodestrucción de toxinas.

#### **1.2.5.- Tratamiento fotoquímico de contaminantes en agua**

El agua es el compuesto más importante en la vida humana; es por ello, que debe cuidarse su pureza y calidad. Desde el punto de vista alimentario, el agua se utiliza en diversos procesos, por lo que es indispensable que se encuentre libre de contaminantes. Como es en el agua donde aparece, como vía final, cualquier compuesto empleado en los tratamientos de las cosechas agrícolas y también en las aguas residuales procedentes de diversas etapas de los procesos de producción de alimentos, parece adecuado estudiar el efecto que la radiación produce en los contaminantes presentes en el agua.

Existe una gran cantidad de productos orgánicos que son refractarios al tratamiento biológico de aguas residuales y que, posteriormente, no pueden ser eliminados en la etapa de desinfección, realizada generalmente mediante cloración. Se considera que un compuesto es refractario cuando resiste los procesos convencionales de tratamiento de agua, y aparece en las aguas una vez tratadas. Estos compuestos son la fuente de la mayoría de las dificultades que aparecen en las plantas de tratamiento de aguas municipales e industriales.

Tal como se ha indicado, en las plantas de tratamiento de aguas se utiliza, generalmente, la cloración como método de desinfección, a pesar de que las aguas una vez tratadas resultan parcialmente tóxicas para el ecosistema acuático, debido al cloro residual y a los compuestos orgánicos clorados que aparecen durante la cloración. Otro serio problema de la cloración es que no se reduce de modo efectivo la concentración de virus en las aguas tratadas. Debido a todo esto, se han estudiado otros métodos de desinfección para suplir la cloración.

Uno de estos métodos es la irradiación con luz ultravioleta, de conocido efecto bactericida (Oliver y Cosgrove, 1975), habiéndose comprobado que al irradiar los efluentes que provienen de la etapa secundaria de tratamiento de aguas, la luz ultravioleta logra eliminar más del 99% de coliformes, estreptococos fecales y bacterias heterotróficas.

En referencia a los compuestos refractarios, han sido bastantes en los que se ha estudiado el efecto que produce la radiación ultravioleta sobre ellos, habiéndose observado que su concentración disminuye una vez irradiados, dando otros productos que ya no son refractarios, o menos tóxicos y, en algunos casos, incluso se llega a su desaparición total.

De entre todos ellos, quizás los más estudiados han sido los plaguicidas (Bulla y Edgerley, 1968; Boval y Smith, 1973; Crosby y Wong, 1973; Knoevenagel y Himmelreich, 1976). Así, irradiando soluciones de dieldrín con luz ultravioleta se obtiene un producto pentaclorado de menor toxicidad. El Aldrin también es declorado bajo estas condiciones. Para que se produzcan estas reacciones de decloración es necesario que las soluciones que contienen estos plaguicidas sean irradiadas con luz de longitud de onda más baja que la luz solar.

También se ha utilizado la luz ultravioleta en la fotodescomposición de detergentes (Matsuura y Smith, 1971; Costa *et al.*, 1980). En el caso de dodecibencenosulfonato sódico se llegan a conversiones muy elevadas, e, incluso, se logra romper el anillo bencénico. Es interesante destacar que por vía fotoquímica se puede lograr la descomposición de detergentes no biodegradables.

Otros compuestos en los que se ha utilizado la vía fotoquímica para su degradación son fenol, piridina, anilina, cresol, y otros compuestos orgánicos en aguas residuales municipales (Galán y Smith, 1976; Milyayeva *et al.*, 1977; Ibarz, 1982; Jaraíz *et al.*, 1981; Sargent y Sanks, 1974, 1976; Schorr *et al.*, 1971).

En algunos casos la radiación no es suficiente para provocar la fotodescomposición de algunos productos y es necesario añadir otras sustancias que ayuden a eliminarlos. El peróxido de hidrógeno es una de las sustancias más utilizadas para este fin (Koubek, 1975). También se han utilizado colorantes orgánicos, que absorben luz visible, produciendo un efecto fotocatalizador, lo que provoca la descomposición del contaminante. Así, el azul de metileno y rosa bengal produce la fotodescomposición de cresol (Sargent y Sanks, 1976), para el fenol se ha visto que pueden provocar su fotooxidación compuestos como eosina, fluoresceína, eritrosina y rosa bengal (Grossweiner y Zwicker, 1961; Sargent y Sanks, 1976). También se ha utilizado eosina y riboflavina en la descomposición de soluciones acuosas de carbendazima mediante radiación solar (Ibarz y Pérez-Teijón, 1991). En el caso del ácido 4-cloro-2-metil fenoxiacético (MCPA) apenas se degrada con radiación UV; sin embargo, si en la disolución que contiene este plaguicida se añade riboflavina se consigue una degradación casi completa después de 250 minutos de irradiación con una lámpara de 400 W (Clapés *et al.*, 1986).

Por todo lo expuesto, se deduce que los procesos fotoquímicos pueden ser una tecnología adecuada para la degradación de plaguicidas en aguas de riego, aguas de procesado en industrias y aguas residuales municipales e industriales.

#### **1.2.6.- Mejora de las películas biopoliméricas tratadas con radiación UV**

Recientemente se están aplicando películas biopoliméricas en la industria alimentaria como alternativa a las películas plásticas no biodegradables. Los tratamientos con radiación UV pueden mejorar las propiedades de las películas biopoliméricas debido a que los dobles enlaces y los anillos aromáticos pueden absorber este tipo de radiación, dando lugar a la formación de radicales libre en los aminoácidos, y ello conduce a la formación posterior de enlaces covalentes intermoleculares (Wihodo y Morau, 2013; Rhim *et al.*, 1999; Gennadios *et al.*, 1998).

Las películas formadas a partir de proteínas pueden exhibir diferente respuesta a la irradiación UV (253,7 nm) debido a la variación de las estructuras moleculares y composiciones de los aminoácidos que las componen. Gennadios *et al.* (1998) trataron películas de proteína de soja con radiación UV a diferentes intensidades de luz (13 a 103,7 J/m<sup>2</sup>), observando un aumento lineal de la fuerza de tensión con el aumento de la dosis de radiación, mientras que la elongación a la ruptura disminuyó linealmente con la

dos. Además, la permeabilidad de las películas al vapor de agua no se vio afectada. Asimismo, las bandas SDS-PAGE de las muestras irradiadas mostraron bandas de agregados, que aumentaron con la dosis de tratamiento. La proteína de soja contiene cantidades importantes de tirosina y fenilalanina, que son compuestos aromáticos que pueden absorber radiación UV y recombinarse para formar enlaces cruzados covalentes. Las películas UV irradiadas desarrollaron una coloración amarillenta, con un aumento lineal del parámetro colorimétrico  $b$  al aumentar la dosis de radiación; además, la luminosidad  $L$  y el parámetro  $a$  presentaron una ligera variación, tendiendo a valores más oscuros y verdosos. Por otra parte, Rhim *et al.* (1999) trataron con radiación UV, con una dosis de  $51,8 \text{ J/m}^2$ , películas formadas a partir de gluten de trigo, zeína de maíz, albúmina de huevo y caseinato sódico. Las películas de gluten, zeína y albúmina, tratadas con radiación UV, aumentaron la fuerza de tensión. La radiación UV redujo la permeabilidad al vapor de agua de las películas de albúmina, pero el resto de películas no se vieron afectadas. Con respecto a los parámetros colorimétricos, la luminosidad  $L$  y el parámetro  $a$ , apenas presentaron variación; sin embargo, el parámetro  $b$  mostró un aumento en las películas irradiadas (más amarillas), a excepción de la muestra de zeína de maíz, debido seguramente a que la radiación UV destruye los pigmentos de la propia muestra. Películas de gluten de trigo tratadas con radiación UV, a dosis de  $0,25$  y  $1 \text{ J/cm}^2$ , mostraron poca variación en los valores de la fuerza de tensión, porcentaje de elongación y módulo de Young (Micard *et al.*, 2000). Asimismo, Gueguen *et al.* (1998) en películas de guisantes, utilizando como plastificantes etilenglicol e hidroxietil acrilato, y tratadas con radiación UV ( $0,5 \text{ J/cm}^2$ ), observaron un ligero aumento de la fuerza de tensión.

Shi *et al.* (2009) han mostrado que el tratamiento UV/ozono de películas de zeína puede utilizarse para obtener películas con hidrofiliidad controladas. Este tratamiento puede provocar la oxidación de los grupos superficiales a través de una secuencia de reacciones, en las que la radiación UV puede excitar el oxígeno molecular para formar oxígeno atómico y ozono, que son muy reactivos, de modo que se generan radicales hidroxilo. Asimismo, la radiación UV puede excitar la película de zeína generando radicales libres. Todas estas especies radicalarias reaccionan con la superficie de la película pudiendo oxidarla, convirtiendo algunos grupos etilo en grupos carbonilo, y de este modo modificar la hidrofiliidad de la película.

Soluciones de aislados de proteína de suero de leche, tratadas con  $324 \text{ J/cm}^2$  de radiación UV (Ustunol y Mert, 2004), produjeron películas con una fuerza de tensión

ligeramente superior a la película de control; sin embargo el porcentaje de elongación resultó inferior. Por otra parte, la permeabilidad al vapor de agua presentó un ligero aumento, mientras que la permeabilidad disminuyó ligeramente.

### **1.3.- Fuentes de irradiación**

En el espectro electromagnético, la luz ultravioleta ocupa una amplia banda de longitudes de onda en la región no ionizante, entre longitudes de onda comprendidas entre 200 nm (rayos X) y los 400 nm (luz visible). El espectro UV se puede dividir en tres regiones: 1) Luz UV de longitud corta (UV-C) con longitudes de onda en el intervalo de 200 a 280 nm; 2) Luz UV de longitud media (UV-B) con longitudes de onda en el intervalo de 280 a 320 nm; 3) Luz UV de longitud larga (UV-A) con longitudes de onda en el intervalo de 320 a 400 nm. No existe una fuente que emita de forma eficiente para aplicar en cualquier reacción fotoquímica y que sea adecuada para cada situación. Debido a que la luz se debe absorber para que produzca el cambio fotoquímico deseado, es necesario utilizar una fuente que emita en el intervalo de longitudes de onda del espectro de absorción de los reactantes. Por ello, en el momento de escoger la fuente de radiación a utilizar, es muy importante conocer el espectro de absorción de los reactantes. Las características que debería cumplir una fuente de radiación son: estabilidad, una vida útil larga, dimensiones físicas adecuadas, fácil operación y bajo coste.

#### ***Fuentes naturales***

El Sol es la más importante fuente natural de radiación, con una distribución espectral que incluye longitudes de onda desde 250 a 1200 nm (Figura 1.3-1), aunque la radiación que llega a la Tierra depende de la zona considerada (longitud, altitud, condiciones atmosféricas, etc.). La densidad de flujo radiante que llega a la superficie en el nivel del mar posee una distribución espectral con predominio en el infrarrojo, que sólo sirve para calentar y no para provocar cambios fotoquímicos. Aproximadamente, al nivel del mar, el 4% corresponde al ultravioleta, el 42% al visible y el resto a la radiación infrarroja. De la radiación que llega a la Tierra, la fracción UV-C es absorbida completamente en las partes altas y medias de la atmósfera, debido a la presencia de ozono y oxígeno molecular. Con la radiación UV-B pasa casi lo mismo, aunque en este caso una pequeña cantidad logra llegar a la superficie de la Tierra. Sin embargo, en el caso de la radiación

UV-A, algunos autores consideran que la densidad de flujo que alcanza al nivel del mar está en el intervalo de 35 a 50 W/cm<sup>2</sup> ((Bintsis *et al.*, 2000; Kramer y Ames, 1987).

### ***Fuentes artificiales***

Previo a la presentación de las fuentes artificiales, conviene mencionar la existencia de filtros de radiación, consistentes en vidrios especiales y disoluciones líquidas tales que al absorber radiación en algunas longitudes de onda se pueden utilizar para eliminar ciertas longitudes de onda.

Las lámparas constituyen las fuentes artificiales de radiación con mayor interés. Los principales tipos de lámparas que se pueden encontrar en el mercado son (Rabek, 1982):

- *Lámparas de incandescencia*, consistentes en filamentos de wolframio a 3000-4000 K, que emiten radiación en continuo de acuerdo con las leyes de emisión de la radiación de cuerpos negros. La mayor parte de la radiación que emiten es infrarroja, menos de un 30% corresponde al visible y la poca radiación UV queda filtrada por la envoltura de vidrio de la propia lámpara.

- *Lámparas halógenas*, en las que un halógeno (I<sub>2</sub> o Br<sub>2</sub>) se añade como gas a la bombilla de incandescencia, provocando una serie de reacciones entre el halógeno y el filamento de wolframio. Como consecuencia de todo ello hay una mayor salida de radiación visible y algo de UV, en comparación con las lámparas de incandescencia.

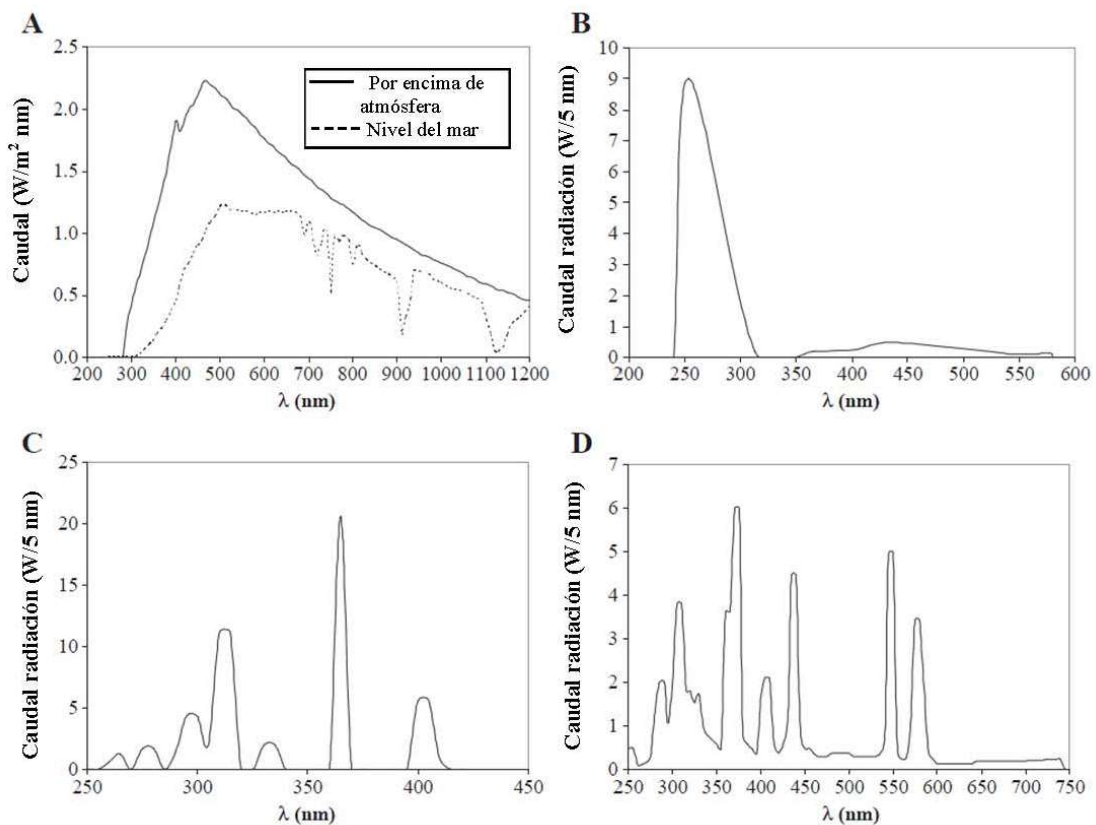
- *Arcos de carbón y plasma*. La necesidad de usar fuentes de radiación de gran intensidad condujo a la utilización de otros sistemas, como los arcos de carbón y plasma. No obstante, estos arcos tienen el inconveniente de emitir mucha radiación infrarroja. El tipo de radiación de un arco de plasma viene determinado por el gas formador del plasma. El que resulta más interesante, desde el punto de vista fotoquímico, es el argón, con un máximo de energía en la región comprendida entre 300 y 500 nm.

- *Lámparas fluorescentes*, usadas en el alumbrado doméstico. En el mercado existen de muy diferentes tipos y formas geométricas, pero la intensidad de radiación es demasiado baja para su uso industrial.

- *Lámparas de descarga de alta intensidad*. Son lámparas que generan luz de elevada intensidad mediante el paso de una corriente eléctrica a través de metales en estado gaseoso. De este tipo, en el mercado se hallan disponibles lámparas de vapor de mercurio, de xenón y de sodio. Las más utilizadas son las *lámparas de vapor de mercurio*, debido a que este metal es inerte además de que posee una relativamente baja



energía de ionización y con suficiente presión de vapor a temperaturas moderadas. Todo ello hace que el mercurio sea el más óptimo para utilizarlo en los tubos de descarga de gases. Para mejorar el espectro de emisión de estas lámparas, a veces, se le agregan haluros metálicos. Atendiendo a la presión del gas se suelen clasificar en arcos de baja, media y alta presión. En la Figura 1.3-1 se muestran los espectros de emisión correspondientes a estos tres tipos de lámparas. En esta figura se puede ver que a medida que aumenta la presión del mercurio el espectro de emisión de la lámpara se vuelve más complejo. Mientras que para una de baja presión la emisión de la radiación es casi exclusivamente a 254 nm, en las de media presión se observan más picos de emisión, presentando un espectro de emisión más continuo las de alta presión. Por otro lado, la potencia que pueden tener las lámparas de alta presión (hasta 1500 W) es mucho mayor que las de baja presión (hasta 60 W), lo que las hace más ineficaces. Cualquiera de estas tres lámparas, análogamente a las lámparas fluorescentes, precisan de un dispositivo eléctrico para su encendido y funcionamiento en continuo.



**Figura 1.3-1.-** Espectro de emisión de diferentes fuentes de radiación UV. (A): Sol. (B): lámpara de mercurio de baja presión. (C): lámpara de mercurio de media presión. (D): lámpara de mercurio de alta presión. (Fuente: Falguera *et al.*, 2011c).

## 1.4.- Reactores fotoquímicos

Son muchos y variados los tipos de reactores utilizados en los procesos fotoquímicos; sin embargo, según su modo de operar se clasifican en continuos y discontinuos. A continuación se describen algunos de ellos.

### *Reactores discontinuos*

Generalmente, se utilizan para llevar a cabo reacciones con bajo rendimiento cuántico y que necesitan, por tanto, elevados tiempos de irradiación. Además, también se utiliza este tipo de reactores cuando las soluciones que contienen los reactantes presentan una elevada viscosidad.

De los diferentes diseños existentes, quizás el tipo *tanque agitado* es el más utilizado (Figura 3.1-2B). En esencia consta de un tanque de mezcla perfecta, hallándose inmersa en su interior una serie de lámparas, de tal modo que llegue radiación a todos los puntos del tanque.

Otro tipo es el motorreactor *elíptico*, que operando en discontinuo se utiliza en ciertos estudios cuantitativos. Este diseño consiste en un cilindro de sección elíptica, construido con un material reflectante de la radiación, en el que en un eje focal está colocada la lámpara y en el otro foco de la elipse se halla el reactor (Figura 1.3-2A). Dada esta configuración lámpara-reactor, toda la energía radiante que emite la lámpara incide, en teoría, en el reactor, o bien de forma directa o bien a través de reflexión en la carcasa cilíndrica. Con ello, se consiguen intensidades de radiación elevadas en la zona de reacción.

### *Reactores continuos*

Los reactores, cuyo sistema de flujo es continuo, se utilizan en reacciones con rendimientos cuánticos elevados, lográndose con ello pequeños tiempos de irradiación de los reactantes. Es por ello que, en reacciones con altas velocidades de absorción de la radiación, sean utilizados reactores que operan en continuo. Los diseños más utilizados son los que se mencionan a continuación.

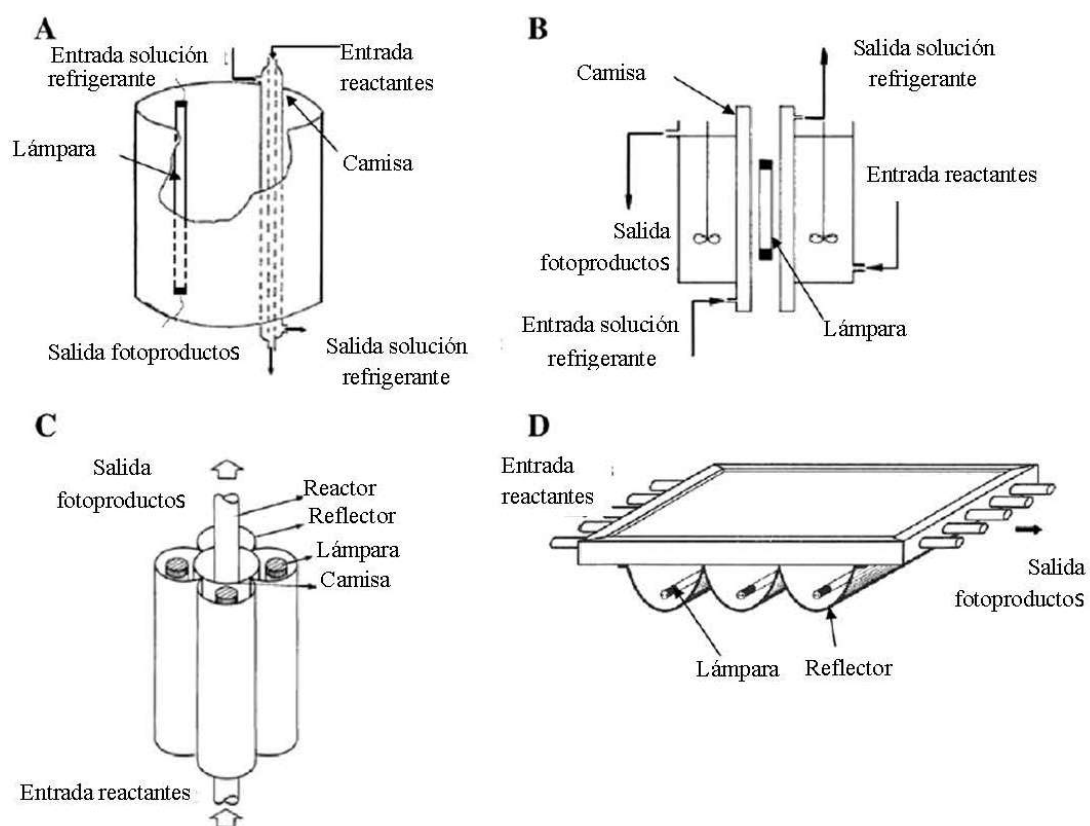
*Fotorreactor tubular anular*, que consta de un cilindro de sección anular, estando la lámpara colocada en el espacio anular central. Un tipo de fotorreactor tubular es el descrito por Gayán (2013), consistente en ocho reactores anulares conectados en serie.

Cada reactor incluye una única lámpara colocada en el centro de un tubo por cuya cara interna desciende una fina película del líquido a tratar. La lámpara se encuentra dentro de una camisa de cuarzo, para evitar el contacto con el líquido. En el espacio anular entre la camisa y el tubo externo se puede colocar una bobina de acero inoxidable para mejorar la turbulencia del fluido descendente.

Fotorreactor *cilíndrico* tipo *tanque agitado*, análogo al que opera en discontinuo (Figura 1.3-2B), consistente en un tanque perfectamente agitado con una o más lámparas sumergidas en su seno. Fotorreactor *elíptico*, idéntico al descrito anteriormente, pero operando en continuo. Lu *et al.* (2010a,b), desarrollaron un tipo especial de fotorreactor elíptico de película, con un aumento en la eficiencia del mismo. Consistía en dos lámparas UV de vapor de mercurio localizadas en el interior de los reflectores elípticos, en los que los rayos UV se reflejaban de forma que podían converger en un punto fijo, el foco de la elipse. En este punto, la energía radiante UV se transmitía a través de fibras ópticas, insertadas en el cuerpo del reactor, construido con acero inoxidable.

El fotorreactor de *placas paralelas* consiste en dos placas paralelas colocadas una enfrente de la otra, con la solución reactante circulando entre ellas, mientras que la energía radiante proviene del exterior e incide en una de las caras (Figura 1.3-2D). Esta cara debe estar construida de un material transparente a la radiación UV, por ejemplo cuarzo, y recibe la radiación directa de las lámparas o por reflexión de la envoltura parabólica construida con un material reflectante. Este tipo de reactor es adecuado para reactantes con una densidad óptica elevada, puesto que la distancia entre las placas es estrecha y el fluido fluye con un espesor muy bajo, lo que hace que la radiación alcance más fácilmente cada uno de los puntos del fluido reaccionante.

El fotorreactor de *película descendente* es un reactor tubular en el que la lámpara está colocada en el eje central, y el fluido reactante fluye en forma de película descendente por la cara interna del tubo. Shama *et al.* (1996) desarrollaron un fotorreactor de película, basado en una boquilla de diseño especial que genera una fina película de líquido en forma de campana. En el interior de la campana se coloca una lámpara y en el exterior se hallan cuatro lámparas más en posiciones opuestas. Este tipo de reactor permite irradiar los líquidos sin que estén en contacto con las fuentes de radiación UV. Milly *et al.* (2007) han desarrollado un novedoso fotorreactor, que consiste en un rotor interno que gira y una carcasa de cuarzo fija, que se utiliza para inducir una cavitación controlada que asegure una exposición homogénea del producto tratado.



**Figura 1.3-2.** Tipos de fotorreactor: (A): elíptico. (B):anular. (C): tubular multilámpara. (D): Plano multilámpara. (Fuente: Falguera *et al.*, 2011c)

## 1.5.- Modelo matemático para un fotorreactor plano

Cuando se plantea el modelo matemático de cualquier proceso que se lleva a cabo en un reactor, se deben realizar los correspondientes balances de materia y energía. En el caso que la reacción se realice en un reactor fotoquímico, es preciso hacer un balance de radiación (Bird *et al.*, 1964; Cassano *et al.*, 1968, 1995). Sin embargo, si la reacción se lleva a cabo de forma isotérmica, no será necesario plantear el balance de energía (Esplugas, 1975). Además, dentro del balance de materia es necesario conocer el modelo cinético de la reacción que se está llevando a cabo.

Por ello, en los apartados siguientes se plantearán los balances de materia y radiación, así como el mecanismo cinético de la reacción de fotodegradación que tiene lugar.

### 1.5.1.- Balance de materia

Cuando una reacción se lleva a cabo en un reactor intermitente, no existen corrientes de entrada y salida del reactor. Así, el término de acumulación es igual al de reacción. La expresión del balance de materia para un componente  $i$  se expresará según:

$$\frac{dC_i}{dt} = \frac{1}{V} \int_V r_i dV \quad (1.5-1)$$

en la que  $C_i$  es la concentración del componente  $i$ ,  $r_i$  es la velocidad intensiva de reacción del componente  $i$ ,  $V$  es el volumen del reactor y  $t$  el tiempo.

La velocidad intensiva de reacción del componente  $i$  es función de la concentración, pero además depende del perfil de radiación en el volumen del reactor a las diferentes longitudes de onda a las que absorbe el componente  $i$ .

### 1.5.2.- Balance de radiación

Para realizar un balance de radiación en el reactor es necesario adoptar un modelo de emisión para la lámpara que está irradiando. Uno de los primeros modelos utilizados es el lineal radial (Harris, 1965), que supone que la lámpara es una línea en la que cada punto de la misma emite perpendicularmente a la lámpara. Los rayos emitidos por cada punto tienen la misma intensidad y se hallan contenidos en un plano perpendicular a la lámpara por dicho punto emisor. El modelo más completo es el

cilíndrico esférico extenso (Esplugas, 1975), en el que se considera que la lámpara es un cilindro en el cada punto contenido en el volumen interno de la misma emite esféricamente. Debido a la gran complejidad que presenta su resolución, en el presente trabajo se utilizará el modelo lineal esférico. Este modelo supone que la lámpara es una línea en la que cada punto de la misma emite esféricamente.

Cuando se irradia una solución con una radiación electromagnética, una parte de la radiación incidente es absorbida por la solución. La capacidad de absorber la radiación se puede conocer definiendo la absorbancia como el logaritmo de la relación entre la potencia de radiación incidente ( $P_0$ ) y la transmitida ( $P$ ). Según se tome la base de logaritmos se obtiene dos tipos de definiciones de absorbancia:

$$A_{10} = \log \frac{P_0}{P} \quad \text{y} \quad A_e = \ln \frac{P_0}{P} \quad (1.5-2)$$

Generalmente, la absorbancia que puede medirse con los espectrofotómetros es  $A_{10}$ ; sin embargo, en las ecuaciones que rigen los modelos de absorción se utiliza  $A_e$ . La relación entre ambas absorbancias es:

$$A_e = \ln 10 \cdot A_{10}$$

Lambert-Beer propusieron una relación lineal entre la absorbancia a una determinada longitud de onda y la concentración de la sustancia que absorbe la radiación, de modo que se cumple:

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot C \cdot d_s \quad (1.5-3)$$

donde  $A_\lambda$  es la absorbancia a la longitud de onda  $\lambda$ ,  $\varepsilon_\lambda$  es el coeficiente de extinción molar a la misma longitud de onda,  $C$  es la concentración de la sustancia absorbente de la radiación y  $d_s$  es la longitud de paso (camino óptico) de la luz a través de la solución.

Considerando la ley de Lambert-Beer y  $A_e$ , para cada longitud de onda, la energía radiante ( $P_\lambda$ ) que alcanza un determinado punto ( $x,y,z$ ) en el interior de la solución que procede de una fuente de radiación (lámpara) a la misma longitud de onda ( $P_{0,\lambda}$ ) para un punto específico de la fuente, se puede expresar como:

$$P_\lambda(x, y, z) = P_{0,\lambda} \exp(-\varepsilon_\lambda C d_s) \quad (1.5-4)$$

donde  $P_{0,\lambda}$  es la energía radiante emitida a la longitud de onda  $\lambda$  por un punto específico de la lámpara radiante, estando definida por:

$$P_{0,\lambda} = \frac{P_{\text{Emit},\lambda} / L}{4\pi d^2} \quad (1.5-5)$$

en la que  $P_{\text{Emit},\lambda}$  es la potencia de radiación total emitida por la lámpara a la longitud de onda  $\lambda$ ,  $L$  es la longitud de la lámpara y  $d$  es el radio de la esfera definida por el punto emisor de la lámpara como centro de la esfera y el punto irradiado de la solución  $(x,y,z)$ .

En el caso de un fotorreactor plano con una lámpara cilíndrica, si se considera el modelo de emisión lineal esférico (Falguera *et al.*, 2011b; Garvín *et al.*, 2015), la energía radiante que alcanza un determinado punto en el interior de la solución a partir de la energía emitida por la lámpara entera es (Figura 1.5-1):

$$P_{\lambda,L}(x, y, z) = \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{\text{Emit},\lambda} / L}{4\pi d^2} \exp(-\varepsilon_\lambda C d_s) dy_L \quad (1.5-6)$$

Donde  $d_s$  es el camino óptico que debe atravesar la luz en el interior de la solución y  $y_L$  es la coordenada que define cada punto específico de la lámpara.

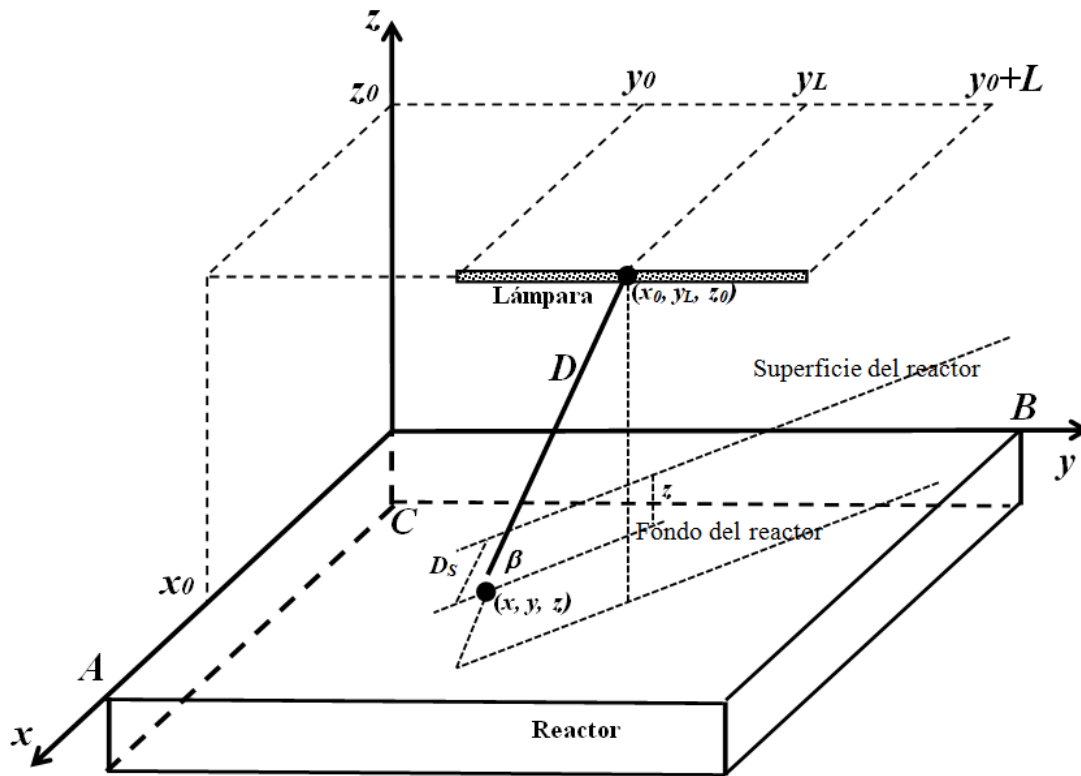


Figura 1.5-1.- Esquema de un fotorreactor plano.

### 1.5.3.- Potencia de radiación absorbida

La potencia radiante absorbida por cada uno de los puntos del interior de la solución contenida en el reactor es:

$$P_{\lambda}(x', y', x') = P_{\lambda}(x, y, x) \exp(-\mu_{\lambda} d_s) \quad (1.5-7)$$

La potencia radiante total absorbida por el volumen total de la solución a una longitud de onda  $\lambda$  es:

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{\text{emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} \left( -\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta} \right) \left[ 1 - \exp\left( \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} \right) \right] dy_L dx dy dz \quad (1.5-8)$$



donde:

$$d^2 = (x_0 - x)^2 + (y_L - y)^2 + (z_0 + z)^2; \quad d_s = \frac{z}{\sin \beta}; \quad \sin \beta = \frac{z_0 + z}{d} \quad (1.5-9)$$

ecuación que se debe calcular mediante métodos numéricos.

La potencia de radiación total absorbida es la suma de  $P_{abs,\lambda}$  para todas las longitudes de onda en las que la emisión de la lámpara coincide con la absorción de la solución.

$$P_{abs}(V) = \sum_{\lambda} P_{abs,\lambda} \quad (1.5-10)$$

La energía radiante total absorbida por unidad de volumen se obtiene dividiendo por el volumen de reacción:

$$P_{abs} = \frac{P_{abs}(V)}{V} \quad (1.5-11)$$

#### 1.5.4.- Rendimiento cuántico

Las reacciones fotoquímicas se rigen por dos leyes fundamentales. La primera de ellas se basa en que la única radiación que de una manera efectiva es capaz de producir una reacción fotoquímica es aquella que es absorbida por el sistema. Eso no implica que toda la radiación absorbida sea químicamente eficaz, ni que la reacción fotoquímica sea una consecuencia inmediata de la absorción de radiación, ya que ésta puede disiparse, degradarse en otras formas energéticas o provocar otras reacciones.

Puede darse el caso de que la sustancias reaccionantes no sean las que absorban la radiación, sino que sean otras que se encuentran presentes en el medio reaccionante, para en una etapa posterior transferir la energía absorbida a los reactantes. Este tipo de sustancias se denominan fotosensibilizadores.

Los estados energéticos de las moléculas están cuantizados. El estado de menor energía en que puede encontrarse una molécula o un átomo recibe el nombre de estado fundamental o normal. En general, estos estados tienen electrones apareados, lo que implica que el spin total será nulo (estado *singulete*). Si un electrón situado en uno de estos estados pasa a un nivel superior de energía, puede darse el caso que quede

desapareado, dando lugar a un estado de spin total no nulo. Si la molécula está en un estado excitado, su tendencia natural es la de evolucionar hacia un estado de mínima energía, desactivándose. De este modo, al irradiar una molécula con una longitud de onda adecuada, la energía incidente se absorbe dando lugar a ciertos fenómenos fotoquímicos que pueden transcurrir con mayor o menor eficacia. A esta eficacia se la denomina rendimiento cuántico ( $\phi$ ), que se define de la siguiente forma:

$$\phi = \frac{\text{Número de moléculas que sufren un proceso}}{\text{Número de fotones de luz absorbidos}} \quad (1.5-12)$$

La segunda ley de la fotoquímica (Ley de Stark-Einstein) se puede enunciar de dos modos alternativos: “cada fotón absorbido activa una molécula en la etapa primaria de excitación en una secuencia fotoquímica”, o bien, “la absorción de luz por una molécula es un proceso de un cuanto, de modo que la suma de los rendimientos cuánticos parciales del proceso primario debe ser la unidad”. De este modo, toda molécula que interviene en una reacción fotoquímica ha de absorber un cuanto de luz, lo que implica que en un proceso fotoquímico primario, para que una especie química sea activada necesita absorber un único fotón.

Se conoce como proceso fotoquímico primario aquel proceso monomolecular en el que interviene una sola molécula y un único fotón.

Un mol de cuantos o fotones es conocido con el nombre de Einstein de energía, que según la ley de Planck viene dado por:

$$E = N_A h \nu = N_A h \frac{c}{\lambda} \quad (1.5-13)$$

siendo  $N_A$  el número de Avogadro,  $h$  la constante de Planck,  $c$  la velocidad de la luz,  $\nu$  la frecuencia de la radiación y  $\lambda$  la longitud de onda.

La relación existente entre einstein y julio es:

$$1 \text{ Einstein} = \frac{1,1956 \times 10^8}{\lambda} \text{ Julio}$$

en la que la longitud de onda  $\lambda$  se expresa en nm.

Para un determinado proceso  $i$ -ésimo se define el rendimiento cuántico de diferentes modos:

$$\phi_i = \frac{\text{Número de moléculas excitadas desaparecidas por el mecanismo } i}{\text{Número total de moléculas excitadas}}$$

Si el producto final de cada proceso es  $P_j$ , se cumple:

$$\phi_i = \frac{\text{Número total de moléculas } P_j \text{ producidas}}{\text{Número total de fotones absorbidos}}$$

Si se refiere a los reactantes y al proceso global, se tiene:

$$\phi_i = \frac{\text{Número de moléculas descompuestas}}{\text{Número de fotones absorbidos}}$$

O bien:

$$\phi_i = \frac{\text{Velocidad molar de desaparición del reactante}}{\text{Número de Einsteins por unidad de tiempo}}$$

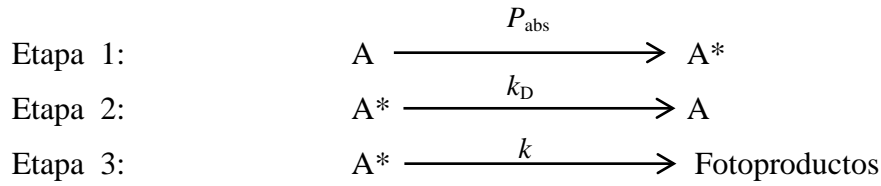
De la definición de cada rendimiento cuántico se deduce que:

$$\phi_i \leq 1$$

$$\sum \phi_i = 1$$

### 1.5.5.- Mecanismo cinético de fotodegradación

Para llegar a obtener un modelo cinético de degradación fotoquímica de una molécula cualquiera A, es preciso suponer un mecanismo que permita describir de forma adecuada las etapas de reacción involucradas en el proceso global de fotodegradación. En el presente trabajo se supone un mecanismo en tres etapas, en una primera etapa la molécula absorbe la radiación incidente para pasar a un estado excitado ( $A^*$ ). Esta molécula excitada puede volver a su estado fundamental, o bien degradarse para dar fotoproductos. De este modo, el esquema de reacción es el siguiente:



La energía absorbida por unidad de volumen por la molécula A en la primera etapa del mecanismo propuesto ( $P_{abs}$ ) posee unidades de einsteins (mol de fotones) por unidad de volumen y unidad de tiempo, y se puede calcular de acuerdo con el modelo de radiación descrito anteriormente:

$$P_{abs} = \sum_{\lambda} P_{\lambda} \varepsilon_{\lambda} C_A \quad (1.5-14)$$

Suponiendo estado pseudo-estacionario para el intermedio excitado ( $A^*$ ), se obtiene que la velocidad intensiva de reacción para la degradación fotoquímica de la molécula A se puede expresar como:

$$r_A = -K_A P_{abs} \quad (1.5-15)$$

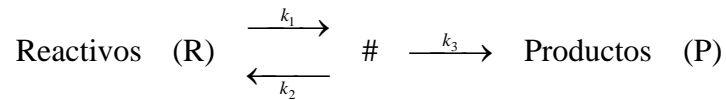
En la que  $K_A$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$ , de modo que:

$$K_A = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (1.5-16)$$

De acuerdo con el mecanismo propuesto, la constante  $K_B$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de A degradados por mol de fotones (Einstein) absorbidos.

## 1.6.- Compensación cinética y termodinámica

La teoría del estado de transición consiste en describir el mecanismo de una reacción química mediante la formación de un complejo activado o un estado de transición (#).



La Figura 1.6-1 muestra el cambio en la entalpía a medida que avanza la reacción.  $\Delta H^\ddagger$  es la entalpía de activación y representa la variación de la entalpía entre los reactantes y el estado de transición. Este parámetro está relacionado con la energía de activación de acuerdo con la siguiente ecuación aproximada:

$$E_a = \Delta H^\ddagger + RT \quad (1.6-1)$$

$\Delta H^\ddagger$  es la energía de la reacción y representa la variación de la entalpía entre los reactantes y los productos de reacción. En la Figura 1.6-1 este parámetro es negativo, lo que representa una reacción exotérmica. Si el valor es positivo, la reacción es endotérmica. La energía de la reacción no está relacionada con la entalpía de activación.

$k_3$  es la constante cinética para un estado de transición y se puede definir por:

$$k_3 = \frac{k_B T}{h} \quad (1.6-2)$$

donde  $T$  es la temperatura absoluta (K) a la que la reacción tiene lugar,  $k_B$  es la constante de Boltzmann ( $1,381 \times 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$ ) y  $h$  la constante de Planck ( $6,626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ ). Teniendo en cuenta que las etapas 1 y 2 están en equilibrio, la constante de equilibrio ( $K^\ddagger$ ) se puede definir:

$$K^{\#} = \frac{k_1}{k_2} = \frac{C_{\#}}{C_R} \quad (1.6-3)$$

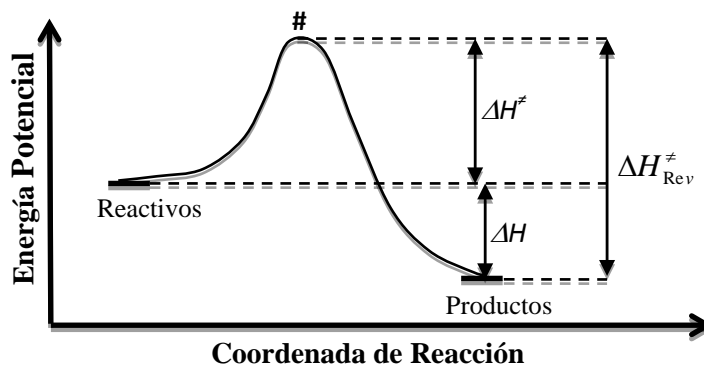
La constante de equilibrio está relacionada con la energía libre de Gibbs ( $\Delta G^{\#}$ ), la entalpía ( $\Delta H^{\#}$ ) y la entropía ( $\Delta S^{\#}$ ), según la ecuación de Van't Hoff:

$$\Delta G^{\#} = \Delta H^{\#} - T\Delta S^{\#} = -RT \ln K^{\#} \quad (1.6-4)$$

Siendo  $\Delta S^{\#}$  la entropía de activación, que representa la variación de entropía desde los reactivos hasta el estado de transición. La ecuación de Van't Hoff y relaciona la constante de equilibrio con la energía libre para cualquier equilibrio. En este caso, la ecuación se aplica al equilibrio entre los reactivos y el estado de transición.

A partir de la ecuación de Van't Hoff, la constante de equilibrio se puede expresar como:

$$\ln K^{\#} = \frac{\Delta S^{\#}}{R} - \frac{\Delta H^{\#}}{RT} \quad (1.6-5)$$



**Figura 1.6-1.-** Cambio de energía potencial para cualquier reacción química.

Aplicando un balance de materia en un reactor discontinuo, se obtiene un modelo cinético de primer orden:

$$\frac{dC_R}{dt} = \frac{dC_P}{dt} = -k_3 C_{\#} = -k_3 K^{\#} C_R = -k C_R \quad (1.6-6)$$

$$k = k_3 K^{\#} = \frac{k_B T}{h} K^{\#} \quad (1.6-7)$$

siendo  $k$  la constante cinética obtenida para la variación de la concentración del reactivo R.

Combinando las ecuaciones 1.6-2, 1.6-3 y 1.6-4, se obtiene la ecuación de Eyring:

$$\ln\left(\frac{k \cdot h_p}{k_B \cdot T}\right) = \frac{\Delta S^{\#}}{R} - \frac{\Delta H^{\#}}{RT} \quad (1.6-8)$$

Por otra parte, la ecuación de Arrhenius describe el efecto de la temperatura sobre la constante cinética:

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1.6-9)$$

que en su forma linealiza se expresa como.

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{RT} \quad (1.6-10)$$

en las que  $k_0$ ,  $E_a$ ,  $R$  y  $T$  son el factor de frecuencia, la energía de activación, la constante de gases ideales y la temperatura absoluta, respectivamente. La energía de activación ( $E_a$ ) está relacionada con la entalpía de activación de acuerdo con la ecuación 1.6-1, representando el valor mínimo de energía que debería tener una colisión específica para que tenga lugar la reacción. El factor de frecuencia ( $k_0$ ) está relacionado con la

velocidad de las colisiones y, por consiguiente, depende del grado de agitación del medio de reacción. El término exponencial de la ecuación de Arrhenius representa la fracción de moléculas que tienen una energía superior que la energía de activación a la temperatura  $T$ .

Cuando se estudia una reacción y la constante cinética se obtiene para varias temperaturas, la regresión lineal de la ecuación 1.6-10 permite obtener los valores de  $k_0$  y  $E_a$  y la regresión lineal de la ecuación 1.6-8 permite obtener  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$ . Si se estudia la misma reacción para varios valores de una variable ambiental (por ejemplo,  $pH$ , concentración de cualquier sustancia que no participa en el proceso, etc.) los cuatro parámetros estimados se pueden obtener para cada valor de la variable ambiental.

La compensación cinética tiene lugar cuando al representar  $\ln k_0$  frente a  $E_a$  se obtiene una relación lineal y la compensación entalpía-entropía tiene lugar cuando al representar  $\Delta H^\ddagger$  frente a  $\Delta S^\ddagger$  también se obtiene una relación lineal. No existe ninguna razón general que obliga a este tipo de relación lineal y que se puede encontrar en algunos casos pero no en otros. En algunos casos, cuando se observa la relación lineal es sólo una consecuencia de la propagación de errores experimentales entre dos parámetros estimados que se correlacionan (Krug *et al.*, 1976a,b).

### 1.6.1.- Compensación cinética

La compensación cinética necesita estudiar la variación de la linealización de la ecuación de Arrhenius (Ec- 1.6-10) con una variable experimental (por ejemplo  $pH$ ), obteniendo la siguiente expresión:

$$\frac{d \ln k}{dpH} = \frac{d \ln k_0}{dpH} - \frac{1}{RT} \frac{dE_a}{dpH} \quad (1.6-11)$$

Si existe una relación lineal entre  $\ln k_0$  y  $E_a$  se puede obtener la siguiente ecuación:

$$\ln k_0 = a + bE_a \quad (1.6-12)$$

De modo que al tomar la derivada con respecto a la variable ambiental se obtiene:



$$\frac{d \ln k_0}{dpH} = b \frac{dE_a}{dpH} \quad (1.6-13)$$

Al sustituir esta ecuación en la ecuación 1.6-11, se obtiene:

$$\frac{d \ln k}{dpH} = b \frac{dE_a}{dpH} - \frac{1}{RT} \frac{dE_a}{dpH} = \left( b - \frac{1}{RT} \right) \frac{dE_a}{dpH} \quad (1.6-14)$$

De esta ecuación se puede deducir que existe una temperatura, llamada temperatura isocinética, para la cual cuando cambia el  $pH$  la variación de la energía de activación se compensa con la variación en el factor de frecuencia. Como consecuencia, para esta temperatura específica la constante cinética no varía si se cambia el  $pH$ , lo que supone que su derivada con respecto a esta variable es nula; es decir, se cumple:

$$\frac{d \ln k}{dpH} = \left( b - \frac{1}{RT_{iso}} \right) \frac{dE_a}{dpH} = 0 \quad (1.6-15)$$

De la que se puede obtener la temperatura isocinética:

$$T_{iso} = \frac{1}{bR} \quad (1.6-16)$$

### 1.6.2.- Compensación Termodinámica

Para el estudio de la compensación entalpía-entropía se puede operar de modo análogo al de compensación cinética, aunque en este caso se estudia la variación de las ecuaciones 1.6-4 y 1.6-5 con la variable ambiental (por ejemplo,  $pH$ ):

$$\frac{d(\Delta G^\#)}{d pH} = \frac{d(\Delta H^\#)}{d pH} - T \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} \quad (1.6-17)$$

$$\frac{d(\ln K^\#)}{d pH} = \frac{1}{R} \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} - \frac{1}{RT} \frac{d(\Delta H^\#)}{d pH} \quad (1.6-18)$$

De hecho, la similitud entre la ecuación linealizada de Arrhenius para las constantes cinéticas y la de Van't Hoff para las constantes de equilibrio, hace que el efecto de compensación se pueda obtener tanto para las constantes cinéticas y como para las de equilibrio.

En este caso, la temperatura isocinética es la temperatura a la que la variación de entalpía de activación cuando se cambia la variable experimental (por ejemplo,  $pH$ ) se compensa con la variación de la entropía de activación, lo que conduce al hecho de que ni la energía libre de activación ni la constante de la ecuación varían cuando la variable experimental es modificada a la temperatura isocinética específica.

La única manera en la que se puede dar la compensación entalpía-entropía es la existencia de una relación lineal entre  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$ :

$$\Delta H^\ddagger = A + B\Delta S^\ddagger \quad (1.6-19)$$

De modo que al tomar la derivada con respecto a la variable ambiental se obtiene:

$$\frac{d \Delta H^\ddagger}{d pH} = B \frac{d \Delta S^\ddagger}{d pH} \quad (1.6-20)$$

Al sustituir esta ecuación en la ecuación 1.6-17, se obtiene:

$$\frac{d(\Delta G^\ddagger)}{d pH} = B \frac{d(\Delta S^\ddagger)}{d pH} - T \frac{d(\Delta S^\ddagger)}{d pH} = (B - T) \frac{d(\Delta S^\ddagger)}{d pH} \quad (1.6-21)$$

Para la temperatura isocinética no existe variación de la energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\ddagger$ ), ni tampoco de la constante de equilibrio ( $K^\ddagger$ ), con la variable ambiental, por lo que se cumple:

$$\frac{d(\Delta G^\ddagger)}{d pH} = (B - T_{iso}) \frac{d(\Delta S^\ddagger)}{d pH} = 0 \quad (1.6-22)$$

Por lo tanto, la temperatura isocinética tiene que ser igual al parámetro B:

$$T_{iso} = B \quad (1.6-23)$$

Ambas temperaturas isocinéticas obtenidas a partir de las ecuaciones 1.6-16 y 1.6-22 tienen que coincidir. Las diferencias obtenidas se deben a errores experimentales y al hecho de que las ecuaciones de Arrhenius y de Van't Hoff son aproximaciones experimentales que describen el efecto de la temperatura en las constantes cinética y de equilibrio, pero no son leyes científicas.

Aunque no existe ninguna razón para estas relaciones lineales, si tiene lugar una relación lineal, la otra también tiene que ocurrir. Y como se ha indicado anteriormente, la temperatura isocinética obtenida a partir de ambas relaciones lineales tiene que ser la misma.

Una posible razón para explicar que en muchos casos  $\Delta H^\ddagger$  varíe linealmente con  $\Delta S^\ddagger$  es el hecho de que un mayor valor de  $\Delta H^\ddagger$  implica un estado de transición con más energía, probablemente debido a un mayor número de enlaces entre los átomos lo que probablemente significa un mayor desorden y por lo tanto un mayor valor de  $\Delta S^\ddagger$ . Si fuera el caso, la ecuación 1.6-4 sugiere que podría existir una temperatura a la cual el cambio en ambos parámetros sería compensado para cualquier valor de la variable experimental.

### 1.6.3.- Control de la reacción

A partir de la ecuación 1.6-9, para la temperatura isocinética se obtiene la siguiente ecuación:

$$T = T_{iso} : \frac{d \ln k_0}{d pH} = \frac{1}{RT_{iso}} \frac{dE_a}{dpH} \quad (1.6-24)$$

De acuerdo con el significado de cada miembro de la ecuación, significa que cuando la variable ambiental se cambia a la temperatura isocinética, el cambio de la velocidad de las colisiones (factor de frecuencia,  $k_0$ ) se compensa con el cambio de la energía de activación ( $E_a$ ) y en consecuencia por la fracción de moléculas que tienen una energía mayor que esta nueva energía de activación.

A partir de la ecuación 1.6-13 se puede concluir que el signo de las derivadas, tanto de  $\ln k_0$  como de  $E_a$  es el mismo, siempre y cuando que  $b$  sea positivo, como lo es siempre para las reacciones químicas. Por consiguiente, un cambio específico de la variable ambiental provoca cambios en el factor de frecuencia y en la energía de activación, ambos en la misma dirección.

Como la constante cinética no cambia a la temperatura isocinética y la ecuación 1.6-11 está formada por dos miembros con signo contrario, el signo de la variación de la constante cinética depende de cuál es el miembro con un valor mayor. Así, el signo de la variación de la constante cinética depende del valor de la temperatura relativa a la temperatura isocinética.

Considerando temperaturas superiores a la isocinética:

$$T > T_{iso} : \text{Signo} \left[ \frac{d \ln k}{d pH} \right] = \text{Signo} \left[ \frac{d \ln k_0}{d pH} \right] \quad (1.6-25)$$

El cambio del término de factor de frecuencia es mayor que el cambio del término de la energía de activación y, como consecuencia, el signo de la derivada de  $\ln k$  es el mismo que el signo de la derivada de  $\ln k_0$ . Así, la constante cinética depende más del nuevo valor del factor de frecuencia que del nuevo valor de la energía de activación y se puede concluir que controla el mecanismo relacionado con la facilidad de las colisiones entre las moléculas reaccionantes. Considerando que las colisiones están relacionadas con el nivel de agitación de las moléculas y su orden y que el orden está estrechamente relacionado con la entropía, a este mecanismo de control relacionado con la facilidad de las colisiones se lo denomina mecanismo de control entrópico. Por consiguiente, para temperaturas superiores a la isocinética, se espera que la sensibilidad de la velocidad de reacción con la velocidad de agitación sea elevado, es decir, cuando se aumenta la velocidad de agitación tendrá lugar un aumento de la velocidad de reacción.

Por otra parte, si se considera temperaturas inferiores a la isocinética, la conclusión es diferente:

$$T < T_{iso} : \text{Signo} \left[ \frac{d \ln k}{d pH} \right] = -\text{Signo} \left[ \frac{d E_a}{d pH} \right] \quad (1.6-26)$$

la variación de la constante cinética depende más del cambio en la energía de activación que del cambio del factor de frecuencia y de este modo se tiene un control entálpico. Por consiguiente, para temperaturas inferiores a la isocinética, se espera que la sensibilidad de la velocidad de reacción con la energía de activación sea alta. Como el valor de  $E_a$  da una medida de la sensibilidad de la constante cinética con la temperatura, la variación de la constante cinética con la temperatura también será alta.

Considerando la compensación termodinámica, anteriormente se ha obtenido la ecuación:

$$\frac{d(\ln K^\#)}{d pH} = \frac{1}{R} \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} - \frac{1}{RT} \frac{d(\Delta H^\#)}{d pH} \quad (1.6-18)$$

que en el caso que la temperatura sea la isocinética, el valor de la derivada es nulo:

$$\frac{d(\ln K^\#)}{d pH} = \frac{1}{R} \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} - \frac{1}{RT_{iso}} \frac{d(\Delta H^\#)}{d pH} = 0 \quad (1.6-27)$$

Por lo tanto, se cumple:

$$\text{Si } T > T_{iso}: \quad \text{signo} \left[ \frac{d(\ln K^\#)}{d pH} \right] = \text{signo} \left[ \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} \right] \quad (1.6-28)$$

$$\text{Si } T < T_{iso}: \quad \text{signo} \left[ \frac{d(\ln K^\#)}{d pH} \right] = -\text{signo} \left[ \frac{d(\Delta S^\#)}{d pH} \right] \quad (1.6-29)$$

A partir de la ecuación 1.6-20 se puede ver que el signo de la derivada de  $\Delta H^\#$  y de  $\Delta S^\#$  son iguales y ambos varían en la misma dirección. De las ecuaciones 1.6-18 y 1.6-27 se puede concluir que si la temperatura es mayor que la temperatura isocinética, el signo de la derivada de la energía libre de activación es el signo de la derivada de la entropía de activación. Se puede concluir que el parámetro que más afecta a la nueva constante de equilibrio es la nueva entropía de activación, y de este modo el proceso presenta control entrópico. Por otra parte, si la temperatura es menor que la isocinética, el signo de la derivada se obtiene del signo de la derivada de la entalpía de activación, y

de esta forma se puede concluir que el parámetro que más afecta a la nueva constante de equilibrio es la nueva entalpía de activación y el proceso está controlado entálpicamente,

Obviamente, el mecanismo que controla la reacción depende únicamente de la temperatura, independientemente de si se considera la compensación cinética o termodinámica.

De acuerdo con Leffler (1955), si la temperatura isocinética ( $T_{iso}$ ) es mayor que la temperatura media ( $T_m$ ) calculada con todas las temperaturas usadas para determinar las cinéticas de reacción, la cinética es controlada por la entalpía; es decir, por  $E_a$ . Si por el contrario  $T_{iso} < T_m$ , entonces la reacción es controlada por la entropía, es decir, por  $k_0$ . Krug *et al.* (1976b) demostraron que es necesario comparar la temperatura isocinética con la temperatura armónica media ( $T_{hm}$ ), calculada con una ecuación de la forma:

$$T_{hm} = \frac{N}{\sum_1^n \left( \frac{1}{T} \right)} \quad (1.6-30)$$

donde  $N$  es el número de temperaturas utilizadas para estudiar la cinética de reacción.

Si la temperatura armónica media no está dentro del intervalo de confianza de la temperatura isocinética, la compensación observada es real, pero, en caso contrario, la compensación es debida a la propagación de errores experimentales.

## 1.7.- Reacción Actinométrica

En general, los procesos fotoquímicos se realizan utilizando fotorreactores, que constan de una fuente de radiación y una cámara de reacción donde llevar a cabo el proceso o reacción deseada. La velocidad con que se desarrolla depende de la cantidad de radiación que llega a la cámara de reacción, y es por ello que previo a cualquier trabajo fotoquímico es necesario conocer cuál es la potencia real de la fuente de radiación. Esta fuente de radiación suele ser una lámpara, de la que el fabricante proporciona sus características de emisión; aunque generalmente éstas no coinciden con las reales. Para conocer la verdadera potencia de emisión de la lámpara se pueden utilizar métodos físicos o químicos, siendo estos últimos los más utilizados. Las reacciones fotoquímicas utilizadas para este fin reciben el nombre de *actinometrías*.

Una reacción actinométrica es aquella reacción fotoquímica estándar, de características de absorción y cinética bien conocidas, que permite medir fácilmente los cambios producidos en la concentración de una especie involucrada en la reacción.

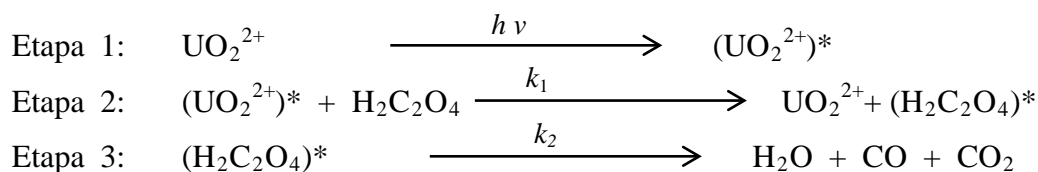
Estas reacciones son diversas, existiendo las que se llevan a cabo en fase gas y en fase líquida. En fase gas, la actinometría más utilizada es la fotólisis de acetona (Calvert y Pitts, 1967; Cassano *et al.*, 1968; Matsuura *et al.*, 1969; Rabek, 1982), mientras que en fase líquida las reacciones actinométricas más importantes son la fotodescomposición de ferrioxalato potásico (Calvert y Pitts, 1967; Fernández *et al.*, 1979; Rabek, 1982) y la del ácido oxálico en presencia de sales de uranilo (Calvert y Pitts, 1967; Burrows y Kemp, 1974; Rabek, 1982; Vicente, 1983).

Normalmente, se escoge la reacción actinométrica en las mismas condiciones en que se estudiarán los procesos posteriores; de ahí que este trabajo se centra en el estudio de las actinometrías en fase líquida, ya que posteriormente se estudia la aplicación de la radiación sobre compuestos tóxicos en agua y alimentos líquidos.

La reacción actinométrica escogida en este trabajo es la basada en la fotodescomposición de ácido oxálico en presencia de sales de uranilo. Esta reacción puede ocurrir en una amplia gama de longitudes de onda (200-480 nm), y el método de análisis es rápido y sencillo.

### 1.7.1.- Descomposición fotoquímica de ácido oxálico en presencia de sales de uranilo

El mecanismo de esta reacción es complejo, apareciendo como productos CO, CO<sub>2</sub>, HCOOH, U<sup>4+</sup> y H<sub>2</sub>O (Brackett y Forbes, 1933; Pitts *et al*, 1955; Balzani y Carassiti, 1970; Burrows y Kemp, 1974). La reacción debe llevarse a cabo a temperaturas de 25 a 30°C. Una variación de 10°C puede variar la velocidad de reacción en aproximadamente un 20%. Para asegurar una buena sensibilidad del método analítico se recomienda trabajar con conversiones superiores al 5% e inferiores al 20%. Para intervalos de *pH* entre 3 y 7, y conversiones menores del 20%, se considera que el proceso global se puede describir mediante el siguiente mecanismo en tres etapas:



En una primera etapa los fotones son absorbidos por el ión uranilo (UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>), que pasa a un estado excitado de mayor energía. En una segunda etapa, el ión uranilo transfiere esta energía, por efecto *quenching*, al ácido oxálico, que queda en un estado activado. Finalmente, el ácido oxálico se descompone en moléculas más simples, provocando su degradación. Se puede observar que el ión uranilo actúa realmente de fotosensibilizador de la degradación del ácido oxálico (H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>).

Si se tiene en cuenta que para los productos intermedios de este mecanismo se puede aplicar el estado pseudo-estacionario, la velocidad intensiva de reacción para la degradación del ácido oxálico se puede expresar como:

$$r_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} = -\sum_{\lambda} \phi_{\lambda} \mu_{\lambda} I_{\lambda} \quad (1.7-1)$$

En la que  $\phi_{\lambda}$  es el rendimiento cuántico,  $\mu_{\lambda}$  es la absorbancia del uranilo,  $I_{\lambda}$  es la intensidad de radiación denotando el subíndice  $\lambda$  que la magnitud correspondiente está referida a dicha longitud de onda. El coeficiente de absorbancia se puede expresar como el producto de la concentración (*C*) por el coeficiente de extinción molar ( $\epsilon_{\lambda}$ ), de modo que se cumple:



$$\mu_{\lambda} = C \varepsilon_{\lambda} \quad (1.7-2)$$

El valor del rendimiento cuántico ( $\phi_{\lambda}$ ) y del coeficiente de extinción molar ( $\varepsilon_{\lambda}$ ) no dependen de las concentraciones de ácido oxálico y de uranilo, ni de la intensidad de radiación.

Se puede observar que en la ecuación 1.7-1, la velocidad de degradación del ácido oxálico se expresa como un sumatorio a diferentes longitudes de onda; ello es debido a que la lámpara que se utiliza tiene un espectro de emisión policromático.

Durante la reacción no se consume uranilo, con lo que la concentración no variará, lo que hace que la absorbancia del medio de reacción permanezca constante. Por lo tanto, se obtiene una ecuación cinética en la que la velocidad de descomposición de ácido oxálico es de orden cero respecto a la concentración de reactante y de primer orden respecto a la intensidad de radiación.

La Tabla 1.7-1 muestra los valores de los rendimientos cuánticos ( $\phi_{\lambda}$ ) y de los coeficientes de extinción molar ( $\varepsilon_{\lambda}$ ) con los respectivos coeficientes de absorbancia ( $\mu_{\lambda}$ ) de la reacción actinométrica para una concentración de 0,001 M en uranilo, a diferentes intervalos de longitudes de onda de emisión de la lámpara.

Al aplicar un balance de materias para el ácido oxálico, se obtiene la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{V} \int_V r_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} dV \quad (1.7-3)$$

en la que la velocidad de descomposición de ácido oxálico viene dada por la ecuación (1.7-1). Al introducir esta ecuación en la expresión del balance de materias, se obtiene:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{V} \int \left( - \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} \mu_{\lambda} I_{\lambda} \right) dV \quad (1.7-4)$$

Esta ecuación se puede integrar bajo las condiciones límite:

$$\text{- Para } t = 0 \quad C = C_0$$

- Para  $t = t$   $C = C_0$

Obteniendo la expresión (Ibarz y Pagán, 1986):

$$X = \frac{1}{V C_0} P_L \left( \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} F_{\lambda} \eta_{A,\lambda} \right) t \quad (1.7-5)$$

En la que  $X$  es la conversión de ácido oxálico, definida por:

$$X = \frac{C - C_0}{C_0} \quad (1.7-6)$$

Además,  $V$  es el volumen de reacción,  $C_0$  es la concentración inicial de ácido oxálico,  $P_L$  es la energía total emitida por la lámpara por unidad de tiempo y  $\eta_{A,\lambda}$  es la eficacia de absorción, que viene dada por:

$$\eta_{A,\lambda} = \frac{P_{Abs,\lambda}}{P_L} \quad (1.7-7)$$

En la que  $P_{Abs,\lambda}$  es la energía absorbida por la solución a la longitud de onda  $\lambda$ , definida según la expresión (Esplugas, 1984):

$$P_{Abs,\lambda} = \mu_{\lambda} \int_V I_{\lambda} dV \quad (1.7-8)$$

Al observar la ecuación 1.7-5, si se representa el valor de la conversión frente al tiempo de reacción se obtiene una recta cuya pendiente posee el valor:

$$\text{Pendiente} = m = \frac{1}{V C_0} P_L \left( \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} F_{\lambda} \eta_{A,\lambda} \right) \quad (1.7-9)$$

De esta pendiente ( $m$ ), el volumen de reacción ( $V$ ) y la concentración inicial de ácido oxálico ( $C_0$ ) son datos; mientras que el término entre paréntesis puede obtenerse mediante un programa de cálculo por ordenador. Por lo tanto, a partir de estos datos, es posible llegar a calcular la energía real emitida por la lámpara ( $P_L$ ).

**Tabla 1.7-1.-** Características de la lámpara y de la reacción actinométrica nitrato de uranilo-ácido oxálico.

$\lambda$ (nm)	$F_{\lambda}$	$\phi_{\lambda}$ (Einstein/mol)	$\epsilon_{\lambda}$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\mu_{\lambda}$ (cm <sup>-1</sup> )
255	0,000550	0,60	6500,0	6,500
265	0,001098	0,59	5661,0	5,661
275	0,006315	0,58	4101,0	4,101
285	0,015925	0,58	2803,0	2,803
295	0,037343	0,57	1963,0	1,963
305	0,016475	0,56	1327,0	1,327
315	0,021965	0,56	961,0	0,961
325	0,023338	0,54	579,0	0,579
335	0,007688	0,52	365,0	0,365
345	0,007688	0,51	167,0	0,167
355	0,030203	0,50	81,0	0,081
365	0,070840	0,49	45,0	0,045
375	0,062055	0,49	37,0	0,037
385	0,018670	0,52	37,0	0,037
395	0,019770	0,54	37,0	0,037
405	0,073585	0,56	37,0	0,037
415	0,199890	0,57	35,0	0,035
425	0,088413	0,58	34,0	0,034
435	0,040363	0,58	32,5	0,0325
445	0,034323	0,57	25,8	0,0258
455	0,004393	0,54	18,7	0,0187
465	0,013295	0,47	11,0	0,0110
475	0,002198	0,37	5,5	0,0055
485	0,002745	0,29	2,9	0,0029
495	0,006315	0,22	1,6	0,0016
505	0,005493	0,18	0,9	0,0009
515	0,004393	0,12	0,6	0,0006
525	0,003020	0,08	0,4	0,0004
535	0,005493	0,02	0,3	0,0003

## 2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO



## **2.1.- Justificación e interés de la tesis doctoral**

Una de las problemáticas que se presenta en la elaboración de derivados de frutas es la presencia de determinados compuestos que pueden ser tóxicos para el consumidor. Algunos de estos compuestos tóxicos que se pueden encontrar en los zumos derivados de frutas son micotoxinas y plaguicidas. Los primeros aparecen en los productos finales debido a que las muestras de fruta de donde proceden se hallan en mal estado y en el proceso de elaboración para producir los zumos no se eliminan. Los plaguicidas suelen detectarse en zumos debido a los tratamientos en campo que recibe la fruta o bien en los tratamientos antifúngicos a que son sometidas las frutas previo a su almacenamiento bajo refrigeración. La utilización de estas frutas así tratadas puede dar lugar a que en los zumos y derivados de dichas frutas aparezcan estos compuestos tóxicos.

Tanto las micotoxinas como los plaguicidas presentes en los zumos son difíciles de eliminar mediante los tratamientos convencionales. Sin embargo, existen precedentes de que los tratamientos con radiación UV pueden llegar a degradar ciertos plaguicidas. Por ello, en esta tesis se plantea la aplicación de este tratamiento para reducir el contenido de dichos compuestos tóxicos en los productos finales elaborados a partir de fruta.

Asimismo, existe la creencia generalizada de que la radiación UV tiene poco poder de penetración y esto dificulta su aplicación a nivel industrial. Sin embargo, esto no es del todo cierto, ya que la radiación que llega a la superficie de un zumo penetrará en el mismo una cierta profundidad, dependiendo del valor del coeficiente de absorción. Así, en esta tesis también se plantea estudiar cómo afecta el coeficiente de absorción a la potencia absorbida por la solución reaccionante y obtener los perfiles de radiación en función, no sólo del valor de este coeficiente, sino también de la profundidad a través de dicha solución.

## **2.2.- Objetivos**

El principal objetivo de esta tesis es el estudio y modelización de la degradación fotoquímica de compuestos tóxicos presentes en zumos y soluciones acuosas, aplicando tratamientos de radiación UV. Para llevar a cabo este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- 1).- Estudiar el efecto de los valores del coeficiente de absorción de la disolución que se va a irradiar sobre la potencia radiante absorbida por dicha disolución. Asimismo, se pretenden obtener los perfiles de radiación absorbidos en función de la profundidad del fotorreactor.
- 2).- Estudiar y modelizar la degradación fotoquímica con radiación UV de soluciones acuosas de patulina a diferentes pH y temperaturas de tratamiento. Asimismo, estudiar la fotodegradación de esta toxina en zumos clarificados de manzana.
- 3).- Estudiar los mecanismos de compensación cinética-termodinámica de la fotodegradación de patulina, con el fin de determinar si dicho mecanismo presenta control entrópico o entálpico.
- 4).- Estudiar y modelizar la degradación fotoquímica con radiación UV de soluciones acuosas de ocratoxina A a diferentes pH y temperaturas de tratamiento. Asimismo, estudiar la fotodegradación de esta toxina en mostos clarificados comerciales de uva.
- 5).- Estudiar los mecanismos de compensación cinética-termodinámica de la fotodegradación de ocratoxina A, con el fin de determinar si dicho mecanismo presenta control entrópico o entálpico.
- 6).- Estudiar y modelizar la degradación fotoquímica con radiación UV de soluciones acuosas de tiabendazol a diferentes pH y temperaturas de tratamiento.
- 7).- Estudiar los mecanismos de compensación cinética-termodinámica de la fotodegradación de tiabendazol, con el fin de determinar si dicho mecanismo presenta control entrópico o entálpico.

8).- Estudiar el mecanismo de degradación fotoquímica de benomilo en solución acuosa, a  $\text{pH} = 4$ , y encontrar qué etapa influye más en el proceso global de fotodegradación.



### **2.3.- Plan de Trabajo**

Para poder llegar a cumplir los objetivos marcados en esta tesis, se siguió el siguiente plan de trabajo:

- 1).- Revisión bibliográfica para encontrar los antecedentes sobre el efecto de los tratamientos con radiación UV en compuestos presentes en zumos y agua y, de esta forma, poder fijar el plan de trabajo a seguir.
- 2).- Acondicionamiento y puesta a punto de una instalación experimental para operar en discontinuo con un fotorreactor plano que contiene una lámpara que emite en el intervalo UV-visible.
- 3).- Planteamiento y resolución del modelo matemático del reactor, teniendo en cuenta el balance de radiación, calibrado de la instalación experimental y determinación de la radiación real que llega a la superficie del reactor, mediante una actinometría.
- 4).- Puesta a punto de las técnicas de análisis que se deben utilizar para cuantificar el contenido de patulina, ocratoxina A, tiabendazol y benomilo, a lo largo del tratamiento fotoquímico.
- 5).- Irradiación de soluciones acuosas de patulina a diferentes pH (4 y 7) y temperaturas de tratamiento (8, 25, 45 y 65°C). Así como irradiación de zumos de manzana conteniendo patulina a diferentes temperaturas (8, 25, 45 y 65°C).
- 6).- Completar los tratamientos de soluciones acuosas de patulina a pH de 3, 4, 5 y 6, a las mismas temperaturas (8, 25, 45 y 65°C), con el fin de estudiar la compensación cinética-termodinámica.
- 7).- Irradiación de soluciones acuosas de ocratoxina A a diferentes pH (4 y 7) y temperaturas de tratamiento (15, 25, 35 y 45°C). Así como irradiación de mosto de uva conteniendo ocratoxina A a diferentes temperaturas (15, 25, 35 y 45°C).

- 8).- Completar los tratamientos de soluciones acuosas de ocratoxina A a pH de 3, 4, 5, 6 y 6,5 a las mismas temperaturas (15, 25, 35 y 45°C), con el fin de estudiar la compensación cinética-termodinámica.
  
- 9).- Irradiación de soluciones acuosas de tiabendazol a diferentes pH (3, 4 y 5) y temperaturas de tratamiento (15, 25, 35 y 45°C).
  
- 10).- Completar los tratamientos de soluciones acuosas de tiabendazol a pH de 3, 4, 5, 6 y 7 a las mismas temperaturas (15, 25, 35 y 45°C), con el fin de estudiar la compensación cinética-termodinámica.
  
- 11).- Irradiación de soluciones acuosas de benomilo a pH = 4, a una temperatura de tratamiento de 25°C, con diferente contenido inicial del plaguicida.



# 3. MATERIAL Y MÉTODOS

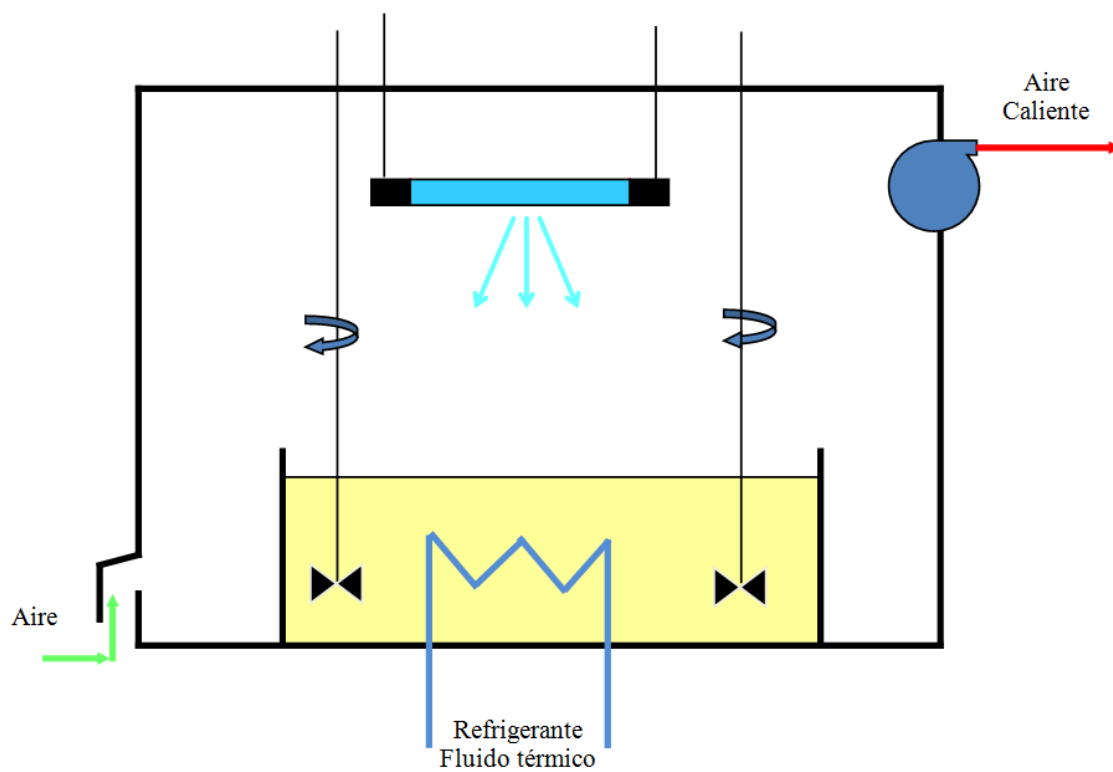


### 3.1.- Instalación experimental

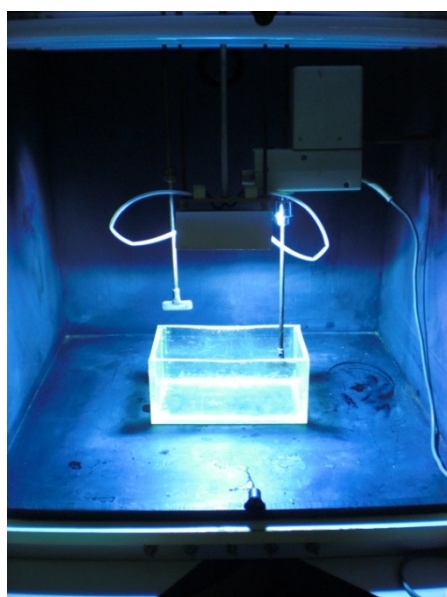
Todos los estudios de degradación fotoquímica llevados a cabo en el presente trabajo se han realizado utilizando un fotorreactor plano, que se halla en el interior de una cámara oscura pintada de negro en su interior (Figuras 3.1-1 y 2). En la parte superior de esta cámara se halla situada la lámpara y su correspondiente sistema para poderla subir o bajar. Debido al calor producido por la lámpara, la cámara puede alcanzar temperaturas elevadas, por lo que, para evitar esto, se la refrigera mediante un extractor de aire, que renueva el aire de la cámara de forma continua. Asimismo, en el seno del reactor se halla sumergido un serpentín por el que circula agua desde un baño termostático, lo que permite controlar la temperatura del medio de reacción.

El sistema emisor de radiación consta de una lámpara de vapor de mercurio de media presión Philips HPM-12 de 460 W de potencia nominal. El diámetro de la lámpara es de 2,1 cm, 4,5 cm de longitud de la zona de emisión, siendo su longitud total 9,8 cm (Figura 3.1-3). En la Figura 3.1-4 se muestran las características energéticas de la lámpara, suministradas por el fabricante. En la segunda columna de la Tabla 1.7-1 se dan los valores de la relación de la potencia emitida en cada longitud de onda con respecto a la potencia total ( $F_\lambda$ ).

El reactor en sí, consta de una cubeta de metacrilato de forma paralelepípedica. Dependiendo del estudio llevado a cabo, se han utilizado dos cubetas de diferente tamaño. Las dimensiones de una de ellas son 22 cm de largo, 15 cm de ancho y 10 cm de profundidad. La otra cubeta mide 12,5 cm de largo, 10,5 cm de ancho y 10 cm de profundidad. La distancia entre la lámpara y la superficie de la disolución a tratar en el reactor fue de 22,5 cm.



**Figura 3.1-1.-** Esquema de la Instalación fotoquímica



**Figura 3.1-2.-** Fotografía de la Instalación fotoquímica

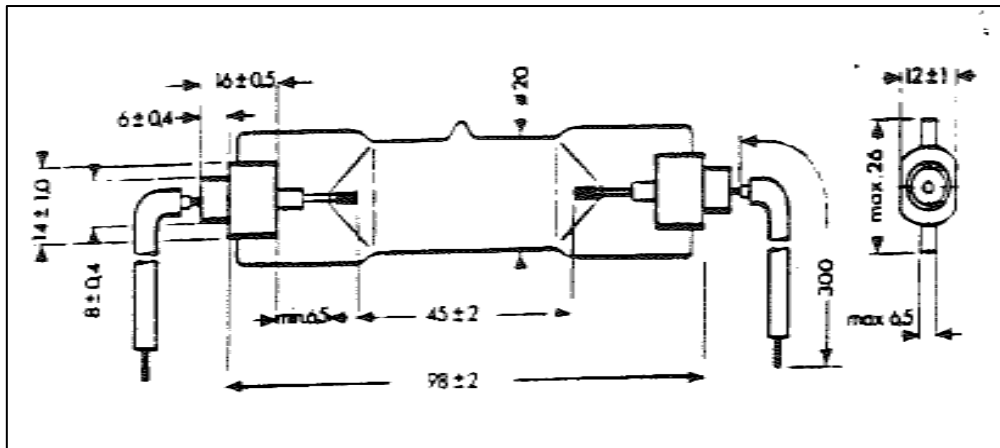


Figura 3.1-3.- Esquema de la lámpara Philips HPM-12.

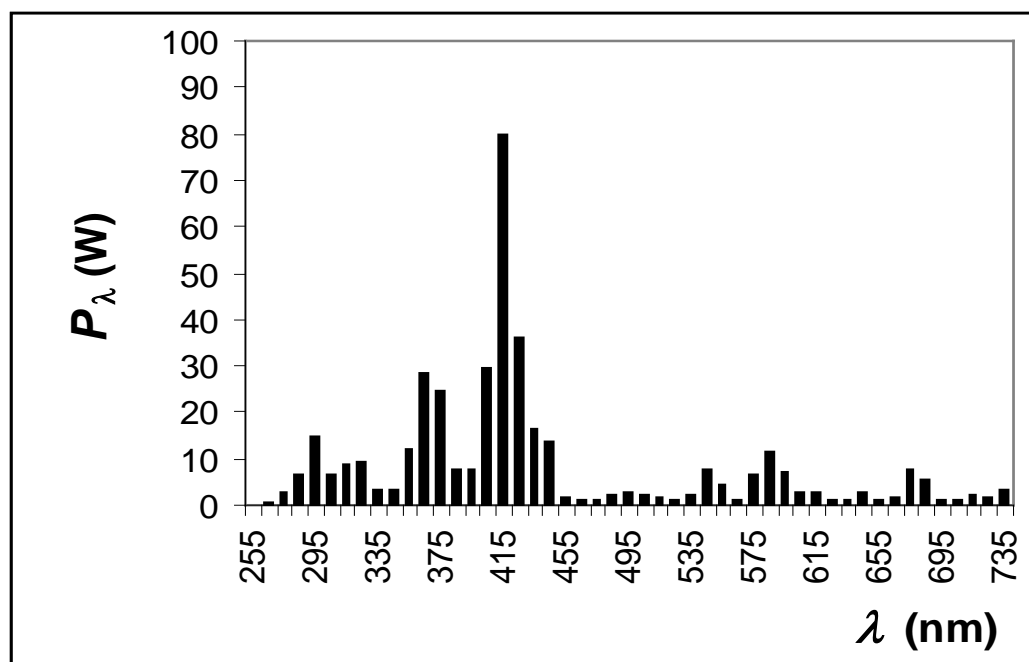


Figura 3.1-4.- Espectro de emisión de la lámpara Philips HPM-12.



**Tabla 3.1-1.-** Características de emisión de la lámpara.

$\lambda$ (nm)	$P_{\text{Emit},\lambda}$ (W)	$F_{\lambda}$
255	0,253	0,00055
265	0,505	0,00110
275	2,905	0,00632
285	7,326	0,01593
295	17,178	0,03734
305	7,579	0,01648
315	10,104	0,02197
325	10,735	0,02334
335	3,536	0,00769
345	3,536	0,00769
355	13,893	0,03020
365	32,587	0,07084
375	28,546	0,06206
385	8,588	0,01867
395	9,094	0,01977
405	33,849	0,07359
415	91,950	0,19989
425	40,670	0,08841
435	18,567	0,04036
445	15,788	0,03432
455	2,021	0,00439
465	1,516	0,00330
475	1,011	0,00220
485	1,263	0,00275
495	2,905	0,00632
505	2,527	0,00549
515	2,021	0,00439
525	1,389	0,00302
535	2,527	0,00549
545	9,094	0,01977
555	4,925	0,01071
565	1,516	0,00330
575	7,830	0,01702
585	13,135	0,02856
595	8,336	0,01812
605	3,158	0,00687
615	3,031	0,00659
625	1,516	0,00330
635	1,389	0,00302
645	2,905	0,00632
655	1,516	0,00330
665	1,894	0,00412
675	9,094	0,01977
685	6,441	0,01400
695	1,136	0,00247
705	1,136	0,00247
715	2,400	0,00522
725	1,642	0,00357
735	3,536	0,00769

### 3.2.- Preparación de las muestras a irradiar

En el caso de patulina se prepararon muestras en disolución acuosa con un contenido inicial de aproximadamente 500 µg/L. Se prepararon estas soluciones acuosas a diferentes pH (3, 4; 5; 6 y 7), utilizando soluciones tamponadas de ácido cítrico 0,1 M y Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M. También se prepararon zumos clarificados de manzana de 12°Brix, a partir de un zumo industrial de 70°Brix. A estos zumos se les añadió patulina para que el zumo final tuviera un contenido de 500 µg/L.

En el caso de ocratoxina A se prepararon muestras en disolución acuosa con un contenido inicial de aproximadamente 100 µg/L. Se prepararon estas soluciones acuosas a diferentes pH (3, 4; 5; 6; 6,5 y 7), utilizando soluciones tamponadas de ácido cítrico 0,1 M y Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M. A mostos comerciales de uva se añadió ocratoxina A con el fin de obtener un mosto final con un contenido de 100 µg/L en dicha toxina.

Se prepararon soluciones acuosas de tiabendazol a pH 3, 4, 5, 6 y 7 con un contenido en pesticida aproximadamente de 10 mg/L. Para ello, se pesó la cantidad adecuada de tiabendazol y se disolvió en 25 mL de metanol, esta solución se llevó a un matraz aforado de 1 L y se enrasó con la solución tampón. Para la preparación de las soluciones tamponadas se utilizaron mezclas de ácido cítrico 0,1 M y Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M.

Se prepararon dos soluciones acuosas de benomilo a pH 4, con un contenido en pesticida de 25 y 40 mg/L. Para ello, se pesó la cantidad adecuada de benomilo y se disolvió en 25 mL de metanol, esta solución se llevó a un matraz aforado de 1 L y se enrasó con la solución tampón. Para la preparación de las soluciones tamponadas se utilizaron mezclas de ácido cítrico 0,1 M y Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M.

### 3.3.- Tratamiento con radiación UV

El tratamiento fotoquímico con radiación UV es similar al descrito por Falguera *et al.* (2011a), que esencialmente consiste en una cámara oscura que contiene el tanque de reacción y la lámpara UV. Las muestras a irradiar, consisten en 800 mL de las soluciones de micotoxina o plaguicida, y se colocan en un tanque de metacrilato, en que la superficie de estas disoluciones se halla a 22,5 cm de la lámpara. Con el fin de controlar la temperatura de las muestras se dispone de un sistema de refrigeración consistente en un serpentín metálico alimentado con agua fría, lo que permite mantener la temperatura de la muestra a un valor determinado con una diferencia máxima de ± 1°C. La irradiación de las muestras se llevó a cabo a diferentes temperaturas. Para

asegurar que el tanque está perfectamente agitado se utilizó un agitador magnético. La fuente de irradiación es una lámpara de mercurio de media presión Philips HPM 12 (Philips, Eindhoven, The Netherlands) de 460 W de potencia nominal que emite en el intervalo de 250 a 740 nm. Una vez encendida la lámpara, se esperó 10 minutos antes de introducir la muestra a irradiar en el interior de la cámara. Las soluciones se irradiaron, tomando muestras a intervalos de tiempo definidos. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **3.4.- Determinaciones analíticas**

#### ***Determinación de patulina mediante cromatografía HPLC***

El contenido en patulina de las diferentes muestras ensayadas se determinó mediante un cromatógrafo HPLC 1260 (Agilent Technologies, Alemania) de acuerdo con el método descrito por Arranz *et al.* (2005). La columna analítica que se utilizó fue una ZORBAX Eclipse Plus C18 4,6x100 mm, 3,5  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies, Alemania). El detector utilizado fue DAD (Agilent Technologies, Alemania) a 276 nm. Los disolventes utilizados fueron agua desionizada ultrapura y acetonitrilo (Sigma, Alemania). Como fase móvil se utilizó una mezcla agua/acetonitrilo con una relación 99/1. El caudal de fase móvil fue de 1 mL/min y se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de las muestras a analizar. Las soluciones de las muestras acuosas de patulina fueron filtradas previamente mediante filtros de 0,45  $\mu\text{m}$  Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Alemania).

En el caso de las muestras de zumo de manzana, la patulina se tuvo que extraer de las muestras antes de ser inyectadas (Li *et al.*, 2007). Para la extracción de la patulina se utilizaron cartuchos AFFINIMIP (Polyintell, Francia) siguiendo la metodología facilitada por el fabricante. Los cartuchos se activaron con 2 mL de acetonitrilo, seguidos de 1 mL de agua desionizada ultrapura. Luego se filtraron 8 mL de las muestras de zumo, que contenían patulina. Con el fin de eliminar las posibles interferencias, el cartucho se lavó con 4 mL de ácido acético al 1% y 4 mL de agua desionizada ultrapura. Se eliminó toda el agua y luego se lavó el cartucho con 0,5 mL de dietil éter (Sigma, Alemania). A continuación la patulina adsorbida sobre el cartucho se eluyó con 2 mL de acetato de etilo, y se recogió en un tubo de punta cónica, añadiendo

una gota de ácido acético puro con el fin de evitar la degradación de patulina. Después esta disolución se secó mediante una corriente de nitrógeno. Finalmente, se disolvió con 0,5 mL de una disolución de ácido acético al 0,1 %. Para cuantificar la patulina se inyectó 1  $\mu$ L de esta solución en el cromatógrafo.

#### ***Determinación de ocratoxina A mediante cromatografía HPLC***

Para la determinación del contenido de ocratoxina A en las muestras se utilizaron el mismo cromatógrafo y columna descritos para la patulina. En este caso el detector utilizado fue el de fluorescencia (Agilent Technologies, Alemania), a longitudes de onda de 333 y 460 nm para la excitación y emisión, respectivamente. En este caso, la fase móvil es una solución agua/acetonitrilo/ácido acético con una relación 49/50/1, con un caudal de 1,2 mL/min. Se inyectaron 100  $\mu$ L de las soluciones acuosas que contenían la ocratoxina A. Estas disoluciones, previamente a su inyección, se filtraron con un filtro de 0,45  $\mu$ m Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Alemania).

En el caso de las muestras de mosto de uva la ocratoxina A fue extraída de las muestras previamente a su inyección (Lee *et al.*, 2012). Para la extracción de la ocratoxina A se utilizaron cartuchos AFFINIMIP (Polyintell, Francia) siguiendo la metodología facilitada por el fabricante. Los cartuchos se activaron con 4 mL de acetonitrilo, seguidos de 4 mL de agua desionizada ultrapura. Posteriormente, se filtraron 5 mL de las muestras de mosto clarificado de uva, que contenían ocratoxina A. Con el fin de eliminar las posibles interferencias, el cartucho se lavó con 7 mL de una solución de ácido clorhídrico a pH=1, 0,1 M/acetonitrilo (60/40) (v/v). La ocratoxina A adsorbida sobre el cartucho fue eluida con 2 mL de una solución de ácido acético/metanol con una relación 2/98 (v/v) y se recogió en un tubo de punta cónica. Después, esta disolución se secó mediante una corriente de nitrógeno. Finalmente, el residuo se disolvió con 0,5 mL de una disolución de la fase móvil, para su análisis posterior. Para cuantificar la ocratoxina A se inyectaron 100  $\mu$ L de esta solución en el cromatógrafo.

#### ***Determinación de tiabendazol mediante cromatografía HPLC***

Con el fin de cuantificar el tiabendazol, se utilizó el mismo equipo cromatográfico descrito anteriormente. El detector utilizado fue DAD a una longitud de onda de 301 nm. Como fase móvil se utilizó agua/acetonitrilo (80/20) (v/v), con un caudal de 1,5

mL/min. Se inyectaron 3  $\mu$ L de muestra. Las soluciones de las muestras acuosas de tiabendazol fueron filtradas previamente mediante filtros de 0,45  $\mu$ m Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Alemania).

#### ***Determinación de benomilo mediante cromatografía HPLC***

Con el fin de cuantificar el benomilo se utilizó el mismo equipo cromatográfico descrito anteriormente. El detector utilizado fue DAD a una longitud de onda de 286 nm. Como fase móvil se utilizó agua/acetonitrilo (40/60) (v/v), con un caudal de 1,5 mL/min. Se inyectaron 100  $\mu$ L de muestra. Las soluciones de las muestras acuosas de benomilo fueron filtradas previamente mediante filtros de 0,45  $\mu$ m Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Alemania).

#### ***Espectro de absorción***

Para la obtención de los espectros de absorción de los diferentes compuestos se prepararon soluciones específicas, realizándose un barrido de longitudes de onda entre 200 y 600 nm con un espectrofotómetro Helios Gamma (Termo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA), utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso.

#### ***pH.***

El pH de las muestras se midió con un pH-metro Crison micropH 2000 (Crison Instruments, S.A., Alella, España).

# 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



#### 4.1.- Actinometría. Potencia real de la lámpara.

La actinometría sirve para llevar a cabo el calibrado de la lámpara, o lo que es lo mismo calcular la potencia real de la lámpara. Para ello, en una operación en discontinuo, se han irradiado por duplicado soluciones acuosas de ácido oxálico (0,05 M) en presencia de sales de uranilo (0,001 M), que actúa como fotosensibilizador de la reacción. Los datos experimentales de la conversión de ácido oxálico (Ecuación 1.7-6) se han representado frente al tiempo de irradiación (Figura 4.1-1). Estos datos se han ajustado a una recta por el método de los mínimos cuadrados, obteniendo que tanto el ajuste como los estimados de los parámetros son significativos en un nivel de probabilidad del 95%. La recta obtenida en el ajuste es:

$$X = (3,67 \pm 8,48) \times 10^{-3} + (1,75 \pm 0,14) \times 10^{-4} t$$

con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9954$ .

Se observa que el intervalo de variación de la ordenada en el origen incluye el valor del origen, por lo que la variación de la conversión del ácido oxálico con el tiempo de irradiación puede expresarse como:

$$X = (1,75 \pm 0,14) \times 10^{-4} t \quad (4.1-1)$$

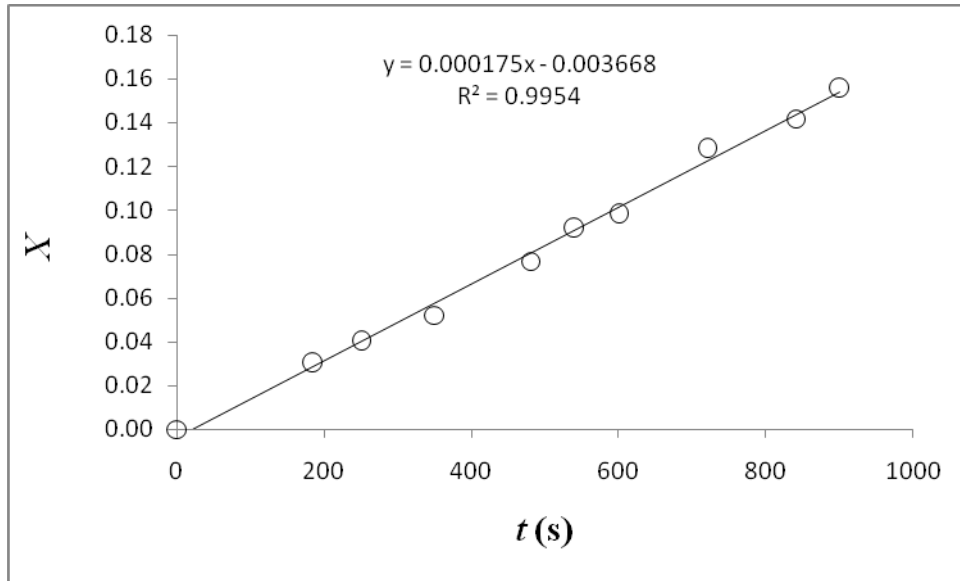
Al comparar esta última ecuación con la 1.7-5, el valor de la pendiente obtenida será (Ecuación 1.7-9):

$$m = \frac{1}{V C_0} P_L \left( \sum_{\lambda} \phi_{\lambda} F_{\lambda} \eta_{A,\lambda} \right) = 1,75 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$$

De la que se obtiene el valor de la potencia emitida por la lámpara:

$$P_L = \frac{m V C_0}{\sum_{\lambda} \phi_{\lambda} F_{\lambda} \eta_{A,\lambda}} \quad (4.1-2)$$





**Figura 4.1-1.-** Variación de la conversión de ácido oxálico con el tiempo de irradiación.

Mediante un programa de cálculo por ordenador, teniendo presentes la geometría del fotorreactor y las características de absorción de la solución reactante y de emisión de la lámpara (Tabla 1.7-1) es posible calcular el valor del denominador de la ecuación 4.1-2:

$$\sum_{\lambda} \phi_{\lambda} F_{\lambda} \eta_{A,\lambda} = 7,164 \times 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{einstein}} \quad (4.1-3)$$

Al sustituir en la ecuación 4.1-2, teniendo en cuenta el valor de la pendiente  $m$ , el volumen de reacción y la concentración inicial de ácido oxálico, se obtiene el valor de la potencia real total de la lámpara:

$$P_{\text{Emit,L}} = 1,23 \times 10^{-3} \frac{\text{einstein}}{\text{s}}$$

En la tabla 4.1-1 se muestran las potencias teóricas y reales de la lámpara para cada una de las longitudes de onda de emisión.

**Tabla 4.1-1.-** Características energéticas, teóricas y reales, de la lámpara.

$\lambda$ (nm)	Teórico			Real	
	$P_{\text{Emit},\lambda}$ (W)	$P_{\text{Emit},\lambda} \times 10^6$ (Einstein/s)	$F_{\lambda}$	$P_{\text{Emit},\lambda}$ (W)	$P_{\text{Emit},\lambda} \times 10^6$ (Einstein/s)
255	0,253	0,539	0,00032	0,186	0,397
265	0,505	1,118	0,00067	0,372	0,823
275	2,905	6,676	0,00400	2,139	4,917
285	7,326	17,448	0,01045	5,395	12,850
295	17,178	42,350	0,02536	12,650	31,188
305	7,579	19,318	0,01157	5,581	14,226
315	10,104	26,599	0,01593	7,441	19,589
325	10,735	29,159	0,01746	7,906	21,474
335	3,536	9,901	0,00593	2,604	7,291
345	3,536	10,196	0,00610	2,604	7,509
355	13,893	41,219	0,02468	10,232	30,355
365	32,587	99,404	0,05952	23,998	73,204
375	28,546	89,462	0,05356	21,022	65,883
385	8,588	27,633	0,01654	6,325	20,350
395	9,094	30,022	0,01797	6,697	22,109
405	33,849	114,571	0,06860	24,928	84,374
415	91,950	318,911	0,19094	67,715	234,858
425	40,670	144,455	0,08649	29,951	106,382
435	18,567	67,499	0,04041	13,673	49,709
445	15,788	58,718	0,03516	11,627	43,242
455	2,021	7,683	0,00460	1,488	5,658
465	1,516	5,890	0,00353	1,116	4,338
475	1,011	4,013	0,00240	0,744	2,955
485	1,263	5,118	0,00306	0,930	3,769
495	2,905	12,017	0,00720	2,139	8,850
505	2,527	10,663	0,00638	1,861	7,853
515	2,021	8,697	0,00521	1,488	6,404
525	1,389	6,095	0,00365	1,023	4,489
535	2,527	11,297	0,00676	1,861	8,319
545	9,094	41,422	0,02480	6,697	30,505
555	4,925	22,846	0,01368	3,627	16,825
565	1,516	7,157	0,00429	1,116	5,271
575	7,830	37,629	0,02253	5,767	27,711
585	13,135	64,220	0,03845	9,673	47,294
595	8,336	41,454	0,02482	6,139	30,528
605	3,158	15,967	0,00956	2,326	11,759
615	3,031	15,581	0,00933	2,232	11,474
625	1,516	7,917	0,00474	1,116	5,830
635	1,389	7,372	0,00441	1,023	5,429
645	2,905	15,659	0,00938	2,139	11,532
655	1,516	8,297	0,00497	1,116	6,110
665	1,894	10,527	0,00630	1,395	7,752
675	9,094	51,303	0,03072	6,697	37,781
685	6,441	36,875	0,02208	4,744	27,156
695	1,136	6,600	0,00395	0,837	4,860
705	1,136	6,694	0,00401	0,837	4,930
715	2,400	14,340	0,00859	1,767	10,560
725	1,642	9,950	0,00596	1,209	7,328
735	3,536	21,722	0,01301	2,604	15,997

## 4.2.- Potencia absorbida en el interior del fotorreactor

Una de las variables más importantes que intervienen en los procesos fotoquímicos es la potencia radiante que absorbe la solución contenida en el medio de reacción. Generalmente, se conoce la potencia que emite una lámpara, así como la potencia radiante que llega a la superficie de un reactor plano; sin embargo, la radiación absorbida por la solución es la que realmente produce los efectos pertinentes sobre los compuestos contenidos en el medio de reacción.

Para un reactor plano de longitud  $A$ , anchura  $B$  y profundidad  $C$ , con una lámpara cilíndrica de longitud  $L$ , centrada con respecto al reactor (Figura 4.2-1), considerando un modelo de emisión lineal esférico (Falguera *et al.*, 2011b), la potencia radiante espectral que alcanza un determinado punto en el interior de la disolución, de coordenadas  $(x, y, z)$ , se puede expresar como:

$$P(x, y, z) = \sum_{\lambda} P_{\lambda}(x, y, z) = \sum_{\lambda} \frac{P_{\text{emit},\lambda} / L}{4\pi D^2} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) dy_L \quad (4.2-1)$$

$$\text{siendo:} \quad D^2 = (x - x_0)^2 + (y - y_L)^2 + (z - z_0)^2 \quad (4.2-2)$$

$$\sin \beta = \frac{z_0 + z}{D} \quad (4.2-3)$$

La potencia espectral radiante incidente que alcanza una determinada profundidad del reactor,  $P(z)$ , se obtiene por integración de la ecuación (4.2-1) para las direcciones  $x$  e  $y$  para un valor específico de  $z$ :

$$P(z) = \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} P_{\lambda}(x, y, z) dx dy = \sum_{\lambda} \frac{P_{\text{emit},\lambda} / L}{4\pi} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{\exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right)}{D^2} dy_L dx dy \quad (4.2-4)$$

Los valores de la potencia espectral radiante incidente se corresponde con el valor de  $P(z)$  para  $z = 0$ ; mientras que la potencia espectral radiante en el fondo del reactor es la correspondiente para  $z = C$ . Aunque la radiación total absorbida por la solución depende de la radiación incidente que alcanza la superficie del reactor, sólo una fracción de esta radiación incidente será absorbida. De hecho, incluso la radiación incidente sobre la superficie podría no ser absorbida.

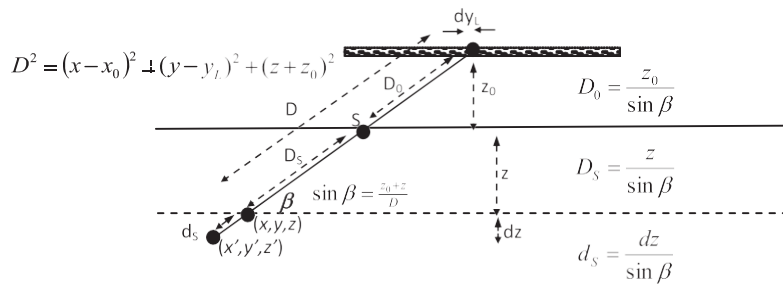
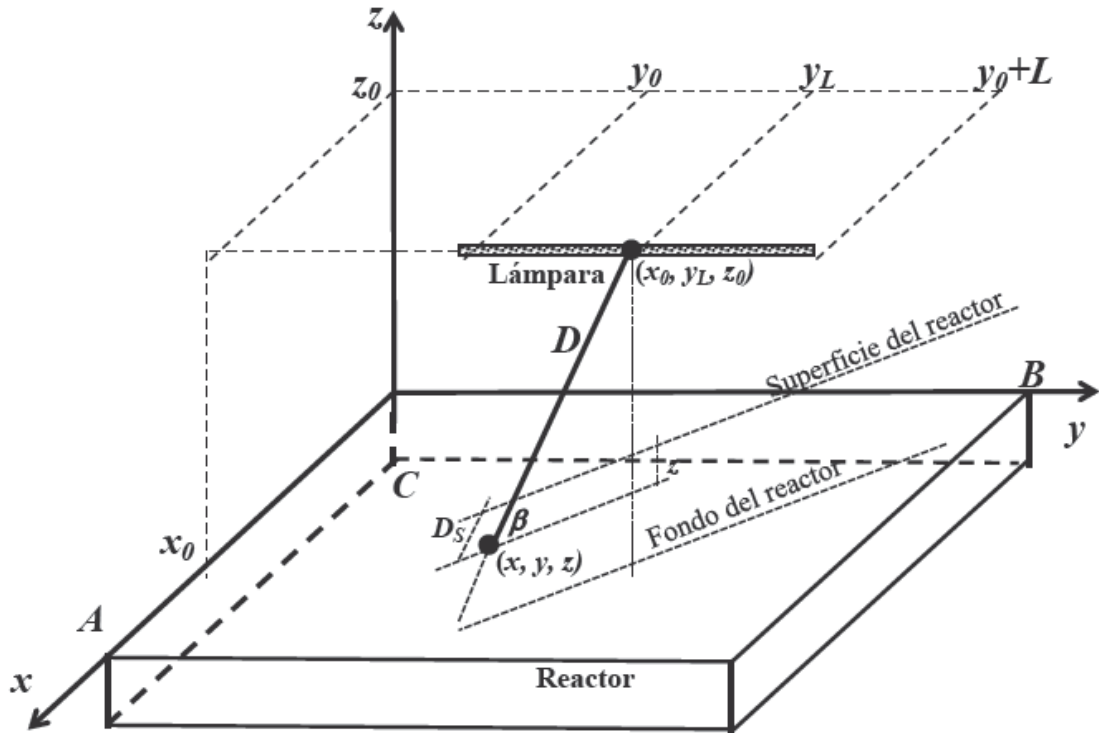


Figura 4.2-1.- Esquema y geometría de un fotorreactor plano.

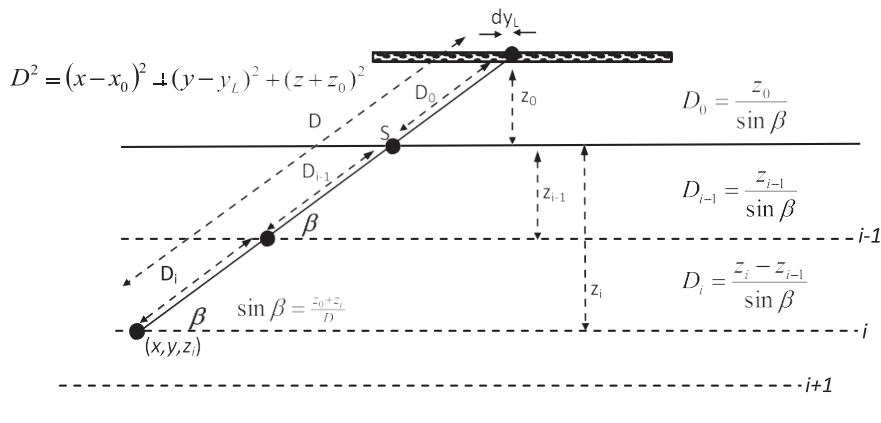


Figura 4.2-2.- Esquema de un fotorreactor plano dividido en capas.

Si se considera un punto  $(x', y', z')$  a una distancia infinitesimal del punto  $(x, y, z)$ , la potencia radiante espectral que llega a este segundo punto después de atravesar este paso infinitesimal ( $d_s$ ), es:

$$P_{\lambda}(x', y', x') = P_{\lambda}(x, y, x) \exp(-\mu_{\lambda} d_s) \quad (4.2-5)$$

siendo 
$$d_s = \frac{dz}{\sin \beta} \quad (4.2-6)$$

Para cualquier concentración del compuesto que absorbe la radiación, la potencia radiante espectral absorbida para este diferencial de paso, entre los dos puntos separados por la distancia infinitesimal  $d_s$ , se expresará como un diferencial de potencia absorbida:

$$dP_{\text{abs},\lambda}(x, y, x) = P_{\lambda}(x, y, x) - P_{\lambda}(x', y', x') = P_{\lambda}(x, y, x) [1 - \exp(-\mu_{\lambda} d_s)] \quad (4.2-7)$$

La potencia radiante espectral absorbida por la disolución contenida en el volumen de reacción, para todas las longitudes de onda y para toda la lámpara, se obtiene a partir de la ecuación:

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{\text{emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} \left( -\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta} \right) \left[ 1 - \exp\left( \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} \right) \right] dy_L dx dy dz \quad (4.3-9)$$

Esta ecuación se debe resolver utilizando métodos numéricos. Por ello, con el fin de calcular  $P_{\text{Abs}}$ , el reactor se ha dividido en un cierto número de capas (Figura 4.2-2), de modo que la potencia absorbida entre las capas  $z_{i-1}$  y  $z_i$  será:

$$dP_{\text{abs},\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) = \frac{dP_{\lambda}(z_{i-1}) 4\pi (D_{i-1} + D_0)^2 - dP_{\lambda}(z_i) 4\pi D^2}{4\pi D^2} \quad (4.2-10)$$

En la que la potencia radiante en cada capa se expresa como:

$$dP_{\lambda}(z_{i-1}) = \frac{P_{\text{Emit},\lambda}/L}{4\pi(D_{i-1} + D_0)^2} dy_L \exp(-\mu_{\lambda}D_{i-1}) \quad (4.2-11)$$

$$dP_{\lambda}(z_{i-1}) = \frac{P_{\text{Emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L \exp[-\mu_{\lambda}(D - D_0)] \quad (4.2-12)$$

Sustituyendo estas expresiones en la ecuación 4.2-10 se obtiene:

$$dP_{\text{abs},\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) = \frac{P_{\text{emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L \{ \exp(-\mu_{\lambda}D_{i-1}) - \exp[-\mu_{\lambda}(D - D_0)] \} \quad (4.2-13)$$

La potencia total absorbida por todo el volumen de reacción para todas las longitudes de onda se puede expresar como:

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \sum_{i(z)=1}^{i(z)=n} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} dP_{\text{Abs},\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) dx dy \quad (4.2-14)$$

Al sustituir la ecuación 4.2-13 se obtiene:

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \sum_{i(z)=1}^{i(z)=n} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{\text{emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L \{ \exp(-\mu_{\lambda}D_{i-1}) - \exp[-\mu_{\lambda}(D - D_0)] \} dx dy \quad (4.2-15)$$

Para obtener el valor de la potencia radiante absorbida es necesario resolver esta ecuación para cada valor de la concentración, para ello se puede utilizar el método numérico de Simpson.

La ecuación 4.2-15 se puede utilizar para cualquier valor de la concentración de la solución reactante; sin embargo, en el caso de que se trate de soluciones diluidas, con bajas concentraciones del compuesto que absorbe la radiación, se puede llegar a obtener una ecuación simplificada. Así, para soluciones diluidas, los valores de la absorbancia ( $\mu_{\lambda}$ ) son bajos, de modo que la ecuación 4.2-5 puede simplificarse, y la potencia radiante espectral que llega al punto ( $x', y', z'$ ) después de atravesar un paso infinitesimal ( $d_s$ ) será:

$$P_{\lambda}(x', y', x') \approx P_{\lambda}(x, y, x)(1 - \mu_{\lambda} d_s) \quad (4.2-16)$$

La potencia radiante espectral infinitesimal absorbida por la solución entre los puntos separados por una distancia infinitesimal es:

$$dP_{\text{abs},\lambda}(x, y, x) = P_{\lambda}(x, y, x) - P_{\lambda}(x', y', x') \approx P_{\lambda}(x, y, x)(\mu_{\lambda} d_s) \quad (4.2-17)$$

De esta forma, para bajas concentraciones de absorción de luz, la potencia radiante espectral absorbida por unidad de volumen por toda la disolución y toda la lámpara es:

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{\text{emit},\lambda}/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\varepsilon_{\lambda} C \frac{z}{\sin \beta}\right) \varepsilon_{\lambda} C \frac{dz}{\sin \beta} dy_L dx dy dz \quad (4.2-18)$$

Al igual que la ecuación 4.2-15, para resolver esta última ecuación es necesario recurrir a métodos numéricos.

Este tipo de ecuación ha sido utilizado por otros autores (Esplugas *et al.*, 1983; Alfano *et al.*, 1990; Rossetti, *et al.*, 2004), pero teniendo presente que se puede aplicar en el caso de soluciones diluidas, en las que el coeficiente de absorción presenta valores bajos.

Con el fin de llevar a cabo una aplicación práctica, se han utilizado soluciones de patulina (PAT) para obtener los valores de las potencias radiantes absorbidas por estas disoluciones. En la Figura 4.2-3 se muestra el espectro de absorción de soluciones de patulina con un contenido de 25 mg/L de dicha toxina. Este espectro muestra que la solución de patulina absorbe en el intervalo de 200 a 355 nm. Si se observa el espectro de emisión de la lámpara (Figura 3.2-4), las longitudes de onda coincidentes entre la emisión de la lámpara y las de absorción de la patulina están dentro del intervalo de 255 a 355 nm. Por consiguiente, la fracción de energía que emite la lámpara en este intervalo de longitudes de onda es la que será absorbida por la patulina.

A partir del espectro de absorción de la patulina (Figura 4.2-3) y su concentración es posible calcular los valores de los coeficientes de extinción molar ( $\varepsilon_{\lambda}$ ) para las diferentes longitudes de onda y calcular el coeficiente de absorción para cualquier concentración. La tabla 4.2-1 muestra los valores de los coeficientes de extinción molar

y los coeficientes de absorción para soluciones de 50  $\mu\text{g/L}$  y 100  $\mu\text{g/L}$  para las longitudes de onda comprendidas entre 255 y 355 nm.

**Tabla 4.2-1.-** Coeficientes de extinción molar de patulina y coeficientes de absorción para concentraciones de patulina de 50  $\mu\text{g/L}$  y 100  $\mu\text{g/L}$ , a diferentes longitudes de onda.

$\lambda$ (nm)	$\varepsilon_\lambda$ ( $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	$\mu$ ( $C = 50 \mu\text{g/L}$ ) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\mu$ ( $C = 100 \mu\text{g/L}$ ) ( $\text{cm}^{-1}$ )
255	20402,4	0,0066	13,24
265	29474,7	0,0096	19,13
275	33630,0	0,0109	21,82
285	29725,0	0,0096	10,29
295	17494,6	0,0057	11,35
305	5648,9	0,0018	3,67
315	543,0	0,0002	0,35
325	376,2	0,0001	0,24
335	346,4	0,0001	0,22
345	340,7	0,0001	0,22
355	339,3	0,0001	0,22

Para calcular el valor de la potencia radiante espectral absorbida las ecuaciones 4.2-15 y 4.2-18 se resuelven utilizando una hoja de cálculo utilizando el método de integración por Simpson. En la Figura 4.3-4 se muestran los valores calculados utilizando ambas ecuaciones. En esta figura se observa que si las concentraciones de patulina son inferiores a 50  $\mu\text{g/L}$  el resultado de ambas ecuaciones coincide. Sin embargo, para concentraciones elevadas, los resultados obtenidos con ambas ecuaciones difieren notablemente una de la otra. Lo que indica que la ecuación simplificada no se podría aplicar, ya que conllevaría la obtención de resultados erróneos. Los resultados obtenidos con la ecuación 4.2-15 muestran que, para concentraciones elevadas, tienden asintóticamente a un valor que coincide con el valor de la potencia radial espectral



incidente en la superficie del reactor. Para valores elevados de concentración, toda la radiación que llega al reactor es absorbida por la sustancia, de forma que un aumento de esta concentración no provoca ningún aumento en la cantidad de radiación absorbida.

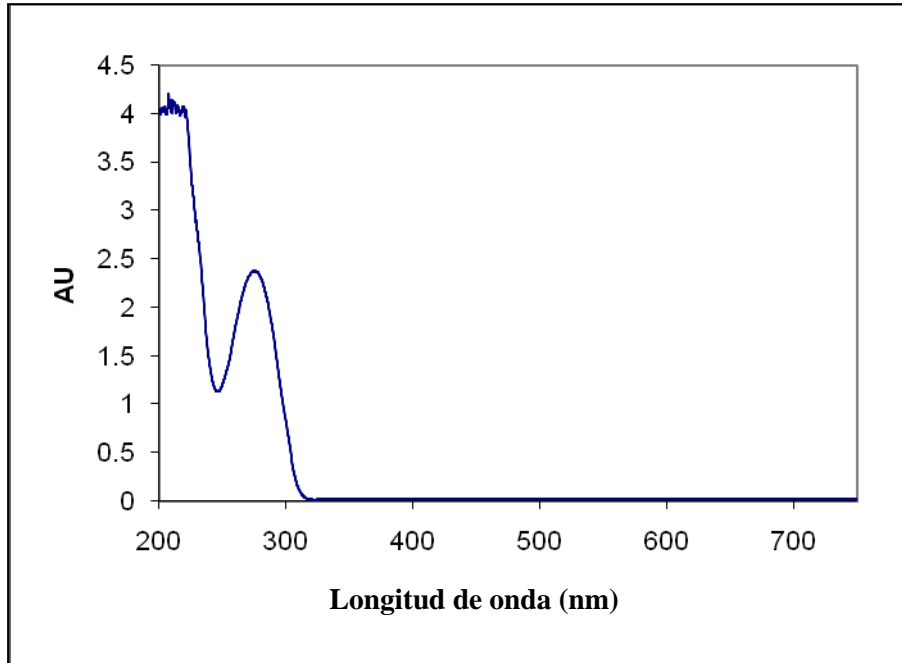


Figura 4.2-3.- Espectro de absorción de una solución acuosa de patulina de 25 mg/L.

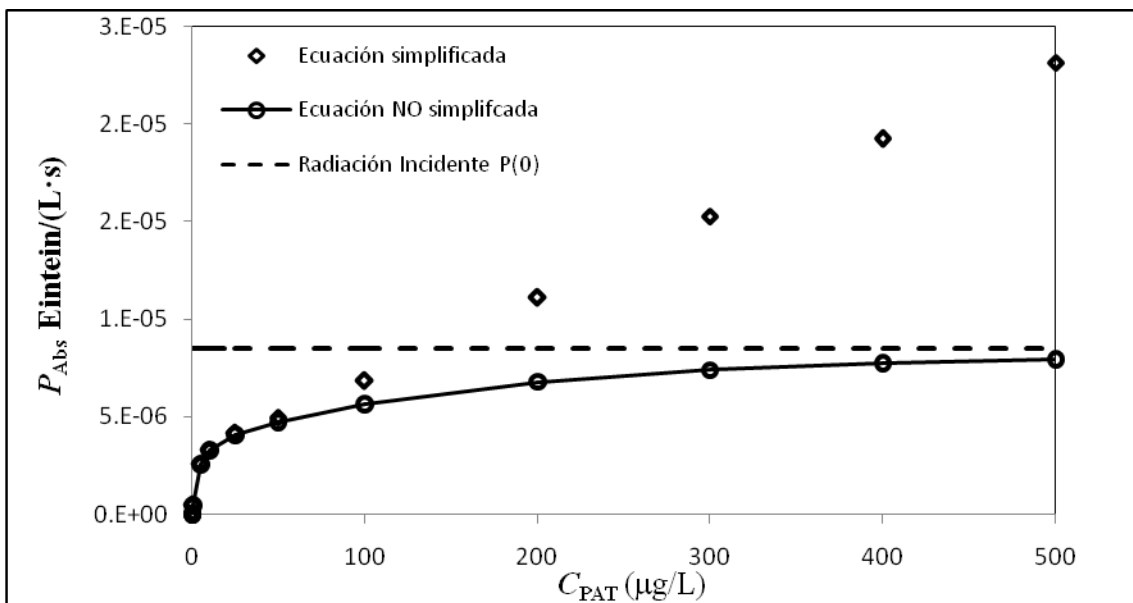
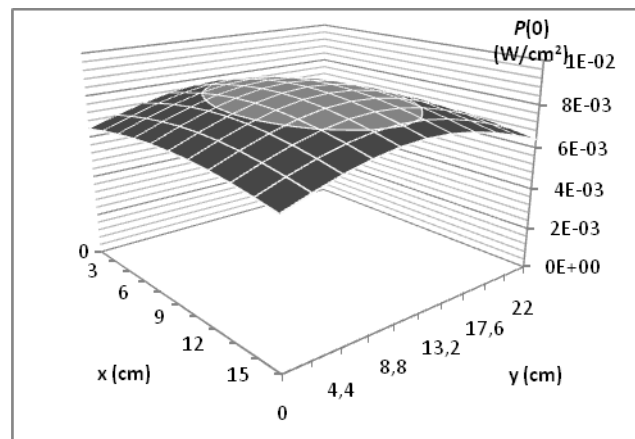
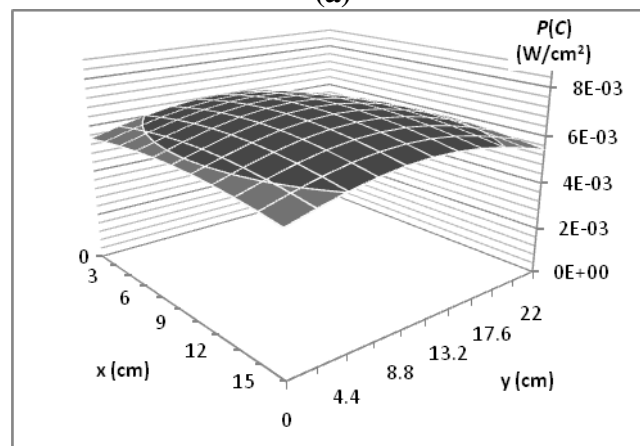


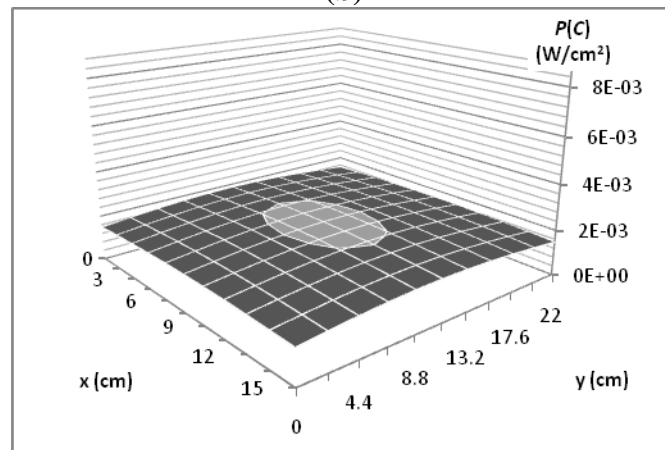
Figura 4.2-4.- Potencia radiante espectral en función de la concentración de patulina.



(a)



(b)



(c)

**Figura 4.2-5.-** Potencia radiante espectral incidente.

(a). En la superficie del reactor,  $P(0)$ .

(b). En el fondo del reactor,  $P(C)$ , para solución de patulina de  $50\ \mu\text{g}/\text{L}$ .

(c). En el fondo del reactor,  $P(C)$ , para solución de Patulina de  $100\ \mu\text{g}/\text{L}$ .

La Figura 4.2-5 muestra la potencia radiante espectral incidente que alcanza cada uno de los puntos de la superficie del reactor ( $P(x,y, z = 0)$ ), así como su valor en el fondo del reactor ( $P(x,y, z = C)$ ), obtenida a partir de la 4.2-1 en función de las otras coordenadas  $x$  e  $y$ , para concentraciones de patulina de 50  $\mu\text{g/L}$  y 100  $\mu\text{g/L}$ . Se puede ver, tal como era de esperar, que la radiación en el fondo es menor que en la superficie y que cuanto mayor es la concentración de patulina en la solución mayor es la diferencia existente entre la radiación que llega a la superficie y la que alcanza el fondo del reactor. Para la concentración más elevada, de 100  $\mu\text{g/L}$ , la potencia de radiación espectral que alcanza el fondo del reactor es casi nula, lo que está de acuerdo con la conclusión de que para concentraciones lo suficientemente elevadas la práctica totalidad de la radiación incidente es absorbida por la solución. La integración de la ecuación 4.2-1 para todos los valores de los ejes  $x$  e  $y$  (Ecuación 4.2-4) permite obtener la potencia radiante espectral incidente que alcanza la superficie del reactor ( $P(0)$ ) y el correspondiente valor en el fondo del reactor ( $P(C)$ ). El valor  $P(0)$  siempre es de 255 W, y su valor no depende ni de la concentración ni del compuesto contenido en la solución reaccionante ya que todavía no ha tenido lugar ninguna absorción de la radiación. El valor de  $P(C)$  depende de la sustancia contenida en la solución y de su concentración, habiendo obtenido valores de 2,11 y 0,60 W para soluciones de patulina de concentración 50  $\mu\text{g/L}$  y 100  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente.

Con el fin de clarificar si la radiación UV puede ser absorbida en su totalidad por la solución y cuál es la profundidad que alcanza en el seno de la disolución, se ha evaluado la relación existente entre la potencia radiante espectral absorbida por toda la solución y la potencia radiante espectral incidente en la superficie del reactor. La Figura 4.2-6 muestra cómo esta relación depende del coeficiente de absorción y de la profundidad en el seno de la disolución. El intervalo de coeficientes de absorción considerados ha sido de 0,1 a 100  $\text{cm}^{-1}$ . Koutchma (2009b) ha mostrado valores de coeficientes de absorción en base 10 de logaritmos para zumos de frutas, que convertidos a base e de logaritmos neperianos, se corresponden a 34,5  $\text{cm}^{-1}$  para zumo de manzana clarificado, 59,6  $\text{cm}^{-1}$  para zumo de manzana, 54,3  $\text{cm}^{-1}$  para zumo de sandía y 92  $\text{cm}^{-1}$  para sidra de manzana. Los zumos de frutas con pulpa y partículas en suspensión muestran valores más elevados de coeficientes de absorción, así, el zumo de naranja con pulpa muestra un valor de 110,2  $\text{cm}^{-1}$ . Otros zumos, tales como el de zanahoria y el de piña muestran valores tan altos como 138  $\text{cm}^{-1}$ . En la Figura 4.2-6 se muestra cómo la relación entre la

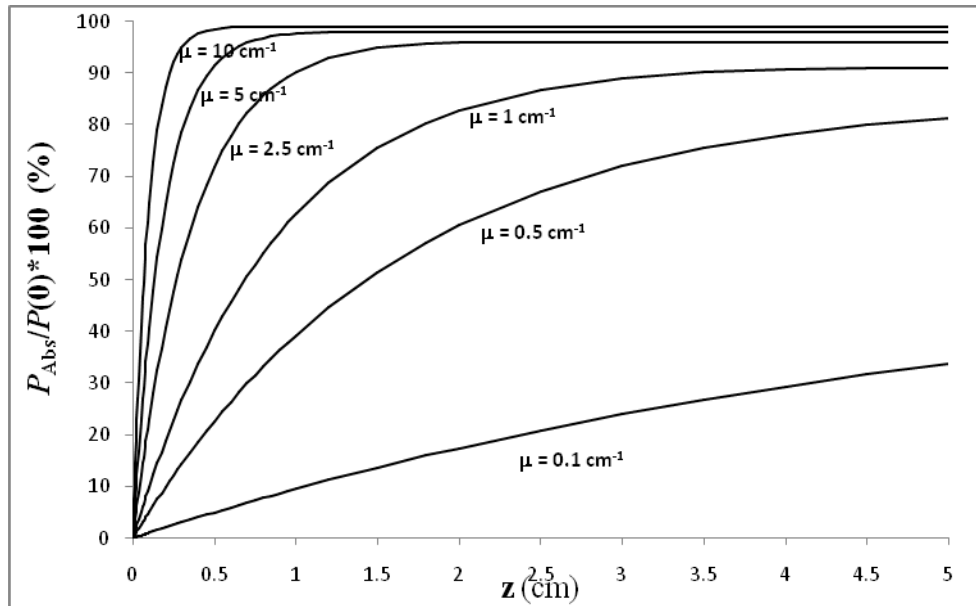
potencia absorbida y la potencia incidente aumenta de forma asintótica cuando la profundidad del reactor aumenta., alcanzando un valor de 100% para altos coeficientes de absorción. Tal como se puede esperar, también se observa que cuanto mayor es el coeficiente de absorción menor es la profundidad necesaria para absorber toda la radiación que la disolución puede llegar a absorber. Para un coeficiente de absorción de  $0,1 \text{ cm}^{-1}$ , apenas el 30% de la radiación que incide en la superficie del reactor es absorbida en los primeros 4 cm; mientras que para un valor de  $100 \text{ cm}^{-1}$ , se absorbe el 99% en los primeros 0,05 cm. La Tabla 4.2-2 muestra la profundidad que se necesita para absorber el 50% y el 90% de la radiación incidente en la superficie del reactor. Los valores normales de los coeficientes de absorción para zumos están comprendidos entre 50 y  $100 \text{ cm}^{-1}$ , de modo que la radiación incidente se absorbe en menos de 1 mm de profundidad, con lo que la radiación absorbida por la disolución será prácticamente el total de la radiación incidente. Sin embargo, aunque los zumos de frutas muestran una capacidad de absorber la casi totalidad de la radiación incidente, solamente la radiación que es absorbida por las moléculas de patulina será capaz de producir la reacción deseada y la radiación absorbida por otras especies no tendrá efecto sobre la reacción de degradación de la patulina por la radiación.

El valor asintótico observado en la Figura 4.2-6 es la fracción máxima de la radiación incidente que se puede absorber si la profundidad del reactor es suficiente y depende del coeficiente de absorción. Cuando la profundidad del reactor es suficiente para un determinado valor del coeficiente de absorción, un aumento mayor en su profundidad no conducirá a una mayor absorción de la radiación. En el caso que no toda la radiación sea absorbida por el medio de reacción, todas las trayectorias de los haces de rayos de luz emitidos por la lámpara que entran al reactor también lo abandonarán, algunas por el fondo y algunas a través de las superficies laterales del reactor. Los caminos más cortos a través de la disolución son aquellos que entran al reactor cerca de los bordes y salen por el área superior de las superficies laterales. Los haces de luz que siguen estos caminos más cortos únicamente serán absorbidos en su totalidad por la solución contenida en el reactor si el coeficiente de absorción de la misma es lo suficientemente elevado. Cuanto mayor sea el coeficiente de absorción menor será el número de haces de luz que salgan del reactor sin que sean totalmente absorbidos. Por consiguiente, para una determinada profundidad del reactor y un determinado valor del coeficiente de absorción, si ambos son lo suficientemente elevados ninguno de los haces de luz incidentes saldrá por el fondo del reactor. Si el coeficiente de absorción es lo

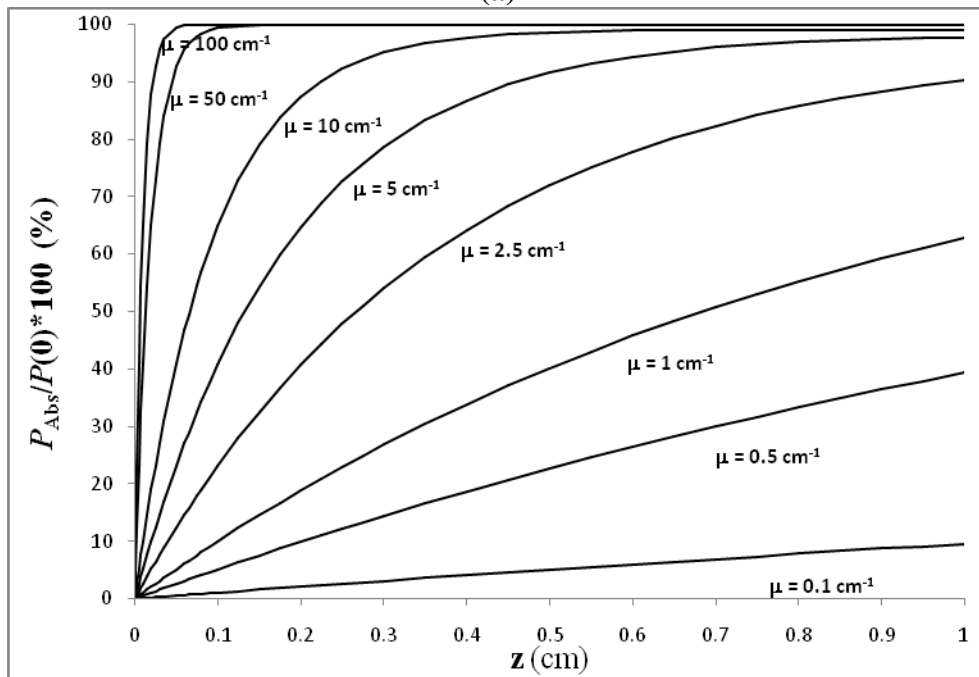
suficientemente elevado, el 100% de la luz incidente será absorbida en su totalidad. La Tabla 4.2-2 también muestra la dependencia de este valor asintótico sobre el coeficiente de absorción.

**Tabla 4.2-2.-** Valores de la asíntota y de la profundidad para conseguir una radiación absorbida del 50% y 90% de la radiación incidente en la superficie del reactor, para coeficientes de absorción en el intervalo de 0,1 a 100 cm<sup>-1</sup>.

$\mu$ (cm <sup>-1</sup> )	Asíntota (%)	$z$ (50 %) (cm)	$z$ (90 %) (cm)
0,1	54,6	11	235
0,5	84,1	1,5	25
1,0	91,0	0,7	3
2,5	95,9	0,27	1
5,0	97,9	0,13	0,5
10	98,9	0,066	0,22
50	99,8	0,014	0,047
100	99,9	0,0072	0,021



(a)



(b)

**Figura 4.2-6.-** Relación potencia radiante espectral absorbida/potencia radiante espectral incidente en la superficie del reactor en función de la profundidad y del coeficiente de absorción.

- (a). En los primeros 5 cm de profundidad y valores del coeficiente de absorción entre  $0,1$  y  $10 \text{ cm}^{-1}$ .
- (b). En el primer cm de profundidad y valores del coeficiente de absorción entre  $0,1$  y  $100 \text{ cm}^{-1}$ .

### 4.3.- Fotodegradación de patulina

La patulina es una micotoxina producida por hongos de deterioro de frutas, en particular *Penicillium*, *Aspergillus* y *Byssoschlamis* spp., siendo el *Penicillium expansum* es el más relevante (Bosco y Mollea, 2012). La patulina se puede encontrar mayoritariamente en manzana y productos derivados de la manzana, aunque también puede contaminar otros productos (Moake *et al.*, 2005; Sant'Ana, Rosenthal, y de Massaguer, 2008). Marín *et al.* (2011) publicaron una encuesta desde el año 2000, mostrando un promedio de 47% de positivos en patulina para muestras de zumos y néctares de manzana.

Debido a que se ha demostrado que la patulina puede ser mutagénica y provocar efectos neurotóxicos, inmunotóxicos, genotóxicos y gastrointestinales en roedores (Hopkins, 1993), el límite máximo de tolerancia en zumos se ha establecido en 50 µg/L (European Comission, 2003; FDA-U.S. Food and Drug Administration; WHO, 1995).

La contaminación por patulina de los productos derivados de la manzana se debería minimizar mediante la eliminación y retirada de la fruta podrida y dañada (Codex Alimentarius Comission, 2003; FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003). Sin embargo, una única manzana contaminada en un lote de hasta 1000 manzanas puede provocar un contenido más alto que el nivel permitido (Salomao *et al.*, 2008). Además, el crecimiento microbiano puede tener lugar internamente, como consecuencia de varios tipos de daños, y puede dar como resultado que haya patulina en frutos que externamente no presenten daño alguno (Bosco y Mollea, 2012) y la contaminación también puede aparecer o aumentar durante el almacenamiento de las frutas. Por lo que el moho se debería eliminar en las frutas frescas y se debería encontrar un método efectivo para eliminar la patulina sin modificar la calidad del producto final. Como en el procesado del zumo no se puede eliminar la patulina (Acar *et al.*, 1998) y es altamente resistente a la pasteurización (Wheeler *et al.*, 1987), se han estudiado muchos métodos alternativos para eliminar esta micotoxina en zumos de manzana. Estos métodos incluyen filtración (Huebner *et al.*, 2000), adsorción (Kadikal y Nas, 2002), ozono (McKenzie *et al.*, 1997), presión (Bruna *et al.*, 1999), radiación ionizante (Zegota *et al.*, 1988), pulsos de luz (Funes *et al.*, 2013) y aditivos químicos tales como compuestos de sulfuro (Burroughs, 1977), ácido ascórbico (Brackett y Marth, 1979), hidrocloreuro de tiamina, hidrocloreuro de piridoxina y pantotenato cálcico (Yazici y Velioglu, 2002), benzoato sódico (Roland *et al.*, 1984), sorbato potásico y

propionatosódico (Lennox y McElroy, 1984). Muchos de estos métodos alternativos provocan grandes cambios al zumo final o no son capaces de eliminar el contenido total de patulina.

La radiación UV ha sido ampliamente aplicada en las industrias para desinfectar agua para beber, en la desinfección de aire y superficies, y en la degradación de toxinas (Falguera *et al.*, 2011d). Dong *et al.* (2010) informaron que la radiación UV a la exclusiva longitud de onda germicida (254 nm) podría dar lugar a una reducción y/o eliminación de patulina en sidra de manzana y zumos derivados sin afectar el producto final. Assatarakul *et al.* (2012) concluyeron que la reacción de eliminación de patulina por radiación UV sigue una cinética de primer orden, mientras que Tikekear *et al.* (2013) concluyeron que eran necesarios tiempos superiores a los utilizados en la reducción de microorganismos patógenos. Zhu *et al.* (2014) han estudiado la degradación de patulina a diferentes longitudes de onda)

Todos los trabajos que han estudiado la degradación de patulina con radiación UV han utilizado una lámpara que emite exclusivamente a la longitud de onda germicida de 254 nm y ninguno de ellos propone un mecanismo de reacción, ni han evaluado la potencia radiante espectral absorbida por la disolución o su dependencia de la concentración de patulina y la potencia radiante espectral incidente a diferentes profundidades en el reactor. En todos los casos, estudiaron el efecto de la dosis de radiación incidente en la superficie del reactor, midiendo la intensidad incidente en la superficie del líquido mediante un radiómetro, pero sin evaluar la energía absorbida, que es el parámetro que realmente influye en la reacción. De hecho, la intensidad incidente en la superficie es distinta a la intensidad que incide a cualquier profundidad del reactor. Por ello, en este apartado se pretende estudiar la degradación de patulina con una lámpara que emite a diferentes longitudes de onda, con el fin de conocer si el tiempo necesario para la reducción con las lámparas que emiten exclusivamente a 254 nm es similar al tiempo necesario de reducción de patulina si se utiliza una lámpara que emite en un espectro más amplio y que coincide con el espectro de absorción de la patulina. Asimismo, se propone un mecanismo de reacción, relacionado con la potencia absorbida, que ajusta los datos experimentales a una cinética de primer orden.

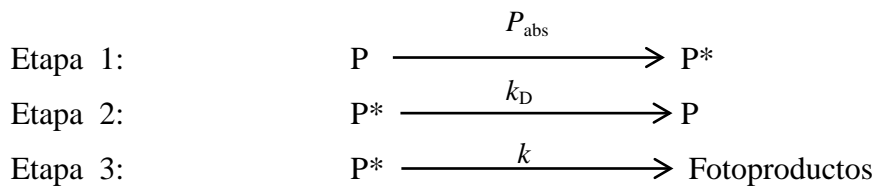
Dependiendo de la variedad y estado de maduración de las manzanas, el zumo tiene un *pH* que puede variar entre 3,5 y 4,2, mientras que el agua de lavado presenta un *pH* cercano a la neutralidad. Por ello, se han irradiado soluciones acuosas de patulina de *pH*



4 y 7. También se ha estudiado la degradación de la patulina que se ha añadido a un zumo de manzana reconstituido a partir de uno concentrado.

#### 4.3.1.- Mecanismo de fotodegradación de patulina

Para la degradación fotoquímica de patulina se supone un mecanismo de reacción análogo al mostrado en el apartado 1.5.5. De este modo, el esquema de reacción es el siguiente:



Este mecanismo de fotodegradación consta de tres etapas, en la que en la primera se supone que la molécula de patulina absorbe la radiación pasando de su estado fundamental (P) a un estado excitado (P\*). La molécula en su estado excitado puede decaer a su estado fundamental o degradarse para dar fotoproductos. Al suponer estado pseudoestacionario para el intermedio excitado P\*, la velocidad intensiva de reacción se expresa como:

$$r_p = -K_p P_{\text{abs}} \quad (4.3-1)$$

En la que  $K_p$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$ , de modo que:

$$K_p = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (4.3-2)$$

De acuerdo con el mecanismo propuesto, la constante  $K_p$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de P degradados por mol de fotones (Einstein) absorbidos.

Las irradiaciones se han llevado a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen  $V$ , trabajando en discontinuo. Si se aplica un balance de materias para la patulina, se obtiene:

$$\frac{d C_P}{d t} = \frac{1}{V} \int_V r_P dV \quad (4.3-3)$$

Al introducir la expresión de la velocidad de reacción (Ec. 4.3-1), se obtiene:

$$\frac{d C_P}{d t} = -K_P P_{abs} \quad (4.3-4)$$

Para integrar esta ecuación es preciso conocer la relación que existe entre  $P_{abs}$  y la concentración de patulina ( $C_P$ ). Para valores bajos de concentración, tal como se ha mostrado en el apartado 4.2, usualmente existe una relación lineal, de modo que se tiene:

$$P_{abs} = k_R C_P \quad (4.3-5)$$

Esta relación lineal posiblemente es debida al hecho de que a lo largo del proceso de irradiación la concentración de patulina disminuye y, en consecuencia, también lo hará el flujo de radiación absorbido por la patulina.

Sustituyendo esta última ecuación en la del balance de materias (Ec. 4.3-4) se puede integrar, de modo que la concentración de patulina a lo largo de la irradiación se expresará según la ecuación:

$$C_P = C_P^0 \exp(-m_P t) \quad (4.3-6)$$

en la que:

$$m_P = K_P k_R \quad (4.3-7)$$

siendo  $C_P$  y  $C_P^0$  las concentraciones de patulina para un tiempo cualquiera y a tiempo inicial, respectivamente.

Por lo tanto, a partir del mecanismo cinético de fotodegradación propuesto, se obtiene que la degradación fotoquímica de patulina se ajusta a una ecuación cinética de primer orden, con una constante global de fotodegradación  $m_P$ .

#### 4.3.2.- Potencia radiante absorbida en función de la concentración de patulina

En la Figura 4.2-3 se muestra el espectro de absorción de una solución acuosa de patulina, donde se observa que este compuesto presenta una banda de absorción entre 200 y 355nm. Si se observa el espectro de emisión de la lámpara utilizada en el presente trabajo (Figura 3.2-4), presenta unas bandas de emisión entre 255 y 355 nm, que coinciden con el intervalo de absorción de la patulina. Por tanto, es de esperar que la energía emitida por la lámpara en este intervalo de longitudes de onda sea absorbida por la patulina, lo que puede provocar posibles reacciones fotoquímicas de degradación de este compuesto. A partir de la Figura 4.2-3 es posible obtener los valores de los coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_{\lambda}$ ) para diferentes longitudes de onda (Tabla 4.3-1). Se observa que los valores de absorbancia son bajos, con lo que no existirán problemas de penetración de la radiación a través de la solución reactante (Falguera *et al.*, 2011b). La tercera columna de esta tabla incluye el valor de la potencia emitida por la lámpara a las longitudes de onda correspondientes a la absorción de patulina. A pesar de que la patulina absorbe a longitudes de onda menores de 255 nm, en la tabla no aparecen los valores del coeficiente de extinción molar, ya que por debajo de esta longitud de onda la lámpara no emite. Asimismo, la lámpara emite a longitudes de onda superiores a 355 nm, pero como a valores superiores a esta longitud de onda no absorbe la patulina, tampoco se muestran los valores de la energía emitida por la lámpara. Es decir, únicamente aparecen los valores de los coeficientes de extinción molar y energía emitida por la lámpara en el intervalo en que coinciden la emisión con la absorción.

Mediante una hoja de cálculo se calcula la radiación absorbida para cada concentración de patulina y cada longitud de onda, utilizando el método de integración de Simpson para resolver la ecuación 4.2-18. Las soluciones irradiadas contenían inicialmente una concentración de patulina de 500 mg/L, por lo que se trata de soluciones diluidas que permiten utilizar esta ecuación simplificada.

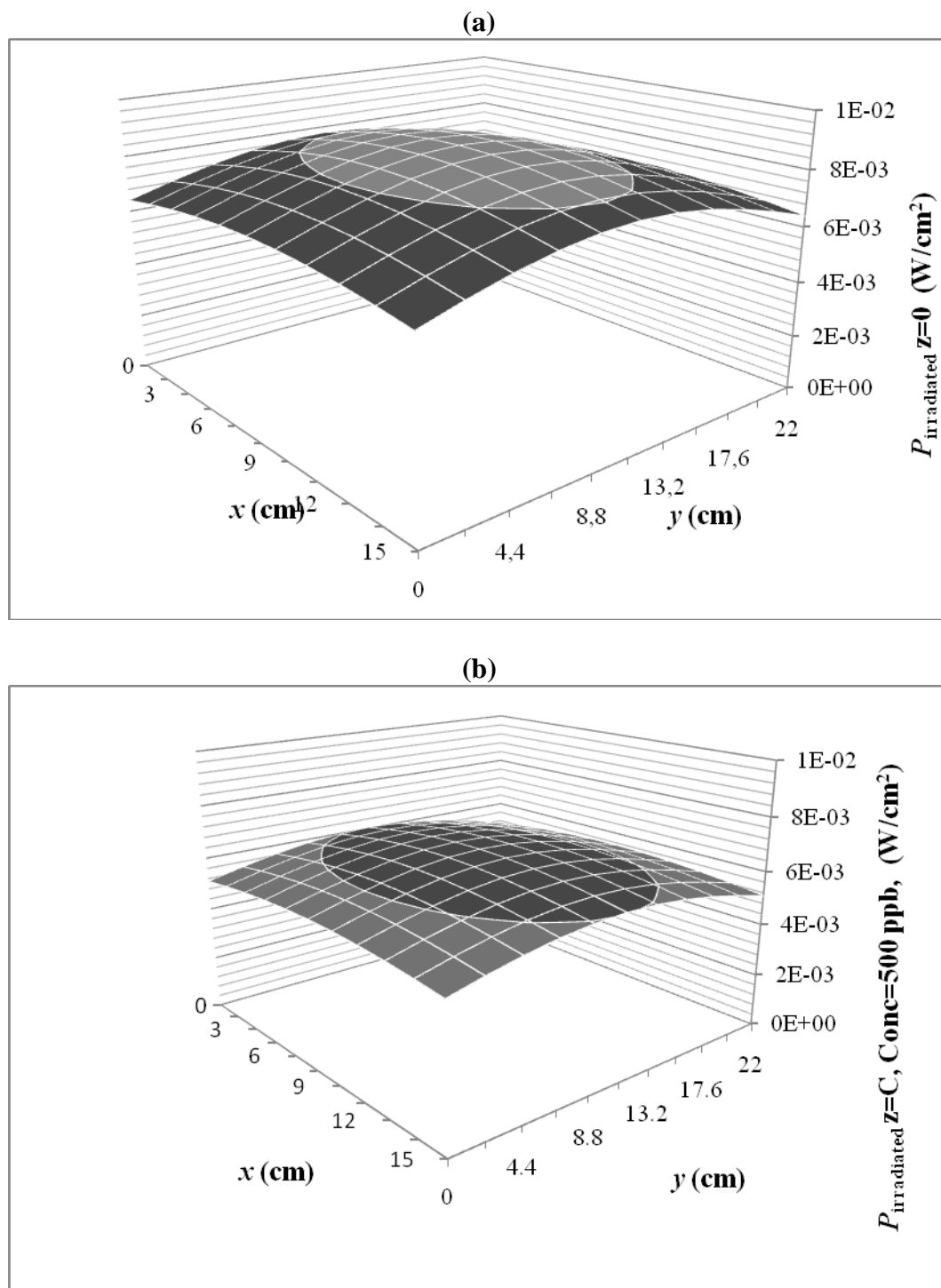
Con la misma hoja de cálculo es posible obtener la dosis de radiación incidente sobre la superficie del reactor ( $P_{\lambda}(0)$ ) y en el fondo del mismo ( $P_{\lambda}(C)$ ), tal como se muestra en la Figura 4.3-1.

La cantidad de energía que incide en la superficie del reactor es de  $7,75 \times 10^{-3} \text{ W/cm}^2$ , mientras que para el fondo este valor depende de la concentración de patulina en la solución. Para una concentración de 500  $\mu\text{g/L}$ , el valor en el fondo del reactor fue de  $6,02 \times 10^{-3} \text{ W/cm}^2$ , lo que representa un 77,7% de la radiación en la superficie.

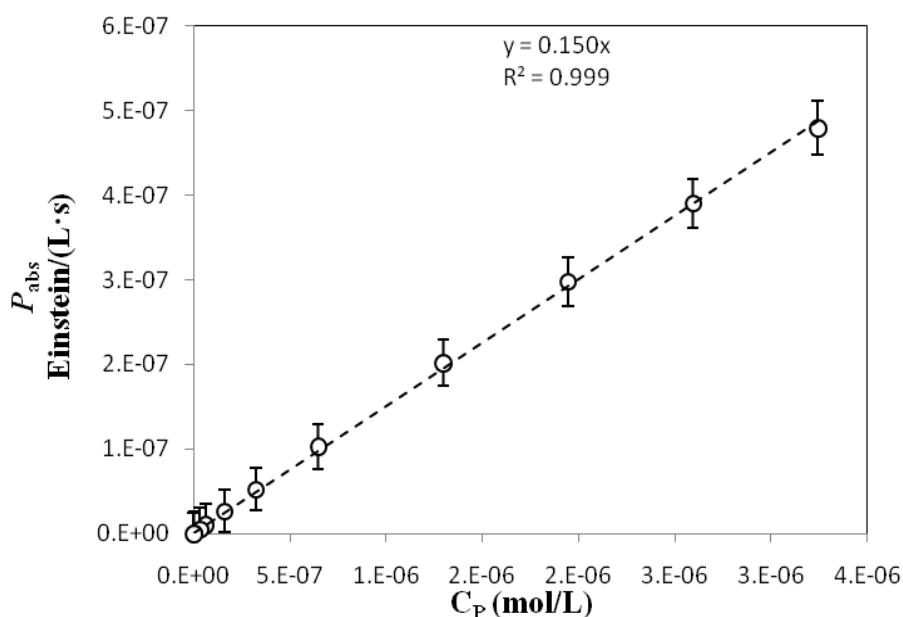
**Tabla 4.3-1.-** Coeficientes de extinción molar de patulina a diferentes longitudes de onda.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_{\lambda}$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$P_{emit,\lambda}$ (W)
255	20402	0,179
265	29479	0,357
275	33630	2,058
285	29725	5,19
295	17495	12,170
305	5649	5,370
315	543	7,158
325	376	7,606
335	346	2,505
345	341	2,205
355	339	9,843

La energía total absorbida por una solución de patulina de 500 µg/L por el volumen total de reacción para todas las longitudes de onda es de 0,147 W (4,75x10<sup>-4</sup> W/cm<sup>2</sup>). El espectro de emisión de la lámpara incluye la longitud de onda de 255 nm, ampliamente conocido por su efecto germicida. Para esta longitud de onda y el volumen total de reacción, la energía absorbida es de 3,55x10<sup>-6</sup> W/cm<sup>2</sup> y la dosis de radiación incidente en la superficie del reactor es de 2,53x10<sup>-5</sup> W/cm<sup>2</sup>. Según indican Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas (2004) se necesitan diferentes dosis de radiación a esta longitud de onda dependiendo del microorganismo que se desea eliminar. Así, en el caso de bacterias vegetativas, la dosis de radiación más pequeña es para *Bacillus megatherium* con 2,5 mJ/cm<sup>2</sup>, mientras que *Sarcinia lutea* requiere de la dosis más alta con 26,4 mJ/cm<sup>2</sup>. Con la lámpara utilizada en el presente trabajo, con tiempos de irradiación entre 1,6 y 17,4 minutos, se podrían eliminar todas estas bacterias vegetativas. En el caso de bacterias esporuladas, las dosis de inactivación están en el intervalo de 22,0 hasta 46,2 mJ/cm<sup>2</sup>, para *Bacillus subtilis* y *Bacillus anthracis*, respectivamente, lo que significa que serían necesarios tiempos de irradiación entre 14,5 y 30,4 minutos. Para levaduras, las dosis mínimas y máximas se corresponden con *Brewer's Yeast* y *Saccharomyces* sp. (11,6 y 17,6 mJ/cm<sup>2</sup>, respectivamente), correspondiendo tiempos de irradiación entre 7,6 y 11,6 minutos.



**Figura 4.3-1.-** Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de patulina de 500  $\mu\text{g/L}$ .



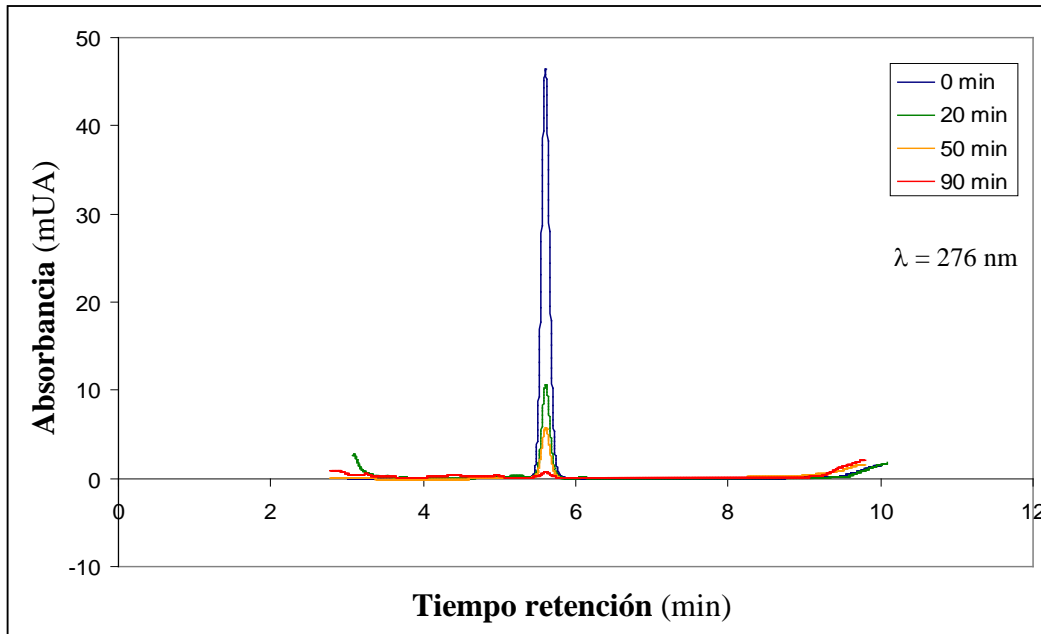
**Figura 4.3-2.-** Influencia de la concentración de patulina ( $C_P$ ) en  $P_{abs}$ . Determinación de la constante de proporcionalidad  $k_R$ .

Como la concentración inicial de patulina era de 500  $\mu\text{g/L}$ , se han calculado los valores de  $P_{abs}$  entre 0,05 y 500  $\mu\text{g/L}$ , que se corresponden a concentraciones molares entre  $3,24 \times 10^{-10}$  y  $3,24 \times 10^{-6}$  mol/L. Para el cálculo de  $P_{abs}$  se ha utilizado la ecuación 4.2-18. En la Figura 4.3-2 se muestran los valores de  $P_{abs}$  frente a las concentraciones molares de patulina en el intervalo de concentraciones mencionado. Estos datos se han ajustado a una línea recta (Ec. 4.3-5) por el método de los mínimos cuadrados obteniendo un valor de la pendiente  $k_R = 0,150$  Einstein/(mol·s) con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9994$ .

#### 4.3.3.- Fotólisis de patulina en solución acuosa

Se ha estudiado la fotodegradación de patulina en solución acuosa a  $pH = 4$  y  $pH = 7$ , que se corresponderían aproximadamente a valores de acidez de un zumo de manzana y del agua de lavado de las frutas previo a su procesamiento industrial. En la Figura 4.3-3 se muestra un cromatograma de la determinación de patulina en muestras irradiadas, a

$pH=4$  y  $25^{\circ}C$ , para distintos tiempos de irradiación, donde se observa que la absorbancia del pico de la patulina va disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de irradiación.



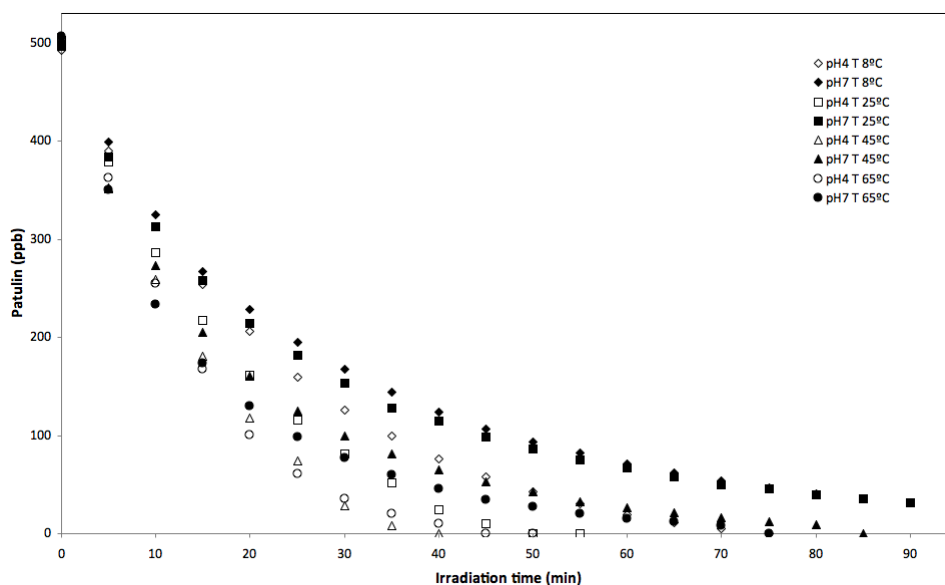
**Figura 4.3-3.-**Cromatograma HPLC mostrando los picos de absorbancia de patulina a diferentes tiempos de irradiación, para soluciones acuosas a  $pH=4$  y  $25^{\circ}C$ .

La evolución con el tiempo de irradiación del contenido en patulina de las soluciones acuosas, con un contenido inicial de patulina de  $500 \mu g/L$ , se muestran en la Figura 4.3-4. Se observa que para una misma temperatura de trabajo, la patulina se degrada más fácilmente a  $pH = 4$  que a  $pH = 7$ . Asimismo, se observa que para un determinado  $pH$ , al aumentar la temperatura la patulina se degrada más fácilmente. Para las soluciones de  $pH = 7$  se observa que para las temperaturas de  $8$  y  $25^{\circ}$ , después de un tiempo de irradiación de  $90$  minutos se consigue que el contenido de patulina sea aproximadamente el  $6\%$  del inicial. Este tratamiento representa una dosis de equivalente de  $137 \text{ mJ cm}^{-2}$  en el intervalo de longitudes de onda de  $250$  a  $260 \text{ nm}$ , que es en la zona que emiten las lámparas germicidas de baja presión. Para las temperaturas de tratamiento más elevadas se consigue la eliminación total de la patulina al cabo de  $75$  y  $85$  minutos, para las temperaturas de  $65$  y  $45^{\circ}C$ , respectivamente, que equivalen a dosis de  $114$  y  $129 \text{ mJ cm}^{-2}$ , en la zona de germicida. Al irradiar las soluciones de  $pH = 4$  se obtiene una degradación total de la patulina, para todas las temperaturas ensayadas; con tiempos de tratamiento entre  $70$  y  $40$  minutos para temperaturas entre  $8$  y  $65^{\circ}C$ . Estos tiempos de procesamiento son mucho más altos que los necesarios para inactivar levaduras y

bacterias, tanto en su forma vegetativa como esporulada. Por consiguiente, al mismo tiempo que se degrada la patulina, cualquier microorganismo presente en la disolución también se inactivaría, tal como ha obtenido Tikekar *et al.* (2013).

En la Figura 4.3-4 se observa que las curvas de degradación de patulina siguen una caída que parece exponencial. Con el fin de evaluar las constantes cinéticas de fotodegradación de patulina, los datos experimentales mostrados en esta figura, se han ajustado a la ecuación 4.3-6. Tanto los ajustes como los parámetros de la ecuación han resultado significativos a un nivel de confianza del 95%.

En la Tabla 4.3-2 se muestran los datos obtenidos en estos ajustes, destacando que los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) presentan valores comprendidos entre 0,9894 y 0,9975, lo que es un indicio de la bondad del modelo. Se puede observar que las constantes cinéticas presentan valores que aumentan con la temperatura de tratamiento, de modo que cuanto mayor es la temperatura mejor será la fotodegradación, hecho que coincide con lo que se observa en la Figura 4.3-4. Asimismo, se observa que los valores de las constantes globales son superiores para  $pH = 4$ , indicando con ello que la fotodegradación es superior a este  $pH$  que a  $pH = 7$ , y corroborando lo observado en la Figura 4.3-4.



**Figura 4.3-4.-** Evolución del contenido en patulina con el tiempo de irradiación para soluciones acuosas a  $pH=4$  y  $pH=7$ , a diferentes temperaturas.



**Tabla 4.3-2.** – Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la degradación fotoquímica de soluciones acuosas de patulina a  $pH = 4$  y  $pH = 7$ , a diferentes temperaturas.

$pH$	$T$ (°C)	$O. Origen$ ( $\mu g/L$ )	$m_P \times 10^4$ ( $s^{-1}$ )	$K_P \times 10^3$ (mol/Einstein)	$k_D/k$	$R^2$
4	8	497 ± 6	7,83 ± 0,17	5,25 ± 0,03	189 ± 5	0,9975
4	25	513 ± 13	10,2 ± 0,3	6,84 ± 0,05	145 ± 3	0,9925
4	45	509 ± 17	12,5 ± 0,7	8,38 ± 0,09	118 ± 2	0,9894
4	65	516 ± 13	13,2 ± 0,5	8,85 ± 0,09	112 ± 2	0,9935
7	8	475 ± 8	5,67 ± 0,16	3,80 ± 0,03	262 ± 5	0,9931
7	25	467 ± 10	6,00 ± 0,17	4,02 ± 0,03	247 ± 5	0,9901
7	45	478 ± 7	8,83 ± 0,17	5,92 ± 0,05	168 ± 4	0,9961
7	65	493 ± 9	11,0 ± 0,3	7,38 ± 0,05	134 ± 2	0,9952

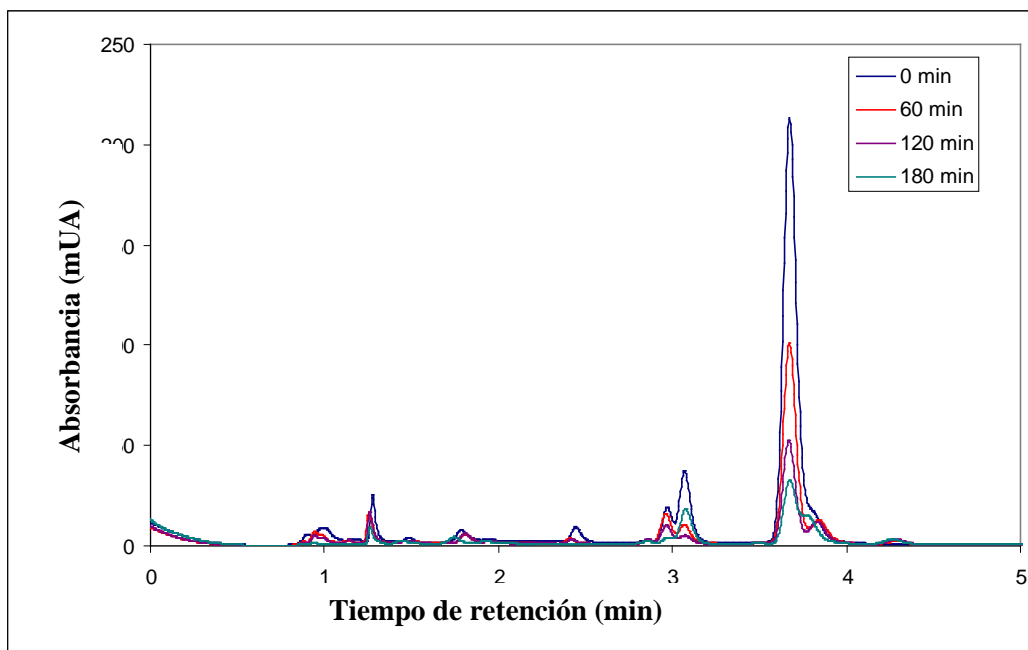
A partir de los valores de la constante de fotodegradación ( $m_P$ ) y del valor de la constante  $k_R$ , es posible obtener el valor de  $K_P$  utilizando la ecuación 4.3-7. En la Tabla 4.3-2 se muestran los valores de  $K_P$  para todos los experimentos llevados a cabo. Tal como era de esperar, los valores de esta constante siguen la misma tendencia que la constante  $m_P$ , es decir, para un determinado valor de  $pH$  su valor aumenta con el aumento de temperatura, mientras que para una determinada temperatura su valor es mayor cuanto mayor es la acidez del medio. Como  $K_P$  representa el rendimiento cuántico de la reacción global de fotodegradación, se puede concluir que cuanto más elevada sea la temperatura de trabajo y mayor sea la acidez del medio, más eficiente es la absorción de la radiación.

Además, con el valor de  $K_P$  y utilizando la ecuación 4.3-2, se puede llegar a calcular la relación  $k_D/k$ . Los valores de esta relación se muestran también en la Tabla 4.3-2, donde se puede observar que los valores son superiores a la unidad, lo que significa que,

en el mecanismo de reacción propuesto, se puede suponer que la etapa de retorno al estado fundamental de la molécula excitada de patulina es mayor que la etapa de formación de fotoproductos. Sin embargo, un aumento de la temperatura hace que la relación  $k_D/k$  disminuya, de modo que la etapa de formación de fotoproductos llega a ser cada vez más importante en relación a la etapa de inactivación de la patulina excitada.

#### 4.3.4.- Fotodegradación de patulina en zumo de manzana

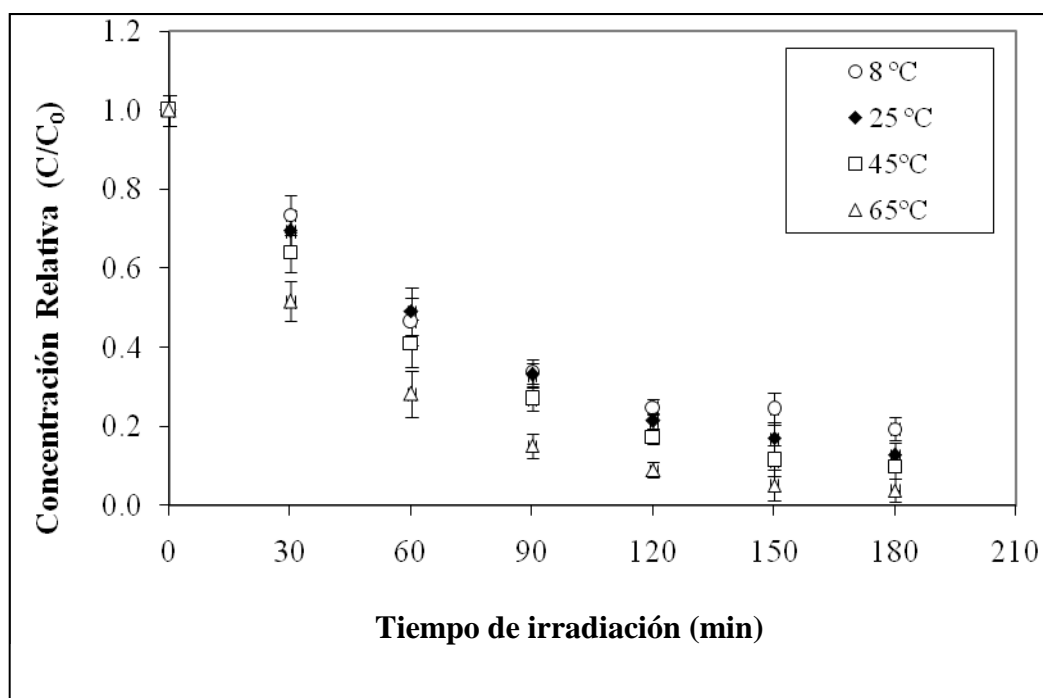
Las muestras de zumo clarificado de manzana de 12°Brix, obtenido con zumo concentrado por dilución con agua, conteniendo 500  $\mu\text{g/L}$  de patulina, se irradiaron durante 180 minutos. En la Figura 4.3-5 se muestra un cromatograma de la determinación de patulina en zumos clarificados de manzana, a 25°C, para distintos tiempos de irradiación, donde se observa que la absorbancia del pico de la patulina (tiempo de retención 3,7 min) va disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de irradiación.



**Figura 4.3-5.-**Cromatograma HPLC mostrando los picos de absorbancia de patulina a diferentes tiempos de irradiación, para zumos de manzana 25°C.

En la Figura 4.3-6 se muestra la variación con el tiempo de irradiación del contenido en patulina del zumo, a las mismas temperaturas de trabajo que las soluciones acuosas. En esta figura se observa que a medida que aumenta la temperatura, se consigue una mayor disminución del contenido de patulina en el zumo. Si se compara con los resultados obtenidos con la degradación de patulina en solución acuosa (Figura 4.3-4), se observa que el grado de fotodegradación es menor. Así, para la temperatura de 65°C, a los 60 minutos de irradiación, la patulina de la solución acuosa de  $pH = 4$  había desaparecido; sin embargo, en el zumo de manzana, para este mismo tiempo, todavía queda un 27,5% del contenido inicial de patulina. Además, en el caso de la irradiación de patulina contenida en solución acuosa, a los 90 minutos de irradiación la patulina había desaparecido en todas las muestras, a excepción de la muestra de  $pH = 7$  y temperatura 8°C. Sin embargo, para los zumos de manzana, son necesarios tiempos de irradiación superiores. Incluso, para 180 minutos de irradiación, las muestras a 8°C contienen un 19,5% de la patulina inicial, y únicamente la muestra irradiada a 65°C presenta contenidos finales de patulina despreciables.

Del mismo modo que en el caso de la fotodegradación de patulina en solución acuosa, la variación con el tiempo de irradiación del contenido de patulina en el zumo de manzana muestra una caída exponencial. Con el fin de obtener las constantes cinéticas de degradación, los datos experimentales mostrados en la Figura 4.3-6 se ajustan a la ecuación 4.3-6, obteniendo que tanto los ajustes como los estimados de los parámetros son significativos para un nivel de confianza del 95%. En la Tabla 4.3-3 se muestran los datos obtenidos en estos ajustes, en la que los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) presentan valores comprendidos entre 0,9547 y 0,9945. Se observa que los valores de las constantes cinéticas aumentan con el aumento de la temperatura de trabajo. Si se comparan los datos de las Tablas 4.3-2 y 4.3-3, se observa que los valores de las constantes cinéticas de fotodegradación son muy inferiores en las muestras de zumo, lo que corrobora lo observado en las Figuras 4.3-4 y 4.3-6, ya comentado anteriormente. Los menores valores de las constantes globales de fotodegradación de la patulina contenida en los zumos de manzana se puede atribuir al hecho de que los zumos contienen pigmentos que absorben parte de la radiación incidente, ejerciendo un efecto fotoprotector.



**Figure 4.3-6.-** Evolución del contenido en patulina en zumo de manzana, con el tiempo de irradiación a diferentes temperaturas.

**Tabla 4.3-3.-** Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la degradación fotoquímica de patulina en zumo de manzana, a diferentes temperaturas.

$T$ (°C)	$O. Origen$ (-)	$m_p \times 10^4$ (s <sup>-1</sup> )	$R^2$
8	0,894 ± 0,014	1,5 ± 0,3	0,9547
25	0,975 ± 0,009	1,95 ± 0,05	0,9945
45	0,940 ± 0,012	2,23 ± 0,18	0,9892
65	0,894 ± 0,013	3,10 ± 0,16	0,9919

#### 4.3.5.- Compensación cinética-termodinámica

Con el fin de estudiar la posible existencia de que se presente compensación cinética y termodinámica se han llevado a cabo nuevos experimentos a  $pH$  3, 5 y 6, a las mismas temperaturas utilizadas en los tratamientos fotoquímicos que se habían realizado a  $pH$  4. Los datos experimentales de la evolución del contenido de patulina

con el tiempo de irradiación, para todos los *pH* y temperaturas ensayadas, se han ajustado a cinéticas de primer orden (Ec. 4.3-6), lo que ha permitido encontrar los valores de las constantes cinéticas globales de fotodegradación. En la Tabla 4.3-4 se muestran los parámetros del ajuste. Tanto los parámetros como el ajuste han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En la tabla se observa que para un valor determinado de *pH* los valores de la constante cinética global de fotodegradación tienen tendencia a aumentar con el aumento de la temperatura de operación. También se observa que para una determinada temperatura los valores de las constantes tienden a aumentar con el aumento de acidez del medio de reacción, lo que indica que la degradación fotoquímica de patulina se ve favorecida al disminuir el *pH*.

**Tabla 4.3-4.-** Parámetros del ajuste a la Ec. 4.3-6 para fotodegradación de patulina en solución acuosa.

<i>pH</i>	<i>T</i> (°C)	<i>O. Origen</i>	$m_P \times 10^2$ (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$\Delta G^\#$ (J·mol <sup>-1</sup> )
3	8	0,975 ± 0,018	3,25 ± 0,08	0,9998	86207
	25	0,984 ± 0,016	4,20 ± 0,02	0,9999	91064
	45	0,997 ± 0,011	5,00 ± 0,07	0,9998	96778
	65	0,973 ± 0,017	6,08 ± 0,01	0,9999	102492
4	8	1,001 ± 0,021	2,97 ± 0,09	0,9979	86358
	25	1,090 ± 0,024	3,93 ± 0,10	0,9962	91278
	45	1,068 ± 0,019	4,64 ± 0,09	0,9970	97066
	65	1,092 ± 0,025	5,18 ± 0,18	0,9903	102854
5	8	1,010 ± 0,024	2,71 ± 0,12	0,9979	86541
	25	1,021 ± 0,015	3,49 ± 0,06	0,9996	91655
	45	0,947 ± 0,025	3,59 ± 0,09	0,9988	97671
	65	0,952 ± 0,017	3,88 ± 0,04	0,9993	103687
6	8	0,982 ± 0,012	2,60 ± 0,05	0,9997	86737
	25	0,935 ± 0,024	2,91 ± 0,15	0,9956	91944
	45	0,970 ± 0,011	3,10 ± 0,03	0,9998	98071
	65	0,953 ± 0,015	3,30 ± 0,04	0,9992	104198

### Compensación cinética

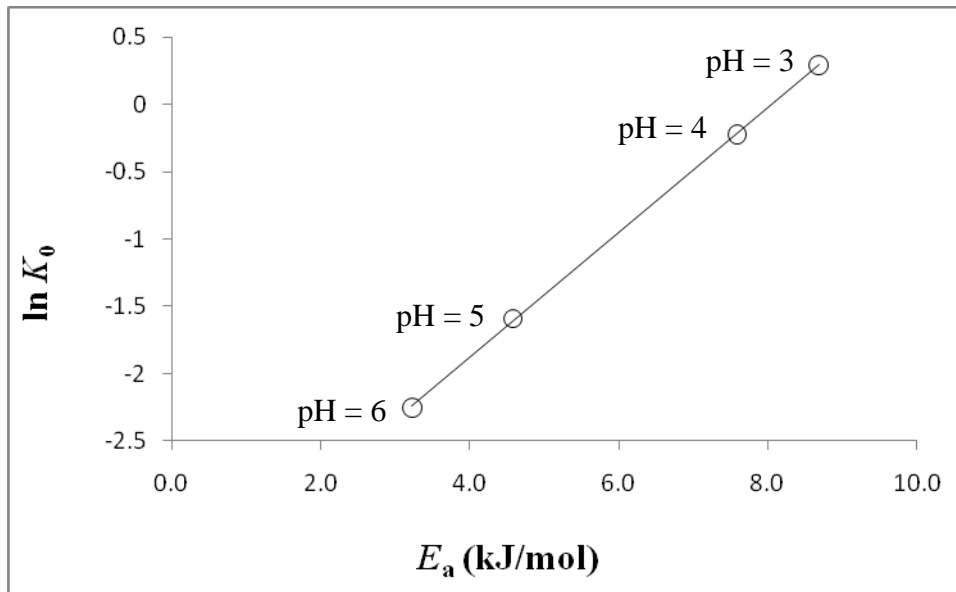
Para evaluar el efecto que la temperatura ejerce en el proceso global de fotodegradación de patulina a los diferentes *pH* ensayados, la variación de las constantes cinéticas globales con la temperatura se ha ajustado a la ecuación de Arrhenius (Ec. 1.6-9), habiendo obtenido que tanto el ajuste como los parámetros de este ajuste son significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.3-5 se muestran los valores obtenidos en el ajuste, donde se observa que al aumentar el *pH* del medio de reacción los valores de las energías de activación disminuyen. Esto indica que para un mismo incremento de temperatura la fotodegradación se ve más favorecida cuanto mayor es la acidez del medio de reacción, corroborando lo observado a partir de los datos de la Tabla 4.3-4. Así, para *pH*=3, que presenta un valor de 8,69 kJ·mol<sup>-1</sup> para la energía de activación, al subir la temperatura desde 8 a 65°C se obtiene un incremento del 87,08% en el valor la constante cinética de reacción; mientras que para *pH*=6, con una energía de activación de 3,22 kJ·mol<sup>-1</sup>, para la misma variación de temperatura el incremento en el valor de las constantes de reacción es del 26,92%.

Con el fin de estudiar si existe compensación cinética, los valores de  $\ln k_0$  y de  $E_a$ , mostrados en la Tabla 4.3-5, se ajustan a la ecuación 1.6-12. En la Figura 4.3-7 se muestra la representación gráfica de estos datos, donde se observa que los datos se muestran alineados, lo que indica que existe compensación cinética. El ajuste de los datos permite obtener la siguiente ecuación:

$$\ln k_0 = (-3,734 \pm 0,125) + (0,4633 \pm 0,0196)E_a ; \quad R^2 = 0,9998$$

**Tabla 4.3-5.-** Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius para los diferentes *pH* ensayados.

<i>pH</i>	$E_a$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )	$k_0$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$
3	8,69	1,339	0,9833
4	7,59	0,798	0,9643
5	4,57	0,203	0,8467
6	3,22	0,105	0,9782



**Figura 4.3-7.-** Compensación cinética para la fotodegradación de patulina.

Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. Al comparar estos resultados con la ecuación 1.6-12, a partir del valor de la pendiente y teniendo en cuenta la ecuación 1.6-16, es posible obtener el valor de la temperatura isocinética. Asimismo, del valor de la ordenada en el origen se obtiene el valor de la constante cinética global de reacción para esta temperatura. Los valores obtenidos de esas variables son:

$$T_{\text{iso}} = (-13,4 \pm 10,5) \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$k_{\text{iso}} = (2,39 \pm 0,28) \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$$

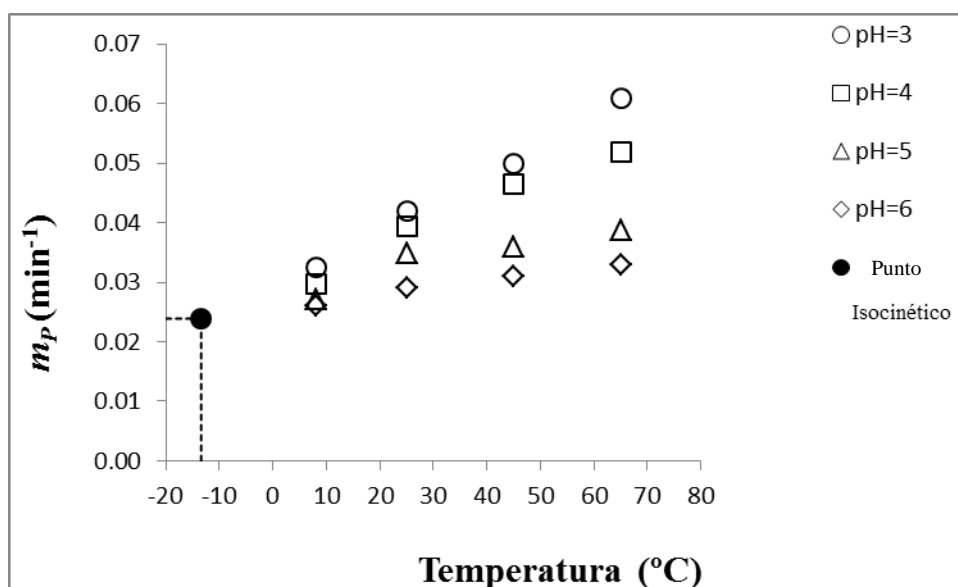
En el presente trabajo las temperaturas utilizadas han sido 8, 25, 45 y 65°C, por lo que al aplicar la ecuación 1.6-30, se obtiene un valor de la temperatura media armónica de  $T_{\text{hm}} = 34,3^\circ\text{C}$ .

Como la temperatura isocinética obtenida es de  $-13,4^\circ\text{C}$ , su valor es netamente inferior al de la temperatura media armónica, lo que permite concluir que el mecanismo que controla la degradación fotoquímica de patulina es entrópico. Que el mecanismo de control sea entrópico indica que en esta reacción el parámetro cinético que influye más en el valor de la constante cinética global de fotodegradación de patulina es el factor de frecuencia  $k_0$  y no la energía de activación.

Por otra parte, se observa que la temperatura isocinética presenta un intervalo de variación de  $-23,9$  a  $-2,9^\circ\text{C}$ , cuyo valor máximo es muy inferior al valor de la

temperatura media armónica, lo que corrobora que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).

En la Figura 4.3-8 se han representado los valores de las constantes cinéticas globales ( $m_p$ ) a los diferentes  $pH$  y temperaturas de trabajo. Asimismo, en esta figura se ha incluido el punto correspondiente al valor de la constante cinética  $k_{iso} = 2,39 \times 10^2 \text{ min}^{-1}$ , correspondiente a la temperatura isocinética  $T_{iso} = -13,4^\circ\text{C}$  (punto negro). Se observa que la tendencia de las constantes cinéticas es la de converger hacia este punto, lo que indicaría que para esta temperatura isocinética la constante cinética de fotodegradación adquiere un valor constante cualquiera que sea el  $pH$  del medio de reacción (Flores-Andrade *et al.*, 2009).



**Figura 4.3-8.-** Valores de las constantes para la fotodegradación de patulina en función de la temperatura para diferentes valores de  $pH$ .

### **Compensación termodinámica**

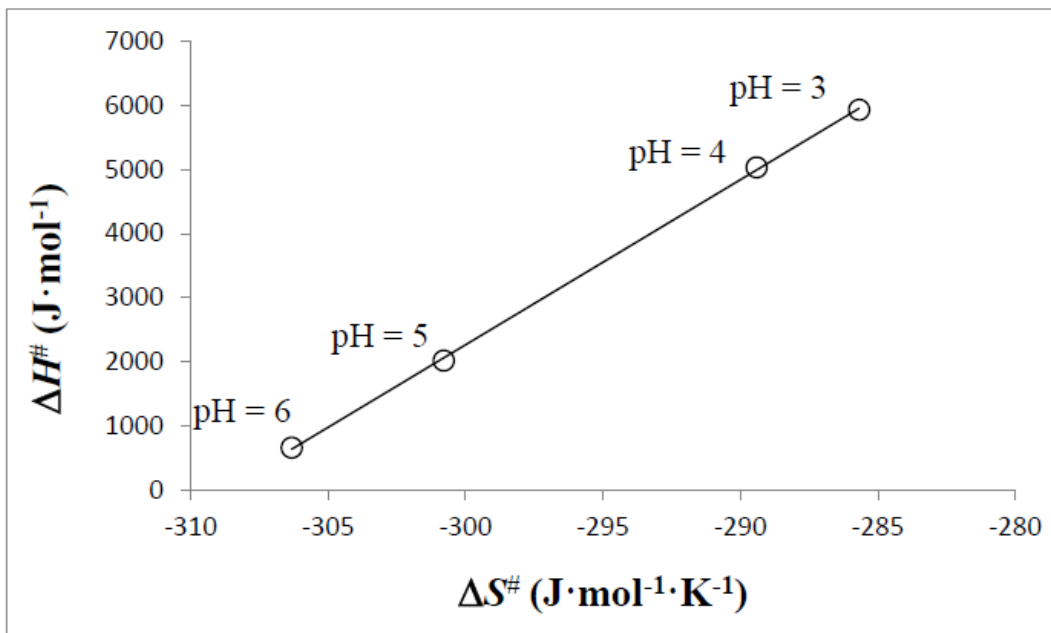
A partir de los datos de las constantes cinéticas de fotodegradación mostrados en la Tabla 4.3-4 es posible calcular los valores de las entalpías y entropías del estado de transición. Al representar los valores de  $\ln\left(\frac{k \cdot h_p}{k_B \cdot T}\right)$  frente a la inversa de la temperatura absoluta ( $1/T$ ) se obtiene una recta (Ec. 1.6-8), a partir de la cual se obtiene una ordenada en el origen que permite calcular la variación de entropía del estado de



transición ( $\Delta S^\ddagger$ ). De la pendiente es posible obtener el correspondiente valor de la variación de entalpía del estado de transición ( $\Delta H^\ddagger$ ). Tanto los ajustes como los estimados de los parámetros han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.3-6 se muestran los valores obtenidos en los ajustes.

**Tabla 4.3-6.-** Valores de la variación de entropía y entalpía para los estados de transición para los diferentes *pH* ensayados.

<i>pH</i>	$\Delta S^\ddagger$ ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ )	$\Delta H^\ddagger$ ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	$R^2$
3	-285,7	5928	0,9848
4	-289,4	5031	0,9156
5	-300,8	2017	0,8836
6	-306,3	658	0,8942



**Figura 4.3-9.-** Compensación termodinámica para la fotodegradación de patulina.

Al objeto de estudiar si se presenta compensación termodinámica se representan los valores de  $\Delta H^\ddagger$  frente a  $\Delta S^\ddagger$ , cuya gráfica se muestra en la Figura 4.3-9. En esta figura se observa que los puntos están alineados, de modo que los datos de la Tabla 4.3-6 se han ajustado a la ecuación 1.6-19, obteniendo la expresión:

$$\Delta H^\ddagger = (7,95 \pm 0,36) \times 10^4 + (257,6 \pm 3,1) \Delta S^\ddagger ; R^2 = 0,9998$$

Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. La pendiente de esta recta se corresponde con la temperatura isocinética (Ec. 1.6-23), mientras que la ordenada en el origen es el valor de la variación de energía libre Gibbs para esta temperatura. De modo que se tiene:

$$T_{\text{iso}} = (-15,4 \pm 11,2) \text{ }^\circ\text{C}$$

$$\Delta G_{\text{iso}} = (7,95 \pm 0,36) \times 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Si se compara el valor de la temperatura isocinética con la temperatura media armónica se observa que su valor es inferior, por lo que se puede afirmar que el mecanismo que controla la degradación fotoquímica de patulina es entrópico. Asimismo, se observa que el intervalo de variación de la temperatura isocinética va desde  $-25,6$  a  $-3,3^\circ\text{C}$ . Como el valor superior que puede presentar la temperatura isocinética es netamente inferior a la temperatura media armónica ( $34,3^\circ\text{C}$ ), al igual que ocurría con la compensación cinética, se puede concluir que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).

A partir de los valores obtenidos de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta H^\ddagger$ , para cada uno de los *pH* ensayados, mostrados en la Tabla 4.3-6, es posible obtener los valores de las energías libres de Gibbs para cada una de las series experimentales que se han realizado, a partir de la ecuación:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (4.3-8)$$

En la última columna de la Tabla 4.3-4 se presentan estos valores para todos los *pH* y temperaturas ensayados. Se observa que para todos los *pH* ensayados, los valores de la energía libre de Gibbs tienden a disminuir con la disminución de temperatura y

seguramente llegan a converger en el punto correspondiente a la temperatura isocinética, cuyo valor es de  $7,95 \times 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

#### 4.4.- Fotodegradación de ocratoxina A

La ocratoxina A es una micotoxina producida principalmente por *Penicillium verrucosum* y otras especies de *Aspergillus sp.* Los hongos productores de ocratoxina A infectan un amplio espectro de plantas, de modo que esta toxina se puede encontrar en los alimentos debido a la contaminación en alguna de las etapas de la producción, tales como en el crecimiento de las plantas, en los piensos animales, en el procesado de alimentos e incluso en la conservación de los alimentos. Se han encontrado altos niveles de ocratoxina A en café, cereales, uvas e incluso carne, debido a la contaminación de piensos para alimentación animal. Uno de los alimentos más contaminados por ocratoxina A es la uva, incluyendo sus derivados como el vino y las pasas (*Aspegillus carbonarius*). Como se sospecha que la ocratoxina A pueda ser carcinogénica, hepatotóxica, inmunosupresora y nefrotóxica (Wafa *et al.*, 1998), ha sido una de las primeras micotoxinas clasificadas como nocivas para animales y humanos.

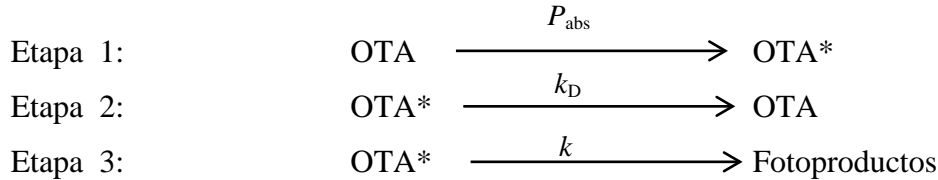
La Comisión Europea impuso unos límites de ocratoxina A en los alimentos (CE 123 205) y ha establecido algunas reglas para evitar altos niveles de la toxina, con un nivel máximo permitido en bebidas producidas a partir de mosto de 2 µg/kg (Regulation 1881/2006). Lasram *et al.* (2012) mostraron que 4 de cada 39 muestras tenían niveles más altos.

La ocratoxina A es altamente resistente a los procesos convencionales de tratamiento (Bullerman y Bianchini, 2007; Kaba, 2009), tales como esterilización térmica o fermentación, de modo que es necesario encontrar unos procesos alternativos de tratamiento para destruir esta micotoxina. Una de estas alternativas es la irradiación UV (Falguera *et al.*, 2011a; Falguera *et al.*, 2011d).

Dependiendo de la variedad y madurez de las uvas, el mosto posee un *pH* cercano a 4, mientras el agua de lavado presenta un *pH* cercano a la neutralidad. Estos motivos son los mismos que los exhibidos para la degradación de patulina, y es por ello que se han irradiado soluciones acuosas de ocratoxina A de *pH* 4 y 7. También se ha estudiado la degradación de la ocratoxina A que se ha añadido a un mosto de uva comercial.

#### 4.4.1.- Mecanismo de fotodegradación de ocratoxina A

Para la degradación fotoquímica de ocratoxina A (OTA) se supone un mecanismo de reacción análogo al mostrado en el apartado 1.5.5 y el mismo que se ha utilizado para la fotodegradación de patulina. De este modo, el esquema de reacción es el siguiente:



Este mecanismo de fotodegradación consta de tres etapas, en la que en la primera se supone que la molécula de ocratoxina A absorbe la radiación pasando de su estado fundamental (OTA) a un estado excitado (OTA\*). La molécula en su estado excitado puede decaer a su estado fundamental o degradarse para dar fotoproductos. Al suponer estado pseudoestacionario para el intermedio excitado OTA\*, la velocidad intensiva de reacción se expresa como:

$$r_o = -K_o P_{\text{abs}} \quad (4.4-1)$$

En la que  $K_o$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$ , de modo que:

$$K_o = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (4.4-2)$$

En la que la constante  $K_o$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de OTA degradados por mol de fotones (Einstein) absorbidos.

Las irradiaciones se han llevado a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen  $V$ , trabajando en discontinuo. Si se aplica un balance de materias para la ocratoxina A, se obtiene:

$$\frac{dC_o}{dt} = \frac{1}{V} \int_V r_o dV \quad (4.4-3)$$

Al introducir la expresión de la velocidad de reacción (Ec. 4.3-1), se obtiene:

$$\frac{dC_O}{dt} = -K_O P_{abs} \quad (4.4-4)$$

Para integrar esta ecuación es preciso conocer la relación que existe entre  $P_{abs}$  y la concentración de ocratoxina A ( $C_O$ ). Para valores bajos de concentración, tal como se ha mostrado en el apartado 4.2, usualmente existe una relación lineal, de modo que se tiene:

$$P_{abs} = k_R C_O \quad (4.4-5)$$

Sustituyendo esta última ecuación en la del balance de materia (Ec. 4.4-4) se puede integrar, de modo que la concentración de ocratoxina A a lo largo de la irradiación se expresará según la ecuación:

$$C_O = C_O^0 \exp(-m_O t) \quad (4.4-6)$$

en la que:

$$m_O = K_p k_R \quad (4.4-7)$$

Siendo  $C_O$  y  $C_O^0$  las concentraciones de ocratoxina A para un tiempo cualquiera y a tiempo inicial, respectivamente.

Según el mecanismo cinético de fotodegradación propuesto, se obtiene que la degradación fotoquímica de ocratoxina A se ajusta a una ecuación cinética de primer orden, con una constante global de fotodegradación  $m_O$ .

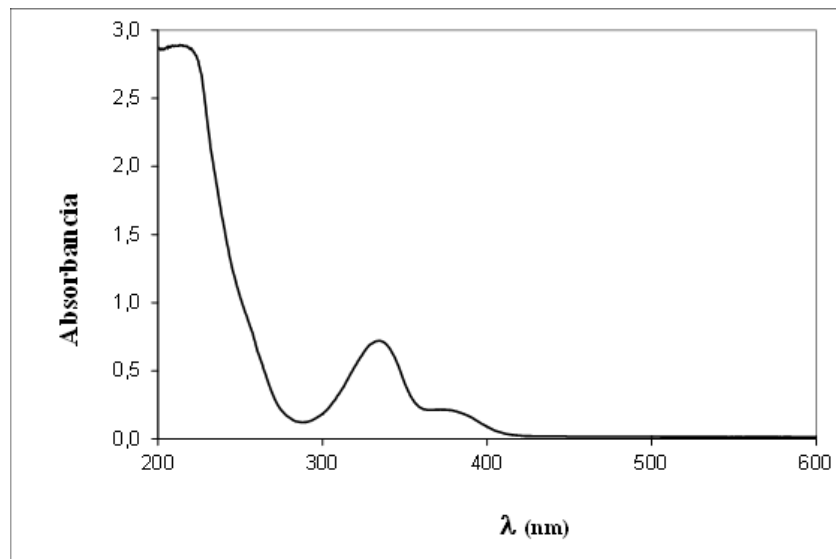
#### 4.4.2.- Potencia radiante absorbida en función de la concentración de ocratoxina A

En la Figura 4.4-1 se muestra el espectro de absorción de una solución acuosa de ocratoxina A. Se observa que este compuesto presenta una banda de absorción entre 200 y 450 nm. La lámpara utilizada en el presente trabajo presenta bandas de emisión en este el intervalo de 255 a 450 nm (Figura 3.2-4). Por tanto, es de esperar que la energía emitida por la lámpara en este intervalo de longitudes de onda sea absorbida por la ocratoxina A, y esto puede provocar posibles reacciones fotoquímicas de degradación de este compuesto. Es importante resaltar que, a pesar que el espectro de absorción de

ocratoxina A incluye longitudes de onda de 205 a 255, como la lámpara no emite en este intervalo, no habrá interacción entre la emisión y absorción para este intervalo. A partir de la Figura 4.4-1 es posible obtener los valores de los coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) para diferentes longitudes de onda (Tabla 4.4-1). Al igual que ocurría con la patulina, se observa que los valores de absorbancia de la ocratoxina A son bajos, con lo que no existirán problemas de penetración de la radiación a través de la solución reactante (Falguera *et al.*, 2011b). En esta misma tabla se ha incluido una columna en la que se muestran los valores de la potencia emitida por la lámpara a las longitudes de onda correspondientes a la absorción de ocratoxina A.

Mediante una hoja de cálculo se calcula la radiación absorbida para cada concentración de ocratoxina A y cada longitud de onda, utilizando el método de integración de Simpson para resolver la ecuación 4.2-18. Las soluciones irradiadas contenían inicialmente una concentración de ocratoxina A de 100  $\mu\text{g/L}$ , por lo que se trata de soluciones diluidas que permiten utilizar esta ecuación simplificada.

Con la misma hoja de cálculo es posible obtener la dosis de radiación incidente sobre la superficie del reactor ( $P_\lambda(0)$ ) y en el fondo del mismo ( $P_\lambda(C)$ ), tal como se muestra en la Figura 4.4-2.



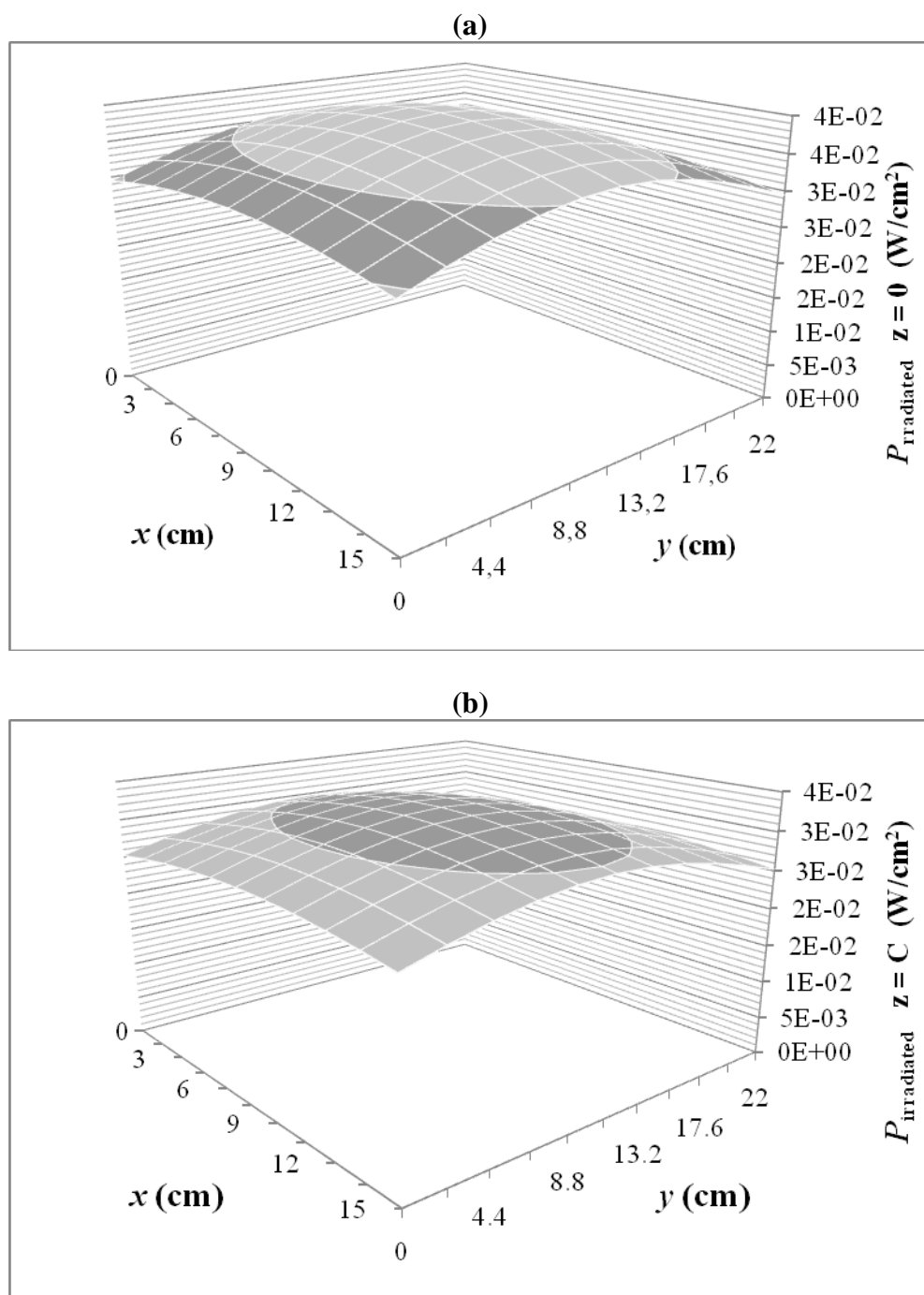
**Figura 4.4-1.-** Espectro de absorción de una solución de ocratoxina A de 50 mg/L.

**Tabla 4.4-1.-** Energía emitida por la lámpara, coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) y coeficientes de absorción de soluciones acuosas de OTA de 100  $\mu\text{g/L}$ , a diferentes longitudes de onda.

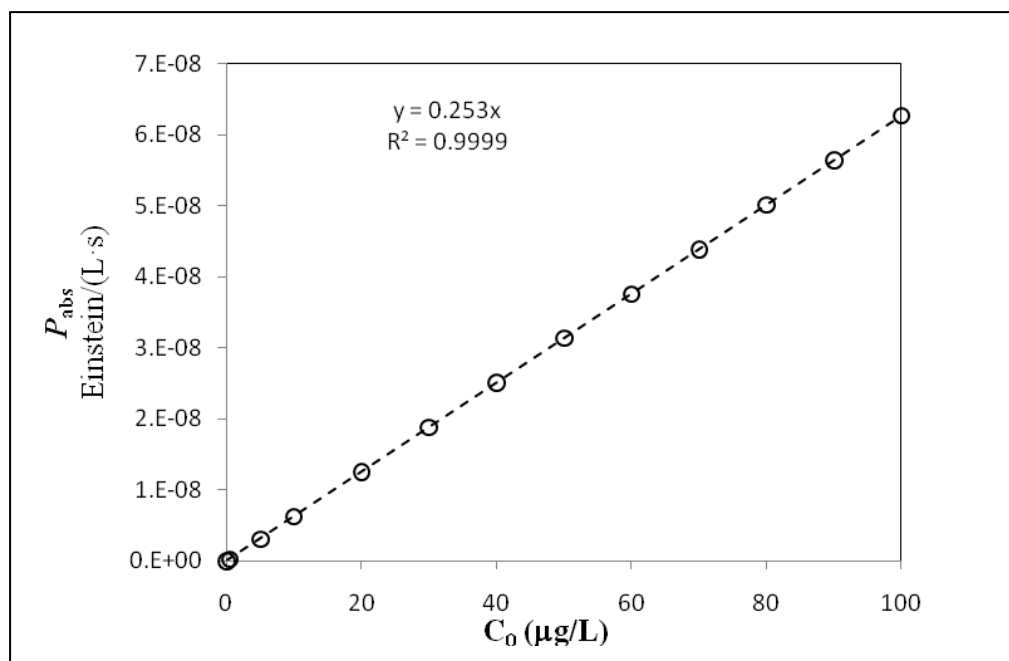
$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ ( $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ )	$\mu_\lambda \times 10^3$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$P_{emit,\lambda}$ (W)
255	16078	3,98	0,179
265	9086	2,25	0,358
275	3968	0,98	2,058
285	2360	0,58	5,190
295	2721	0,67	12,170
305	4612	1,14	5,369
315	8022	1,99	7,158
325	11796	2,92	7,606
335	13412	3,32	2,505
345	10540	2,61	2,505
355	5339	1,32	9,843
365	3968	0,98	23,087
375	4002	0,99	20,224
385	3502	0,87	6,084
395	2334	0,58	6,443
405	1142	0,28	23,981
415	582	0,14	65,144
425	409	0,10	28,813
435	372	0,09	13,154
445	363	0,09	11,186

La cantidad de energía que alcanza la superficie del reactor es de 11,78 W ( $3,57 \times 10^{-2} \text{ W/cm}^2$ ), mientras que para el fondo este valor depende de la concentración de ocratoxina A en la solución. Para una concentración de 100  $\mu\text{g/L}$ , el valor en el fondo del reactor fue de 9,78 W ( $2,96 \times 10^{-2} \text{ W/cm}^2$ ), lo que representa un 83,0% de la radiación en la superficie. La energía total absorbida por una solución de ocratoxina A de 100  $\mu\text{g/L}$  por el volumen total de reacción para todas las longitudes de onda es de  $1,7 \times 10^{-2} \text{ W}$  ( $6,27 \times 10^{-8} \text{ Einstein}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ). El espectro de emisión de la lámpara incluye la longitud de onda de 255 nm, ampliamente conocido por su efecto germicida. Para esta longitud de onda y el volumen total de reacción, la energía absorbida por una solución de ocratoxina A de concentración 100  $\mu\text{g/L}$ , es de  $7,6 \times 10^{-5} \text{ W}$  ( $2,3 \times 10^{-7} \text{ W/cm}^2$ ) y la dosis de radiación incidente en la superficie del reactor es de  $2,53 \times 10^{-5} \text{ W/cm}^2$ . Tal como se ha indicado en el apartado 4.3-2, estas dosis son suficientes para conseguir la inactivación de levaduras y bacterias, tanto vegetativas como esporuladas, con tiempos de tratamiento inferiores a 30 minutos.





**Figura 4.4-2.-** Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de ocratoxina A de  $100 \mu g/L$ .

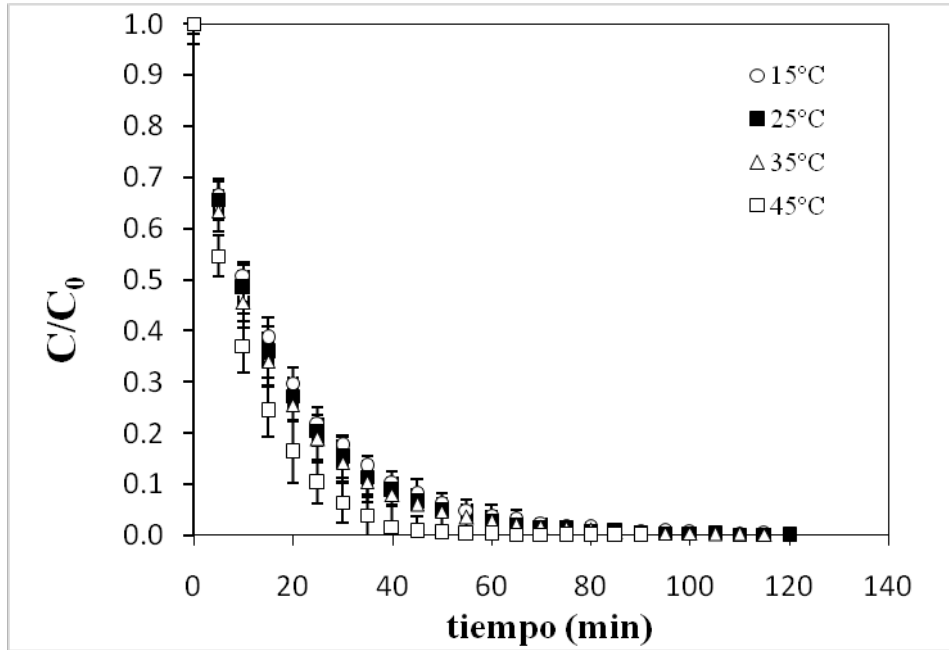


**Figura 4.4-3.-** Variación de  $P_{abs}$  en función de la concentración de ocratoxina A. Determinación de la constante de proporcionalidad  $k_R$ .

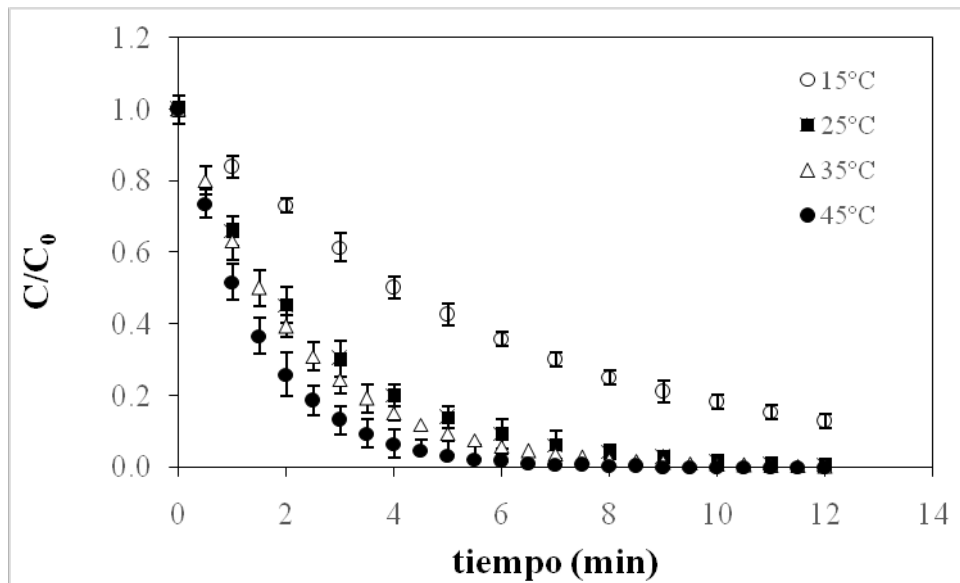
La concentración inicial de las soluciones de ocratoxina A que han sido tratadas mediante radiación UV ha sido de 100  $\mu\text{g/L}$ . Por ello, se ha calculado el valor de la potencia absorbida por unidad de volumen a distintas concentraciones de ocratoxina A, en el intervalo de 0,5 a 100  $\mu\text{g/L}$ . Para el cálculo de  $P_{abs}$  se ha utilizado la ecuación 4.2-18. En la Figura 4.4-3 se muestran los valores de  $P_{abs}$  frente a las concentraciones de ocratoxina A en el intervalo de concentraciones mencionado. Estos datos se han ajustado a una línea recta (Ec. 4.3-5) por el método de los mínimos cuadrados obteniendo un valor de la pendiente  $k_R = 0,253$  Einstein/(mol·s) con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9999$ .

#### 4.4.3.- Fotólisis de ocratoxina A en solución acuosa

Se han irradiado soluciones de ocratoxina A, con un contenido inicial en toxina de 100  $\mu\text{g/L}$ , a  $pH = 4$  y  $pH = 7$ . La Figura 4.4-4 muestra la evolución de la concentración relativa al contenido inicial de ocratoxina A a los dos  $pH$  ensayados, a diferentes temperaturas de trabajo (15, 25, 35 y 45°C).



(a)



(b)

**Figura 4.4-4.-** Evolución de la concentración relativa de ocratoxina A con el tiempo de irradiación, a diferentes temperaturas, para soluciones acuosas a (a)  $pH=4$ , y (b)  $pH=7$ .

Para  $pH = 7$ , y una temperatura de  $15^{\circ}\text{C}$ , se obtiene que al cabo de 12 minutos de irradiación se consigue una degradación de aproximadamente el 83%. Tal como se esperaba, cuanto mayor es la temperatura más rápida es la degradación; así, el tiempo necesario para conseguir la degradación total de ocratoxina A es de 10, 9 y 6,5 minutos, para 25, 35 y  $45^{\circ}\text{C}$ , respectivamente.

Para  $pH = 4$ , la fotodegradación de ocratoxina A es considerablemente más lenta. Para las temperaturas comprendidas entre 15 y  $35^{\circ}\text{C}$ , se necesitan aproximadamente 70 minutos para degradar totalmente la toxina. Sin embargo, si la temperatura de tratamiento se eleva a  $45^{\circ}\text{C}$ , se consigue la degradación total en 40 minutos.

En todos los casos, la evolución de la concentración de ocratoxina A disminuye exponencialmente, lo que se corresponde a una cinética de primer orden. Por ello, los datos experimentales mostrados en la Figura 4.4-4 se ajustan a la ecuación 4.4-6. Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.4-2 se muestran los parámetros obtenidos, así como los valores de los coeficientes de determinación  $R^2$ , cuyos valores varían entre 0,9901 y 0,9999, lo que indica la fiabilidad del modelo. En esta tabla se puede observar que los valores de la constante global de fotodegradación ( $m_O$ ) aumentan con la temperatura de tratamiento, de modo que cuanto más elevada es la temperatura mayor es el valor de esta constante y, por consiguiente, mayor será la degradación producida, lo que coincide con lo que se observa en la Figura 4.4-4. También se observa que a  $pH = 7$ , los valores de la constante global de fotodegradación son más elevados, lo cual indica que la fotodegradación es más alta en un medio neutro que en soluciones ácidas, lo que corrobora también lo mostrado en la Figura 4.4-4. A partir de los valores de la constante global de fotodegradación ( $m_O$ ) y con el valor de la constante  $k_R = 0,253$  Einstein/(mol·s), se puede obtener el valor de la constante  $K_O$  (rendimiento cuántico) utilizando la ecuación 4.4-7. En la tabla 4.4-2 se muestran los valores de esta constante para las soluciones irradiadas a los dos  $pH$  ensayados y las cuatro temperaturas de tratamiento. Tal como se podía esperar, este valor sigue la misma tendencia que la de la constante global  $m_O$ ; es decir, para un determinado valor de  $pH$  su valor aumenta con el aumento de la temperatura, mientras que a una misma temperatura, su valor es más alto para  $pH$  neutro. Como  $K_O$  representa el rendimiento cuántico de la reacción global de fotodegradación, se puede concluir que cuanto más alta sea la temperatura y más neutro el medio de reacción, más eficiente es la absorción de la energía radiante.

Además, con el valor de  $K_O$ , a partir de la ecuación 4.4-2 se puede calcular el valor de la relación  $k_D/k$ . Los valores de esta relación también se muestran en la Tabla 4.4-2, donde se puede observar que los valores fueron superiores a la unidad. Esto significa que en el mecanismo de reacción supuesto la etapa de decaimiento al estado fundamental es mayor que la de formación de fotoproductos. Sin embargo, también se puede observar que un aumento de temperatura hace que la relación  $k_D/k$  disminuya, de modo que la etapa de formación de fotoproductos llega a ser cada vez más importante en relación a la etapa de inactivación del estado excitado de ocratoxina A (OTA\*).

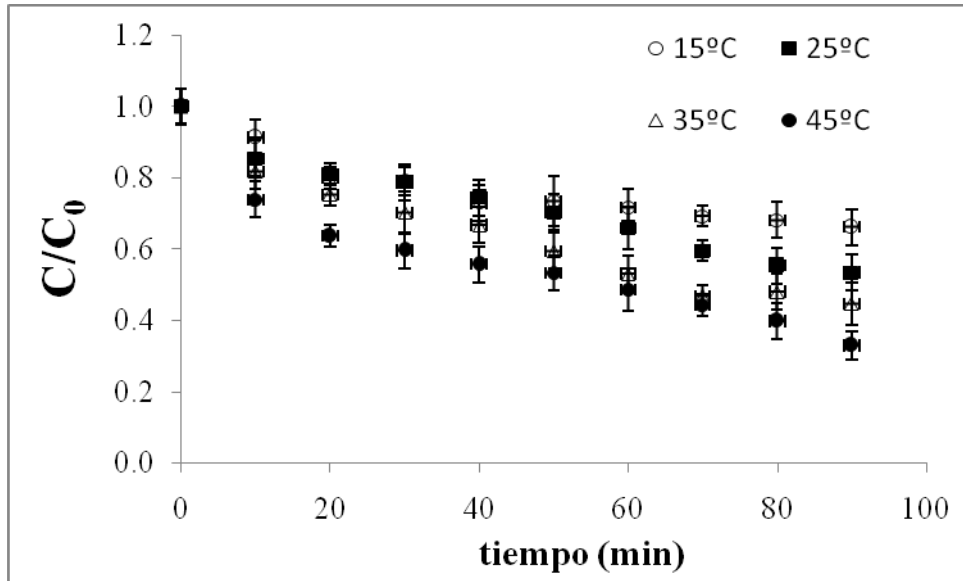
**Tabla 4.4-2.-** Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la fotodegradación de ocratoxina A en solución acuosa a  $pH = 4$  y  $pH = 7$ , a diferentes temperaturas.

$pH$	$T$ (°C)	$O. Origen$ ( $\mu g/L$ )	$m_{Ox} \times 10^2$ ( $min^{-1}$ )	$K_{Ox} \times 10^3$ (mol/einstein)	$k_D/k$	$R^2$
4.0	15	$0,898 \pm 0,018$	$4,96 \pm 0,04$	3,26	305,37	0,9988
4.0	25	$0,958 \pm 0,017$	$5,43 \pm 0,06$	3,57	278,85	0,9974
4.0	35	$0,889 \pm 0,019$	$5,47 \pm 0,05$	3,60	276,81	0,9984
4.0	45	$0,990 \pm 0,023$	$9,52 \pm 0,09$	6,26	158,62	0,9901
7.0	15	$1,008 \pm 0,003$	$17,16 \pm 0,02$	11,31	87,40	0,9996
7.0	25	$1,002 \pm 0,002$	$39,78 \pm 0,01$	26,18	37,20	0,9999
7.0	35	$1,047 \pm 0,009$	$48,48 \pm 0,02$	31,90	30,35	0,9996
7.0	45	$1,123 \pm 0,018$	$81,78 \pm 0,03$	53,82	17,58	0,9966

#### 4.4.4.- Fotodegradación de ocratoxina A en mosto de uva

A partir de un mosto comercial de uva de 12°Brix, obtenido en un supermercado de Lleida, que estaba exento de ocratoxina A, se prepararon muestras a las que se añadió ocratoxina A para obtener un mosto final con un contenido de 100 µg/L en dicha toxina. Estas muestras fueron irradiadas durante 90 minutos a las temperaturas de 15, 25, 35 y 45°C. En la Figura 4.4-5 se muestra la evolución del contenido relativo de ocratoxina A con el tiempo de irradiación. Esta figura muestra que a medida que aumenta la temperatura se consigue una mayor reducción de ocratoxina A en el mosto; así, después de 90 minutos de irradiación, se consiguió una reducción de ocratoxina A de aproximadamente un 45% y 67% para las temperaturas de 15 y 45°C. Al comparar las Figuras 4.4-4a y 4.4-5 se puede observar que el grado de fotodegradación en el mosto es considerablemente menor que en la solución acuosa. Esto podría ser debido al hecho de que el mosto contiene pigmentos que absorben parte de la radiación incidente, produciendo un efecto fotoprotector. Este efecto fotoprotección es el resultado global del efecto de varias sustancias presentes en el mosto, como son ácido ascórbico (Fan y Geveke, 2007), melanoidinas (Falguera *et al*, 2013), así como el efecto fotodegradativo de otras sustancias tal como la fructosa (Elsinghorst y Tikekar, 2014).

Tal como ocurría con la fotodegradación de ocratoxina A en solución acuosa, la variación de esta toxina en el mosto decae exponencialmente con el tiempo de irradiación. Con el fin de obtener las constantes globales de degradación, los datos experimentales mostrados en la Figura 4.4-5 se ha ajustado a la ecuación 4.4-6. Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.4-3 se muestran los valores de los parámetros obtenidos en estos ajustes, donde los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) muestran valores comprendidos entre 0,8746 y 0,9800. En esta tabla se puede observar que los valores de las constantes cinéticas globales ( $m_0$ ) aumentan con el aumento de la temperatura de tratamiento. Si se comparan los datos de las Tablas 4.4-2 y 4.4-3 se observa que los valores de las constantes globales de fotodegradación son mucho más bajas en las muestras de mosto, lo que corrobora lo que se ha descrito sobre el efecto fotoprotector de las sustancias presentes en el mosto.



**Figura 4.4-5.-** Evolución del contenido de ocratoxina A en mosto de uva, con el tiempo de irradiación a diferentes temperaturas.

**Tabla 4.4-3. -** Parámetros de los ajustes a cinéticas de primer orden para la fotodegradación de ocratoxina A en mosto de uva, a diferentes temperaturas.

$T$ (°C)	$O. Origen$	$m_0 \times 10^2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
15	$0,920 \pm 0,015$	$0,41 \pm 0,12$	0,8746
25	$0,955 \pm 0,009$	$0,66 \pm 0,05$	0,9800
35	$0,923 \pm 0,011$	$0,87 \pm 0,07$	0,9675
45	$0,862 \pm 0,013$	$1,02 \pm 0,09$	0,9470

#### 4.4.5.- Compensación cinética-termodinámica

Del mismo modo que se ha operado con la patulina, en el caso de la ocratoxina A, también se ha estudiado la posible existencia de que se presente compensación cinética y termodinámica. Por ello, se han llevado a cabo nuevos experimentos a  $pH$  3, 5, 6 y 6,5, a las mismas temperaturas utilizadas en los tratamientos fotoquímicos que se habían realizado a  $pH$  4. Los datos experimentales de la evolución del contenido de ocratoxina A con el tiempo de irradiación, para todos los  $pH$  y temperaturas ensayadas, se han ajustado a cinéticas de primer orden (Ec. 4.4-6), esto ha permitido encontrar los valores de las constantes cinéticas globales de fotodegradación.

En la Tabla 4.4-4 se muestran los parámetros del ajuste. Tanto los parámetros como el ajuste han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En esta tabla se observa que para un valor determinado de  $pH$  los valores de la constante cinética global de fotodegradación tienen tendencia a aumentar con el aumento de la temperatura de operación. También se observa que para una determinada temperatura los valores de las constantes tienden a aumentar con la disminución de acidez del medio de reacción, lo que indica que la degradación fotoquímica de ocratoxina A se ve favorecida al aumentar el  $pH$ .

#### *Compensación cinética*

Con el fin de evaluar el efecto que la temperatura ejerce en el proceso global de fotodegradación de ocratoxina A a los diferentes  $pH$  ensayados, la variación de las constantes cinéticas globales con la temperatura se ha ajustado a la ecuación de Arrhenius (Ec. 1.6-9), habiendo obtenido que tanto el ajuste como los parámetros de este ajuste son significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.4-5 se muestran los valores obtenidos en el ajuste, donde se observa que al aumentar el  $pH$  del medio de reacción los valores de las energías de activación disminuyen. Esto indica que para un mismo incremento de temperatura la fotodegradación se ve más favorecida cuanto mayor es la acidez del medio de reacción, corroborando lo observado a partir de los datos de la Tabla 4.4-4. Así, para  $pH=3$ , que presenta un valor de  $20,42 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  para la energía de activación, al subir la temperatura desde  $15$  a  $45^\circ\text{C}$  se obtiene un incremento del  $127,95\%$  en el valor la constante cinética de reacción; mientras que para el valor más elevado de  $pH=6,5$ , con una energía de activación de  $6,20 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , para la



misma variación de temperatura el incremento en el valor de las constantes de reacción es del 28,00%.

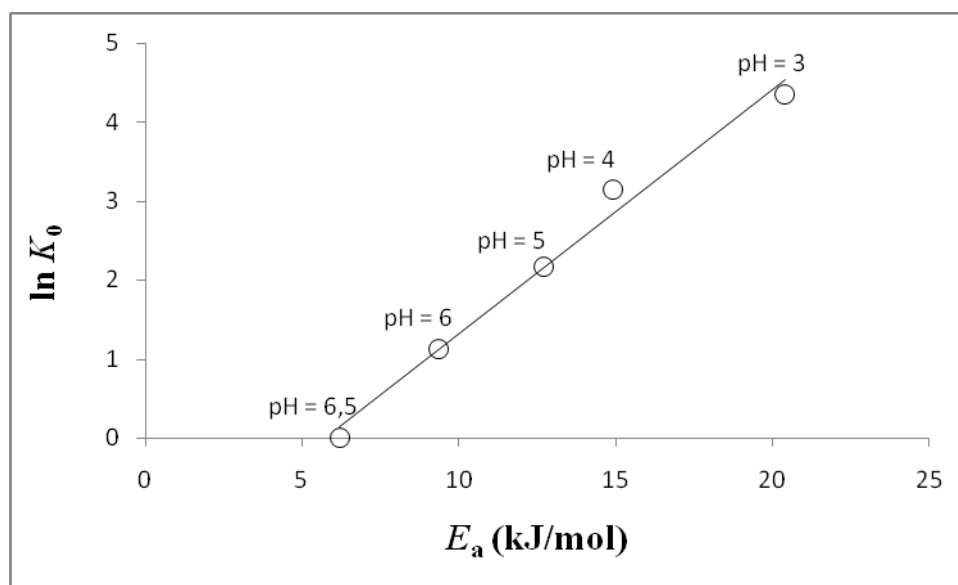
Para valores intermedios de *pH* (4, 5 y 6), los valores de las energías de activación presentan valores de 14,93, 12,72 y 9,76 kJ/mol, los valores de las constantes aumentan en un 91,94%, 66,43% y 39,54, respectivamente. Lo que indica claramente que un mayor valor de la energía de activación produce un mayor incremento porcentual en el valor de la constante cinética global de fotodegradación.

**Tabla 4.4-4.-** Parámetros del ajuste a la Ec. 4.4-6 para fotodegradación de ocratoxina A en solución acuosa.

<i>pH</i>	<i>T</i> (°C)	$m_0 \times 10^2$ (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$\Delta G^\#$ (J/mol)
3	15	1,61 ± 0,07	0,9980	25479
	25	1,97 ± 0,06	0,9984	25742
	35	2,46 ± 0,12	0,9924	26005
	45	3,67 ± 0,11	0,9455	26268
4	15	4,96 ± 0,04	0,9988	22809
	25	5,43 ± 0,04	0,9974	23090
	35	5,47 ± 0,03	0,9984	23371
	45	9,52 ± 0,14	0,9901	23652
5	15	4,29 ± 0,23	0,9361	22995
	25	5,25 ± 0,16	0,9805	23439
	35	6,05 ± 0,14	0,9847	23883
	45	7,14 ± 0,24	0,9275	24327
6	15	6,45 ± 0,11	0,9968	22140
	25	6,55 ± 0,05	0,9985	22671
	35	8,29 ± 0,08	0,9905	23202
	45	9,00 ± 0,12	0,9476	23733
6,5	15	7,50 ± 0,09	0,9943	21681
	25	8,13 ± 0,09	0,9954	22306
	35	8,76 ± 0,22	0,9471	22931
	45	9,60 ± 0,21	0,9488	23556

**Tabla 4.4-5.-** Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius para los diferentes *pH* ensayados.

<i>pH</i>	$E_a$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )	$k_0$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$
3	20,42	77,23	0,9799
4	14,93	23,01	0,9907
5	12,72	8,76	0,9987
6	9,36	3,09	0,9473
6.5	6,20	1,00	0,9979



**Figura 4.4-6.-** Compensación cinética para la fotodegradación de ocratoxina A.

Para comprobar si existe compensación cinética, los valores de  $\ln k_0$  y de  $E_a$ , mostrados en la Tabla 4.4-5, se ajustan a la ecuación 1.6-12. En la Figura 4.4-6 se muestra la representación gráfica de estos datos, donde se observa que los datos se muestran alineados, lo que indica que existe compensación cinética. El ajuste de los datos permite obtener la siguiente ecuación:

$$\ln k_0 = (-1,786 \pm 0,174) + (0,3098 \pm 0,0181)E_a ; \quad R^2 = 0,9874$$

Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. Al comparar estos resultados con la ecuación 1.6-12, a partir del valor de la pendiente y teniendo en cuenta la ecuación 1.6-16, es posible obtener el valor de la temperatura isocinética. Asimismo, del valor de la ordenada en el origen se obtiene el valor de la constante cinética global de reacción para esta temperatura. Los valores obtenidos de esas variables son:

$$T_{\text{iso}} = (115 \pm 21,4) \text{ } ^\circ\text{C}$$

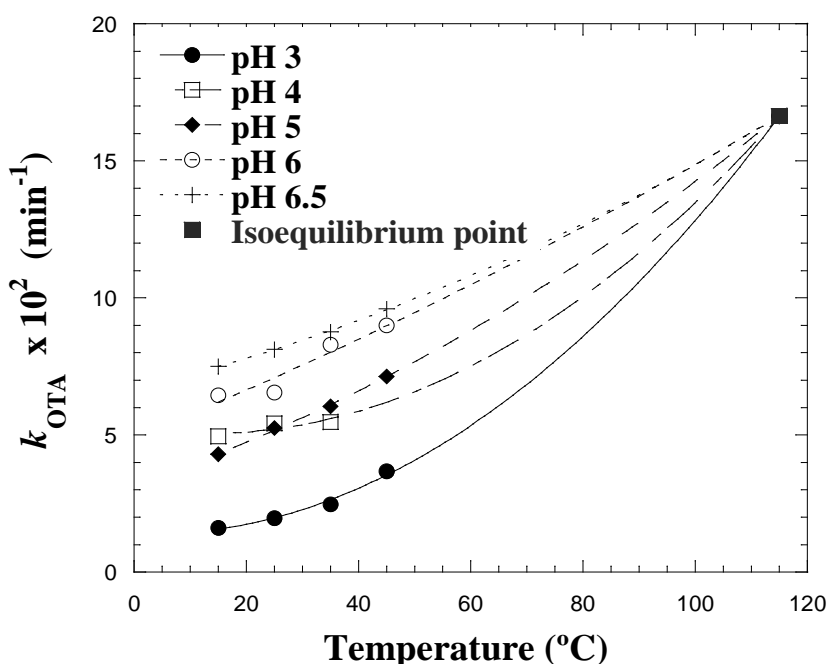
$$k_{\text{iso}} = (16,76 \pm 1,83) \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$$

En el presente trabajo las temperaturas utilizadas han sido 15, 25, 35 y 45°C, por lo que al aplicar la ecuación 1.6-30, se obtiene un valor de la temperatura media armónica de  $T_{\text{hm}} = 29,8^\circ\text{C}$ .

Como la temperatura isocinética obtenida es de 115°C, su valor es superior al de la temperatura media armónica (29,8°C), lo que permite concluir que el mecanismo que controla la degradación fotoquímica de ocratoxina A es entálpico. Que el mecanismo de control sea entálpico indica que en esta reacción la energía de activación ( $E_a$ ) influye más en el valor de la constante cinética global de fotodegradación de ocratoxina A que el factor de frecuencia  $k_0$ .

También se observa que la temperatura isocinética presenta un intervalo de variación de 93,3 a 136,4°C, cuyo valor mínimo es muy superior al valor de la temperatura media armónica (29,8°C), lo que corrobora que el mecanismo controlante es el entálpico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).

En la Figura 4.4-7 se han representado los valores de las constantes cinéticas globales ( $m_0$ ) a los diferentes *pH* y temperaturas de trabajo. Asimismo, en esta figura se ha incluido el punto correspondiente al valor de la constante cinética  $k_{\text{iso}} = 16,76 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ , correspondiente a la temperatura isocinética  $T_{\text{iso}} = 115^\circ\text{C}$ . Se observa que la tendencia de las constantes cinéticas es la de converger hacia este punto, lo que indicaría que para esta temperatura isocinética la constante cinética de fotodegradación adquiere un valor constante cualquiera que sea el *pH* del medio de reacción (Flores-Andrade *et al.*, 2009).



**Figura 4.4-7.-** Valores de las constantes para la fotodegradación de ocratoxina A en función de la temperatura para diferentes valores de *pH*.

### **Compensación termodinámica**

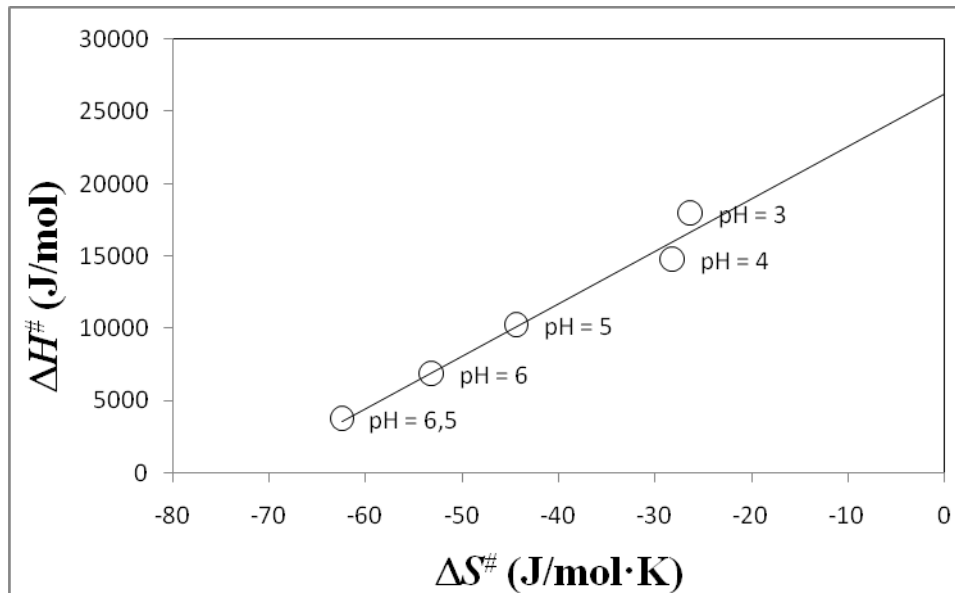
Con los datos de las constantes cinéticas de fotodegradación mostrados en la Tabla 4.4-4 es posible calcular los valores de las entalpías y entropías del estado de transición.

Si se representan los valores de  $\ln\left(\frac{k \cdot h_p}{k_B \cdot T}\right)$  frente a la inversa de la temperatura absoluta

( $1/T$ ) se obtiene una recta (Ec. 1.6-8), a partir de esta recta, con el valor de la ordenada en el origen es posible calcular la variación de entropía del estado de transición ( $\Delta S^\ddagger$ ). A partir de la pendiente se obtiene el correspondiente valor de la variación de entalpía del estado de transición ( $\Delta H^\ddagger$ ). Tanto los ajustes como los estimados de los parámetros han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.4-6 se muestran los valores obtenidos en los ajustes.

**Tabla 4.4-6.-** Valores de la variación de entropía y entalpía para los estados de transición a los diferentes *pH* ensayados, para fotodegradación de ocratoxina A.

<i>pH</i>	$\Delta S^\ddagger$ (J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$\Delta H^\ddagger$ (J·mol <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
3	-26,3	17905	0,9745
4	-28,1	14716	0,9649
5	-44,4	10208	0,9978
6	-53,1	6847	0,9085
6,5	-62,5	3681	0,9949



**Figura 4.4-8.-** Compensación termodinámica para la fotodegradación de ocratoxina A.

Con el fin de estudiar si se presenta compensación termodinámica se representan los valores de  $\Delta H^\ddagger$  frente a  $\Delta S^\ddagger$ , cuya gráfica se muestra en la Figura 4.4-8. En esta figura se observa que los puntos están alineados, de modo que los datos de la Tabla 4.4-6 se han ajustado a la ecuación 1.6-19, obteniendo la expresión:

$$\Delta H^\ddagger = (2,665 \pm 0,018) \times 10^4 + (362,1 \pm 6,7) \Delta S^\ddagger ; \quad R^2 = 0,9754$$

Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. La pendiente de esta recta se corresponde con la temperatura isocinética Ec. 1.6-23), mientras que la ordenada en el origen es el valor de la variación de energía libre Gibbs para esta temperatura. De modo que se tiene:

$$T_{\text{iso}} = (89,1 \pm 23,5) \text{ } ^\circ\text{C}$$

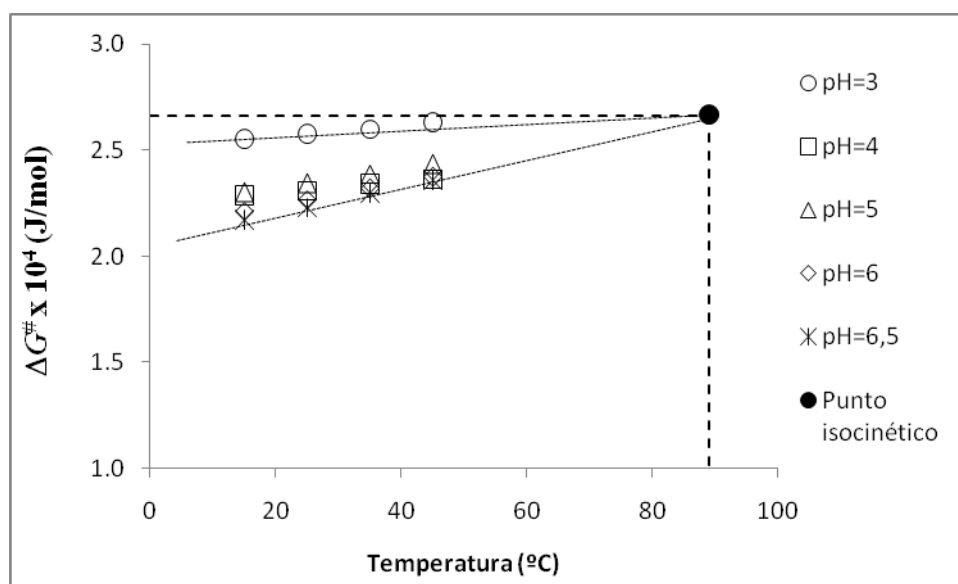
$$\Delta G_{\text{iso}} = (2,665 \pm 0,018) \times 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Al comparar el valor de la temperatura isocinética con la temperatura media armónica se observa que su valor es superior, por lo que se puede afirmar que el mecanismo que controla la degradación fotoquímica de ocratoxina A es entálpico. También se observa que el intervalo de variación de la temperatura isocinética va desde 65,6 a 112,6°C. Como el valor inferior que puede presentar la temperatura isocinética es netamente superior a la temperatura media armónica (29,8°C), al igual que ocurría con la compensación cinética, se puede concluir que el mecanismo controlante es el entálpico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).

Con valores obtenidos de  $\Delta S^\ddagger$  y  $\Delta H^\ddagger$ , para cada uno de los *pH* ensayados, mostrados en la Tabla 4.4-6, es posible obtener los valores de las energías libres de Gibbs para cada una de las series experimentales que se han realizado, a partir de la ecuación:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (4.3-8)$$

En la última columna de la Tabla 4.4-4 se presentan estos valores para todos los *pH* y temperaturas ensayados. Se observa que para todos los *pH* ensayados, los valores de la energía libre de Gibbs tienden a disminuir con la disminución de temperatura y seguramente llegan a converger en el punto correspondiente a la temperatura isocinética, cuyo valor es de  $2,665 \times 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$ . En la Figura 4.4-9 se representan los valores de la energía libre de Gibbs para todas las temperaturas ensayadas y *pH* de trabajo. En esta figura se puede ver claramente que la tendencia es la de converger hacia el valor de la energía de Gibbs correspondiente a la temperatura isocinética.



**Figura 4.4-9.-** Cambios de la energía libre de Gibbs en función de la temperatura para cada valor de *pH*.

## 4.5.- Fotodegradación de tiabendazol

El tiabendazol (2-(4-Thiazolyl)-1 H-benzimidazole) (TBZ) es un fungicida sistémico de amplio espectro utilizado para controlar diversas plagas (mohos y podredumbres) en todo tipo de cultivos, tanto en tratamientos pre-cosecha como en la post-recolección, de una amplia variedad de frutas y hortalizas (Norman *et al.*, 1972; Mestres *et al.*, 1972; Farrow *et al.* 1977; Papadopoulou-Mourkidou, 1991).

Si bien el tiabendazol y sus productos de degradación son poco tóxicos para el hombre y los animales (Zbozinek, 1984), su utilización masiva hace que, en muchas ocasiones, aguas residuales y alimentos tratados con este pesticida presenten contaminación pudiendo provocar un aumento de resistencia en algunos microorganismos (Roca-Jalil *et al.*, 2014).

Tal como se ha indicado en el apartado 1.1, muchas frutas, previo a su almacenamiento bajo frigoconservación, son tratadas con soluciones de tiabendazol para evitar problemas de crecimiento de hongos, lo que provoca que las frutas estén impregnadas de este plaguicida, y muy probablemente el tiabendazol pasará al producto final. Tal como se ha comentado, en más de seiscientas muestras de zumos de naranjas, de diferentes puntos de Estados Unidos, se encontraron 21 plaguicidas diferentes, siendo los más frecuentes benomilo y carbendazima, seguidos de imazalil y tiabendazol (EFSA, 2011). La presencia de este plaguicida se puede minimizar aumentando la intensidad en la etapa de lavado de la fruta.

Ya se ha indicado que para eliminación los plaguicidas en solución acuosa se han utilizado diversos adsorbentes naturales (Crini, 2006; Roca-Jalil *et al.*, 2014), así como sistemas que combinan un biorreactor de membrana seguido de un proceso de oxidación avanzada (Fenton/solar Photo-Fenton) (Sánchez-Pérez *et al.*, 2014). Los tratamientos biológicos convencionales han mostrado que son incapaces de eliminar el tiabendazol (Bolong *et al.*, 2009). Muchos de estos tratamientos son de difícil aplicación para eliminar el tiabendazol presente en zumos y derivados de frutas, ya que afectarían las características sensoriales y nutritivas del propio producto. Por ello, un tratamiento alternativo a la eliminación de tiabendazol en zumos sería la aplicación de radiación UV, que ya se ha demostrado que es efectiva en la degradación de otros contaminantes tóxicos en zumos y soluciones acuosas (Ibarz *et al.*, 2014, 2015a) sin que se muestren cambios significativos en sus propiedades fisicoquímicas (Aguilar *et al.*, 2016; Falguera *et al.*, 2011a).



Debido a que una gran cantidad de zumos presentan valores de  $pH$  comprendidos entre 3 y 5 (Koutchma, 2009b; Falguera *et al.*, 2012), se pretende estudiar la degradación fotoquímica de tiabendazol en soluciones acuosas a  $pH$  3, 4 y 5, utilizando una lámpara de mercurio de media presión que emite en el intervalo UV-Visible del espectro electromagnético. Asimismo, en este estudio se presenta el posible mecanismo de fotodegradación, lo que permite obtener una ecuación cinética para describir de forma adecuada dicha degradación fotoquímica.

#### 4.5.1.- Mecanismo de fotodegradación de tiabendazol

Para la degradación fotoquímica de tiabendazol (TBZ) se supone un mecanismo de reacción análogo al mostrado en el apartado 1.5.5 y el mismo que se ha utilizado para la fotodegradación de patulina y ocratoxina A. El esquema de reacción es el siguiente:



Este mecanismo de fotodegradación consta de tres etapas, en la que en la primera se supone que la molécula de tiabendazol absorbe la radiación pasando de su estado fundamental (TBZ) a un estado excitado (TBZ\*). La molécula en su estado excitado puede decaer a su estado fundamental o degradarse para dar fotoproductos. Al suponer estado pseudoestacionario para el intermedio excitado TBZ\*, la velocidad intensiva de reacción se expresa como:

$$r_{\text{TBZ}} = -K_{\text{TBZ}} P_{\text{abs}} \quad (4.5-1)$$

En la que  $K_{\text{TBZ}}$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$ , de modo que:

$$K_{\text{TBZ}} = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (4.5-2)$$

En la que la constante  $K_{\text{TBZ}}$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de TBZ degradados por mol de fotones (Einstein) absorbidos.

Las irradiaciones se han llevado a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen  $V$ , trabajando en discontinuo. Si se aplica un balance de materias para la tiabendazol, se obtiene:

$$\frac{d C_{TBZ}}{d t} = \frac{1}{V} \int_V r_{TBZ} dV \quad (4.5-3)$$

Al introducir la expresión de la velocidad de reacción (Ec. 4.5-1), se obtiene:

$$\frac{d C_{TBZ}}{d t} = -K_{TBZ} P_{abs} \quad (4.5-4)$$

Para integrar esta ecuación es preciso conocer la relación que existe entre  $P_{abs}$  y la concentración de tiabendazol ( $C_{TBZ}$ ). En el caso que exista una relación lineal entre la potencia radiante absorbida y la concentración de tiabendazol, se obtiene una cinética de primer orden:

$$P_{abs} = k_R C_{TBZ} \quad (4.5-5)$$

$$C_{TBZ} = C_{TBZ}^0 \cdot \exp(-m_{TBZ} \cdot t); \quad m_{TBZ} = K_{TBZ} \cdot k_R \quad (4.5-6)$$

Esta relación lineal puede esperarse que se cumpla para bajos valores de la concentración (lo que supone bajos valores de los coeficientes de absorción) (Garvín *et al.*, 2015). Así, la radiación que recibe la disolución no es absorbida en su totalidad debido a que la presencia de las moléculas que absorben es baja.

En el caso que la concentración de TBZ sea muy elevada, toda la radiación que llega a la superficie del reactor ( $P(0)$ ) es absorbida la solución reaccionante, de este modo:

$$P_{abs} = P(0) = k_R \quad (4.5-7)$$

La integración de la ecuación 4.5-4 conduce a la expresión:

$$C_{TBZ} = C_{TBZ}^0 - m_{TBZ} \cdot t; \quad m_{TBZ} = K_{TBZ} \cdot k_R \quad (4.5-8)$$

Para valores intermedios de concentración y en intervalos definidos se ha encontrado que  $P_{abs}$  es una función lineal del tipo:

$$P_{abs} = a + b \cdot C_{TBZ} \quad (4.5-9)$$

En este caso, la integración de la ecuación 4.5-4 conduce a la expresión:

$$\ln\left(\frac{a + b \cdot C_{TBZ}^0}{a + b \cdot C_{TBZ}}\right) = b \cdot K_{TBZ} \cdot t; \quad m_{TBZ} = b \cdot K_{TBZ} \quad (4.5-10)$$

$$C_{TBZ} = -\frac{a}{b} + \left(\frac{a}{b} + C_{TBZ}^0\right) \exp(-b \cdot K_{TBZ} \cdot t)$$

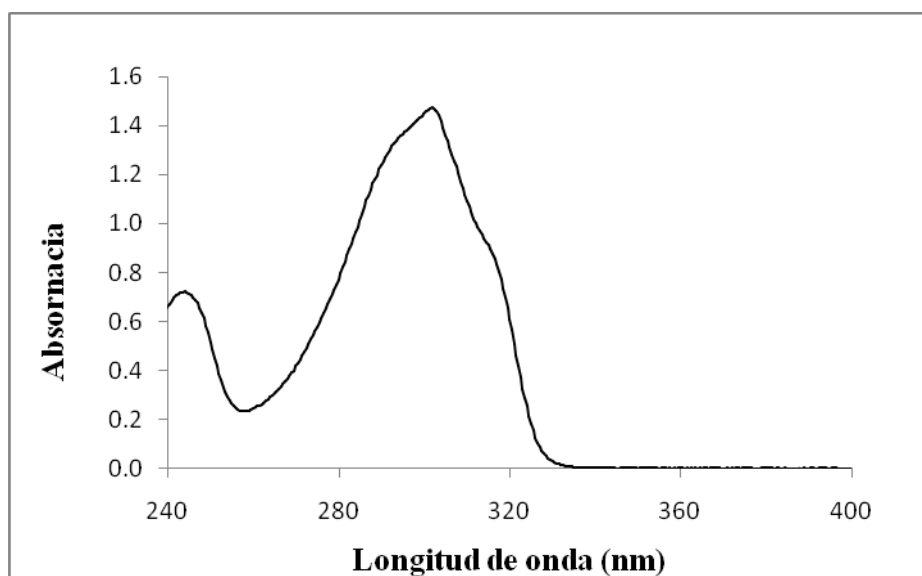
Dependiendo de la concentración de tiabendazol en el medio de solución, la dependencia de la potencia absorbida con dicha concentración será diferente y ello implicará que el modelo cinético pueda ser de orden cero, primer orden o pseudoprimer orden.

#### 4.5.2.- Potencia radiante absorbida en función de la concentración de tiabendazol

En la Figura 4.5-1 se muestra el espectro de absorción de una solución acuosa de tiabendazol de 10 mg/L. Se observa que este compuesto presenta una banda de absorción entre 200 y 335 nm. La lámpara utilizada en el presente trabajo presenta bandas de emisión en este el intervalo de 255 a 335 nm (Figura 3.2-4). Por tanto, es de esperar que la energía emitida por la lámpara en este intervalo de longitudes de onda sea absorbida por el tiabendazol, y esto puede provocar posibles reacciones fotoquímicas de degradación de este compuesto. Es importante resaltar que, a pesar que el espectro de absorción de tiabendazol incluye longitudes de onda de 200 a 255, como la lámpara no emite en este intervalo, no habrá interacción entre la emisión y absorción para este intervalo. A partir de la Figura 4.5-1 es posible obtener los valores de los coeficientes de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) para diferentes longitudes de onda (Tabla 4.5-1), así como los valores de los coeficientes de absorción para una solución de tiabendazol de 10 mg/L. A diferencia de lo que ocurría con la patulina y ocratoxina A, se observa que los valores de los coeficientes de absorción del tiabendazol son elevados, con lo que la energía

radiante que absorberá la disolución de tiabendazol será más elevada que en el caso de las soluciones de toxinas. En esta misma tabla se ha incluido una columna en la que se muestran los valores de la potencia emitida por la lámpara a las longitudes de onda correspondientes a la absorción de tiabendazol.

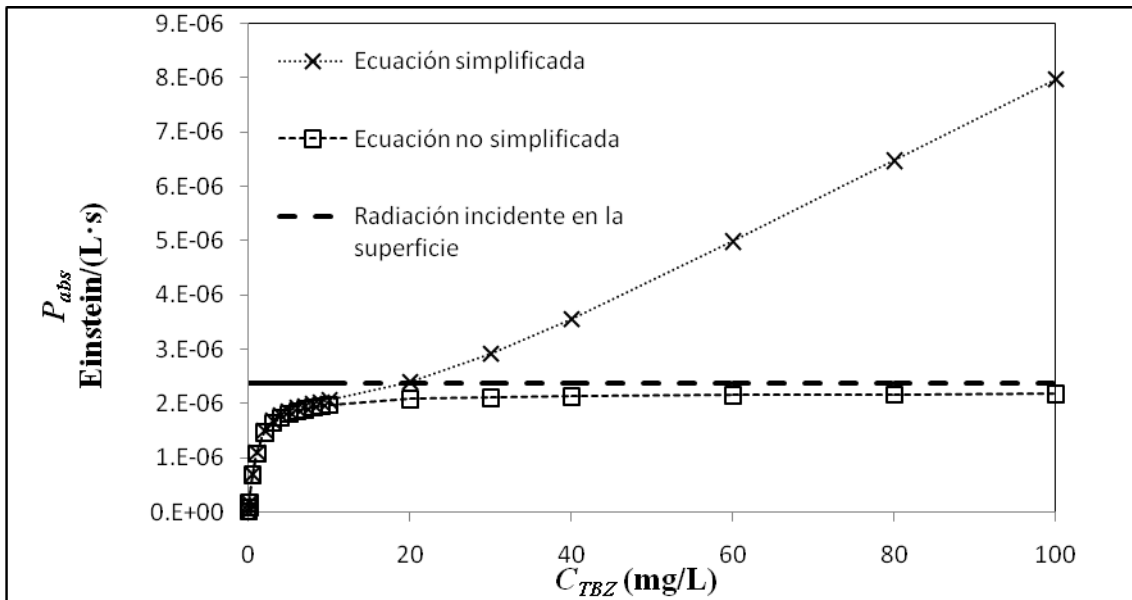
Para el cálculo de la potencia radiante espectral absorbida por la solución de tiabendazol no se puede aplicar la ecuación simplificada (Ec. 4.2-18), sino que debe aplicarse la ecuación 4.3-15. Sin embargo, se ha calculado la potencia radiante espectral con ambas ecuaciones, mostrando en la Figura 4.5-2 la variación de esta potencia en función de la concentración de tiabendazol. Ambas ecuaciones dan resultados parecidos para concentraciones de tiabendazol inferiores a 10 mg/L, pero divergen notablemente para concentraciones por encima de este valor. Se puede observar que  $P_{\text{abs}}$  tiende asintóticamente al valor de la radiación incidente en la superficie del reactor ( $P(0)$ ).



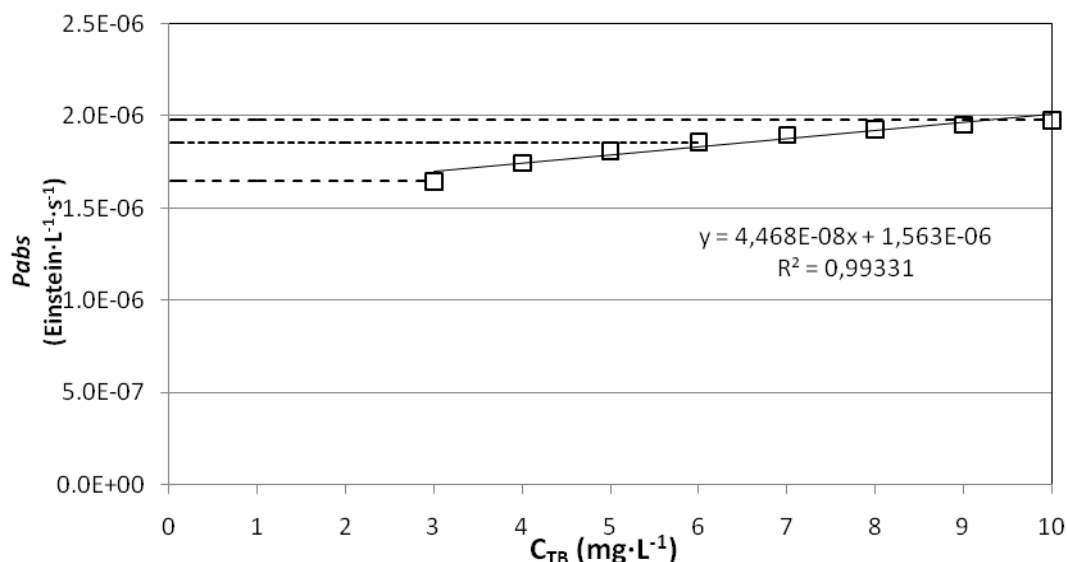
**Figura 4.5-1.-** Espectro de absorción de una solución de tiabendazol de 10 mg/L.

**Tabla 4.5-1.-** Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) de tiabendazol y coeficientes de absorción de soluciones acuosas de tiabendazol para 10 mg/L, a diferentes longitudes de onda.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\mu_\lambda$ (cm <sup>-1</sup> )	$P_{emit,\lambda}$ (W)
255	11014,5	0,547	0,179
265	12682,7	0,630	0,358
275	21679,4	1,077	2,058
285	36965,7	1,837	5,190
295	49752,9	2,472	12,170
305	47820,1	2,376	5,369
315	30559,3	1,518	7,158
325	5751,0	0,286	7,606
335	243,4	0,012	2,505



**Figure 4.5-2.-** Potencia radiante espectral absorbida en función de la concentración de tiabendazol utilizando las ecuaciones simplificada y no simplificada.



**Figure 4.5-3.-** Potencia radiante espectral total absorbida por la solución ( $P_{abs}$ ) de tiabendazol entre 3 y 10 mg/L.

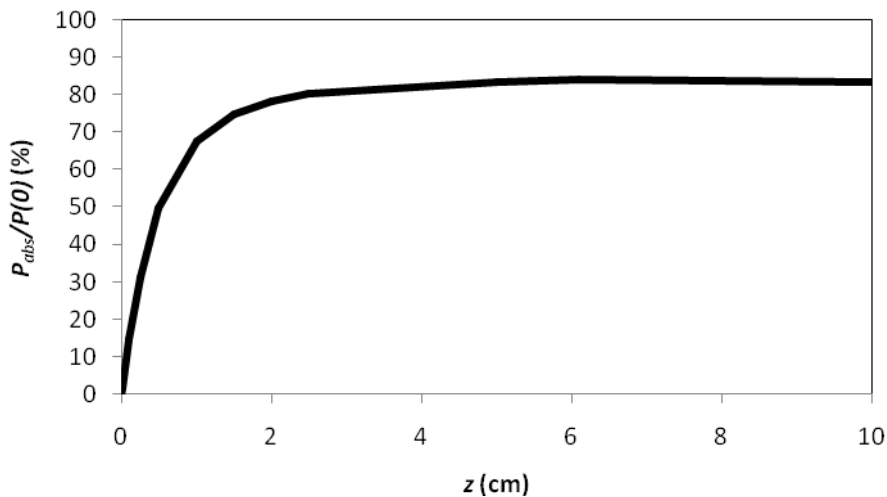
Aunque la Figura 4.5-2 muestra claramente que la relación entre la potencia radiante absorbida y la concentración de tiabendazol es una curva que aumenta asintóticamente hacia el valor de la potencia de radiación incidente a la superficie del reactor, para estrechos intervalos de concentración se podría ajustar a una línea recta. Para concentraciones muy bajas, por debajo de 1 mg/L, se puede ajustar a una recta que pasa por el origen de coordenadas. En este caso, la relación se describe mediante la ecuación 4.5-5, de modo que para valores bajos de concentración se puede esperar que la degradación de tiabendazol siga una cinética de primer orden.

La concentración inicial de las soluciones de tiabendazol que han sido tratadas mediante radiación UV ha sido de 10 mg/L, y es por ello que se hace hincapié en el cálculo de la potencia absorbida para soluciones con un contenido en tiabendazol inferior a este valor. Para soluciones de tiabendazol con concentraciones comprendidas entre 3 y 10 mg/L la potencia radiante absorbida sigue una relación lineal con la concentración (Figura 4.5-3), pero la ecuación obtenida presenta un valor de la ordenada en el origen diferente de cero; de modo que la ecuación 4.5-9 describe esta relación y por consiguiente se puede esperar que la cinética que describa el proceso de fotodegradación sea de pseudo-primer orden. En la Tabla 4.5-2 se muestran los parámetros de los ajustes obtenidos en este caso. Conviene resaltar que el valor de la ordenada en el origen obtenido ( $1,563 \times 10^{-6}$ ) es mucho más elevado que el valor de la

pendiente ( $4,468 \times 10^{-8}$ ). Para el intervalo de concentraciones considerado se obtienen valores de  $P_{abs}$  de  $1,65 \times 10^{-6}$  y  $1,98 \times 10^{-6}$  einstein/(L·s) para 3 y 10 mg/L, respectivamente. Por consiguiente, en este intervalo de concentraciones se podría considerar que  $P_{abs}$  es casi constante, con un valor promedio de  $1,85 \times 10^{-6}$  einstein/(L·s), que también se recoge en la Tabla 4.5-2. Por lo tanto, esto supone considerar que el valor de  $P_{abs}$  es constante, es decir se cumple la ecuación 4.5-7, por lo que los datos experimentales de la fotodegradación pueden ajustarse a un modelo cinético de orden cero (Ecuación 4.5-8).

**Tabla 4.5-2.-** Parámetros de los ajustes obtenidos para la relación entre  $P_{abs}$  y la concentración de tiabendazol.

Intervalo $C_{TBZ}$ (mg·L <sup>-1</sup> )	Ecuación	Modelo cinético	Parámetros	R <sup>2</sup>
3-10	$P_{abs} = a + bC_{TBZ}$	Pseudo- primer-orden	$a = 1,563 \times 10^{-6} \text{ E} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $b = 4,468 \times 10^{-8} \text{ E} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	0,9933
	$P_{abs} = k_R$	Orden cero	$k_R = 1,853 \times 10^{-6} \text{ E} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	---



**Figure 4.5-4.-** Dependencia de la relación radiación absorbida/radiación incidente con la profundidad del reactor para una disolución de tiabendazol de 10 mg/L.

La Figura 4.5-4 muestra que la relación entre la radiación absorbida y la radiación incidente sobre la superficie del reactor, para una disolución de 10 mg/L de tiabendazol, varía con la profundidad del reactor, aumentando de forma asintótica cuando la profundidad del reactor aumenta. Para esta concentración, la radiación absorbida no puede alcanzar valores superiores al 80% de la radiación incidente sobre la superficie, independientemente de la profundidad del reactor. Cuanto más elevada sea la concentración más alta es la fracción de radiación incidente que se podría absorber. Si el reactor tuviera la suficiente profundidad para una determinada concentración de tiabendazol, un aumento mayor de la profundidad no conduciría a un aumento de la radiación absorbida. Los rayos que siguen caminos que alcanzan la zona superior de las superficies laterales del reactor sólo serían totalmente absorbidos si la concentración de tiabendazol fuera lo suficientemente elevada. La profundidad de reactor necesaria para que la radiación absorbida sea el 50% de la radiación incidente en la superficie es de aproximadamente 0,5 cm, contradiciendo con ello el concepto preconcebido de que la radiación únicamente llega a la superficie. Obviamente, la profundidad de penetración depende del coeficiente de absorción (Garvín *et al.*, 2015), que a su vez depende de la concentración de la sustancia absorbente ( $\mu_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot C$ ). De todos modos, sea cual sea la concentración de la sustancia que absorbe, si la solución se agita, la radiación puede llegar a cualquier molécula de esta sustancia contenida dentro de la disolución.

La Figura 4.5-5 muestra la radiación incidente que alcanza la superficie del reactor ( $P(0)$ ) y la que llega al fondo del mismo ( $P(C)$ ) dependiendo de las otras coordenadas, para una solución de tiabendazol de 10 mg/L. Obviamente, el mayor valor de la radiación está en el centro del reactor para cualquier superficie, ya que está más cerca de la lámpara. La radiación incidente en la superficie del reactor es 0,748 W ( $5,70 \times 10^{-3} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ ), pero debido a que la solución de tiabendazol contenida en el reactor absorbe una parte de esta radiación incidente, la potencia de radiación en el fondo del reactor es de  $4,12 \times 10^{-2} \text{ W}$  ( $3,14 \times 10^{-4} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ ), lo que supone únicamente un 5,5% de la radiación incidente. La mayor parte de la radiación que incide y no llega al fondo del reactor es debido a que es absorbida por el medio de reacción; aunque una pequeña parte se corresponde con la radiación que sale del reactor por las paredes laterales sin alcanzar el fondo del reactor.

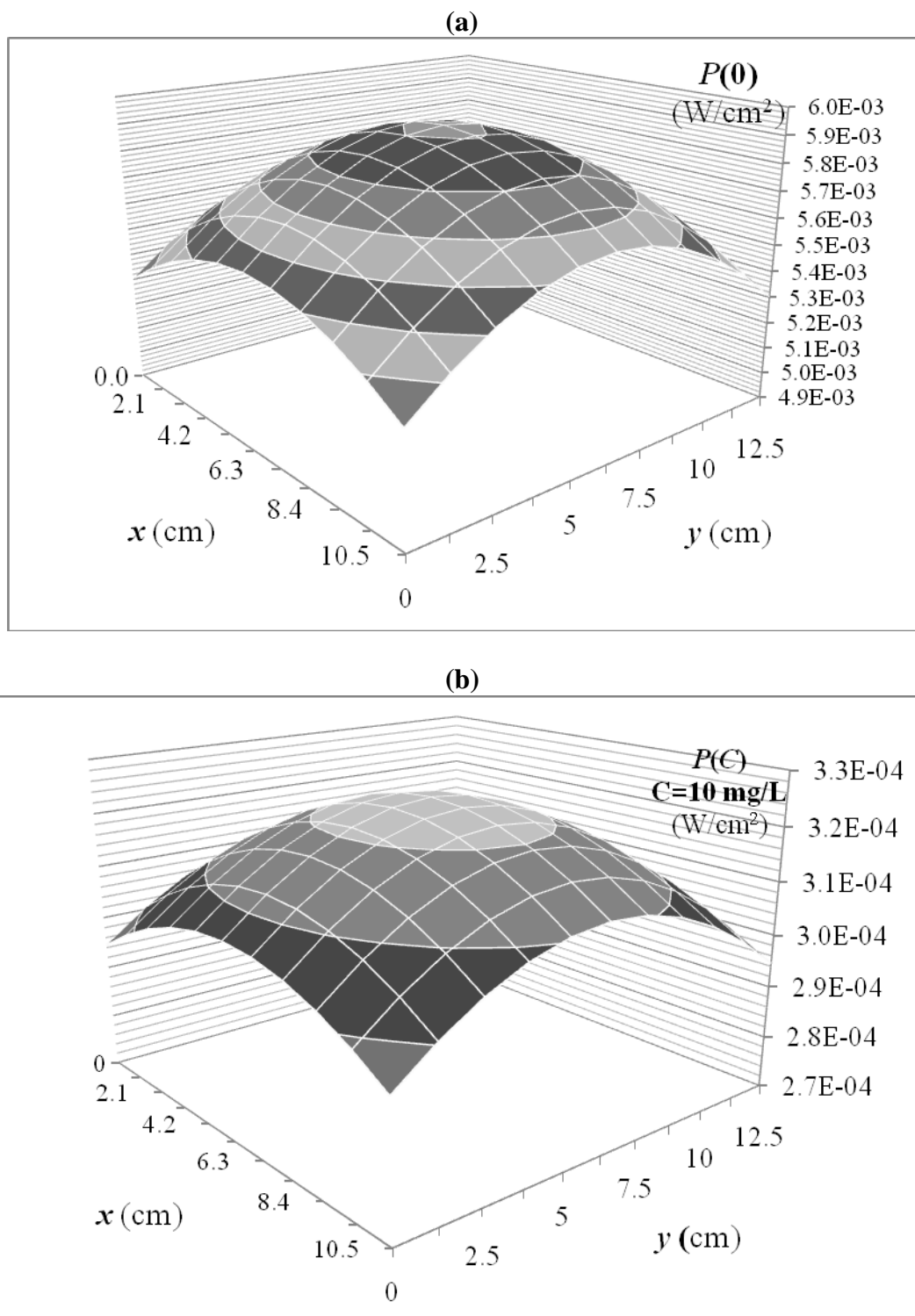


#### 4.5.3.- Fotólisis de tiabendazol en solución acuosa

Se han irradiado soluciones acuosas de tiabendazol, con una concentración inicial de aproximadamente 10 mg/L, a diferentes *pH* (3, 4 y 5) y temperaturas (8, 15, 25, 35 y 45°C). La Figura 4.5-6 muestra cómo varía el espectro de absorción de una solución acuosa de tiabendazol a *pH* 3 y 15°C. Para los otros *pH* y temperaturas ensayadas, los espectros muestran una evolución similar. Se puede observar que a medida que aumenta el tiempo de irradiación el pico de máxima absorbancia a 301 nm va disminuyendo, lo que indica que el tiabendazol se va degradando.

En la Figura 4.5-7 se muestra la evolución de la concentración relativa a la inicial ( $C/C_0$ ) para la muestra a *pH*=3. En esta figura se observa que un aumento de temperatura favorece la degradación de tiabendazol; así, para 8°C al final de la irradiación se consigue una disminución del 47% en el contenido en tiabendazol; mientras que para 45°C la disminución es del 79%. Para los otros *pH* ensayados (*pH* = 4 y 5), la tendencia es similar y por ello no se muestran las figuras obtenidas en estos casos. También se ha observado una mayor degradación de tiabendazol es superior a los otros *pH*, de modo que para *pH*=4 a 8°C se obtiene una degradación del 51%, mientras que a 45°C la degradación llega al 95%. Para *pH*=5 la degradación a 8°C es del 49%, mientras que a 45°C es del 81%. De estos valores, se puede ver que se obtiene una mayor degradación para *pH*=4.

Los resultados experimentales obtenidos para los tres *pH* y cinco temperaturas estudiados, se han ajustado a los diferentes modelos cinéticos de orden cero, primer y pseudo-primer orden (Ec. 4.5-8; 4.5-6 y 4.5-10, respectivamente).



**Figura 4.5-5.-** Potencia radiante en la superficie (a) y en el fondo del fotorreactor (b), para una solución de tiabendazol de 10 mg/L.

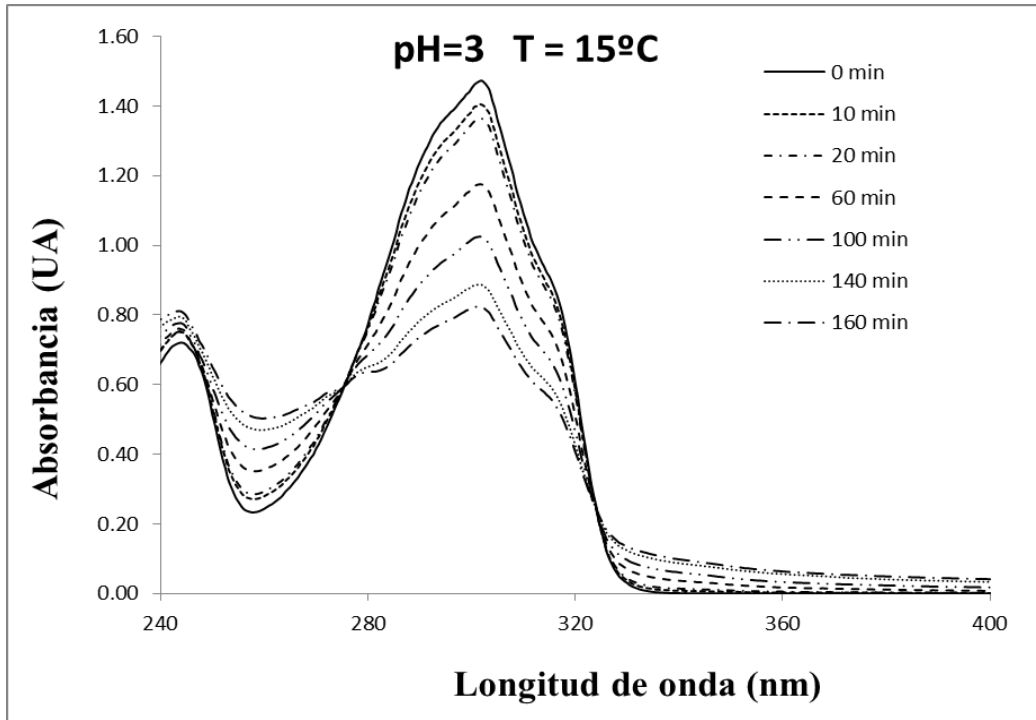


Figura 4.5-6.- Evolución del espectro de absorción de tiabendazol con el tiempo de irradiación, a  $pH=3$  y  $15^{\circ}C$ .

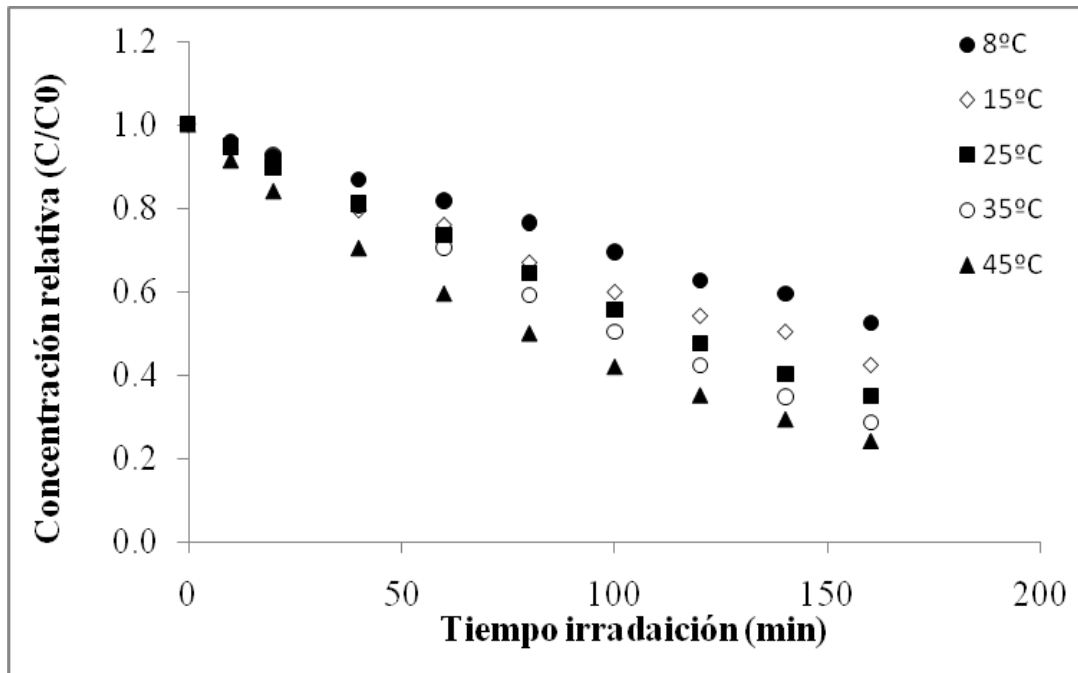


Figure 4.5-7.- Evolución de la concentración relativa de tiabendazol con el tiempo de irradiación a  $pH=3$  y diferentes temperaturas.

### **Cinética de orden cero**

Tal como se ha expuesto anteriormente, para el intervalo de 10 a 3 mg/L el valor de  $P_{\text{abs}}$  presenta una variación muy pequeña y se considera un valor medio de  $1,853 \times 10^{-6} \text{ E} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (Tabla 4.5-2). Los datos experimentales de la evolución de la concentración relativa ( $C/C_0$ ) de tiabendazol con el tiempo de irradiación para todos los  $pH$  y temperaturas ensayadas se han ajustado por el método de los mínimos cuadrados a la ecuación 4.5-8, habiendo obtenido que tanto el ajuste como los estimados de los parámetros son significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.5-3 se muestran los valores obtenidos en los ajustes, donde se observa que, para un mismo  $pH$ , la constante global de orden cero ( $m_{\text{TBZ}}$ ) aumenta con el aumento de temperatura. Para temperaturas de tratamiento de 8 y 15°C parece que el aumento de  $pH$  provoca una disminución de la velocidad de reacción, pero muestra que las velocidades máximas de fotodegradación se presentan a  $pH=4$  para temperaturas comprendidas entre 25 y 45°C. Además, a partir del valor de  $k_R = 1,853 \times 10^{-6} \text{ E} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  y de la ecuación 4.5-8 es posible obtener los diferentes valores del rendimiento cuántico ( $K_{\text{TBZ}}$ ), que se incluyen en la Tabla 4.5-3. Asimismo, a partir de la ecuación 4.5-2 es posible obtener los valores de la relación de constantes  $k_D/k$  (Tabla 4.5-3), mostrando que dichos valores son mayores que la unidad, lo que indica que la etapa de decaimiento al estado fundamental predomina sobre la de formación de fotoproductos, aunque su valor aumenta con el aumento de la temperatura, por lo que la etapa de formación de fotoproductos se ve favorecida por este aumento.

### **Cinética de pseudo-primer orden**

En el caso que se considere que  $P_{\text{abs}}$  varía linealmente con la concentración de TBZ (Tabla 4.5-2), los datos experimentales pueden ajustarse por el método de los mínimos cuadrados a la forma linealizada de la ecuación 4.5-10. Los resultados de estos ajustes se muestran en la Tabla 4.5-4, habiendo obtenido que tanto los ajustes como los estimados de los parámetros son significativos en un nivel de probabilidad del 95%. Se puede observar que los valores de las constantes globales ( $m_{\text{TBZ}}$ ) muestran una tendencia de aumentar con la temperatura, al igual que ocurre con el modelo cinético de orden cero. Operando de modo análogo a como se ha operado con las cinéticas de orden cero se han obtenido los valores de los rendimientos cuánticos ( $K_{\text{TBZ}}$ ) y de la relación  $k_D/k$ . Los valores obtenidos considerando cinética de orden cero (Tabla 4.5-3) y de

pseudo-primer orden (Tabla 4.5-4) son muy similares, tal como era de esperar ya que ambos parámetros deberían depender únicamente del mecanismo de reacción y no de la relación considerada entre  $P_{abs}$  y la concentración de tiabendazol. Los valores obtenidos de estos parámetros y las tendencias mostradas con la variación de  $pH$  y temperatura son muy similares en ambos tipos de cinéticas.

**Table 4.5-3.-** Parámetros de los ajustes a cinética de orden cero para soluciones de tiabendazol a diferentes  $pH$  y temperaturas.

$pH$	$T$ (°C)	Ordenada Origen	$m_{TBZ} \cdot 10^9$ (mol·L <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )	$K_{TBZ} \times 10^3$ (mol/einstein)	$k_D/k$	$R^2$
3	8	0,989 ± 0,012	3,43 ± 0,06	1,85	540	0,9972
	15	0,968 ± 0,029	3,76 ± 0,11	2,03	491	0,9890
	25	0,983 ± 0,022	4,38 ± 0,08	2,37	422	0,9967
	35	0,992 ± 0,008	4,77 ± 0,09	2,58	387	0,9934
	45	0,937 ± 0,063	4,88 ± 0,14	2,64	379	0,9843
4	8	0,983 ± 0,023	2,39 ± 0,07	1,29	775	0,9958
	15	0,978 ± 0,019	3,47 ± 0,05	1,87	534	0,9955
	25	0,946 ± 0,025	5,44 ± 0,08	2,94	340	0,9833
	35	0,937 ± 0,018	5,74 ± 0,06	3,10	322	0,9840
	45	0,889 ± 0,066	5,80 ± 0,17	3,13	319	0,9570
5	8	0,955 ± 0,058	2,31 ± 0,19	1,24	802	0,9995
	15	0,992 ± 0,017	2,79 ± 0,16	1,51	663	0,9991
	25	0,985 ± 0,038	4,27 ± 0,21	2,31	433	0,9976
	35	0,982 ± 0,038	5,06 ± 0,12	2,73	365	0,9808
	45	0,971 ± 0,047	5,52 ± 0,23	2,98	335	0,9705

**Tabla 4.5-4.-** Parámetros de los ajustes a cinética de pseudo-primer orden para soluciones de tiabendazol a diferentes *pH* y temperaturas.

<i>pH</i>	T (°C)	Ordenada Origen	$m_{TBZX} 10^5$ (s <sup>-1</sup> )	$K_{TBZX} 10^3$ (mol/einstein)	$k_D/k$	R <sup>2</sup>
3	8	0,002 ± 0,001	1,50 ± 0.02	1,67	598	0,9973
	15	0,007 ± 0,006	1,72 ± 0.03	1,91	523	0,9923
	25	0,003 ± 0,002	2,03 ± 0.01	2,26	441	0,9985
	35	0,000 ± 0,000	2,23 ± 0.02	2,48	402	0,9962
	45	0,014 ± 0,015	2,35 ± 0.04	2,61	382	0,9907
4	8	0,003 ± 0,002	1,15 ± 0.02	1,28	781	0,9973
	15	0,004 ± 0,004	1,67 ± 0.01	1,85	539	0,9977
	25	0,011 ± 0,009	2,65 ± 0.05	2,95	338	0,9905
	35	0,013 ± 0,014	2,80 ± 0.04	3,11	320	0,9918
	45	0,026 ± 0,028	2,85 ± 0.07	3,17	315	0,9697
5	8	0,000 ± 0,000	1,12 ± 0.01	1,24	804	0,9999
	15	0,001 ± 0,001	1,32 ± 0.01	1,46	682	0,9998
	25	0,002 ± 0,001	1,95 ± 0.02	2,17	460	0,9994
	35	0,003 ± 0,003	2,32 ± 0.02	2,58	387	0,9994
	45	0,005 ± 0,004	2,60 ± 0.03	2,89	345	0,9984

**Cinética de primer orden**

Tal como se muestra en la Figura 4.5-2, la  $P_{abs}$  únicamente presenta variación lineal con la concentración de tiabendazol para valores bajos de ésta (por debajo de 1 mg/L). Aunque en el presente estudio las concentraciones son más elevadas que las correspondiente al intervalo de variación lineal, también se ha considerado oportuno ajustar los datos experimentales de la variación de la concentración relativa ( $C/C_0$ ) con el tiempo de irradiación a una cinética de primer orden (Ec. 4.5-6). Tanto los ajustes como los estimados de los parámetros han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.5-5 se muestran los valores obtenidos en los ajustes. La tendencia mostrada por la constante global ( $m_{TBZ}$ ) también muestra un aumento con el aumento de temperatura y los valores más altos se presentan para  $pH=4$ .

**Tabla 4.5-5.-** Parámetros de los ajustes a cinética de primer orden para soluciones de tiabendazol a diferentes *pH* y temperaturas.

<i>pH</i>	T (°C)	Ordenada Origen	$m_{\text{TBZ}} \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
3	8	1,010 ± 0,011	6,48 ± 0,12	0,9918
	15	0,999 ± 0,007	8,53 ± 0,08	0,9943
	25	1,038 ± 0,015	10,97 ± 0,18	0,9916
	35	1,068 ± 0,070	13,12 ± 0,22	0,9905
	45	1,034 ± 0,028	16,02 ± 0,02	0,9917
4	8	1,007 ± 0,008	7,28 ± 0,03	0,9986
	15	1,031 ± 0,026	10,70 ± 0,13	0,9899
	25	1,113 ± 0,089	20,93 ± 0,11	0,9792
	35	1,144 ± 0,158	23,10 ± 0,27	0,9590
	45	1,192 ± 0,221	31,00 ± 0,09	0,9662
5	8	1,019 ± 0,035	6,95 ± 0,11	0,9951
	15	1,020 ± 0,034	7,53 ± 0,24	0,9952
	25	1,031 ± 0,021	9,93 ± 0,17	0,9924
	35	1,049 ± 0,018	12,10 ± 0,03	0,9882
	45	1,085 ± 0,032	16,25 ± 0,06	0,9779

#### 4.5.4.- Compensación cinética-termodinámica

Del mismo modo a como se ha operado con la patulina y ocratoxina A, en el caso del tiabendazol, también se ha estudiado la posible existencia de que se presente compensación cinética y termodinámica. Por ello, se han llevado a cabo nuevos experimentos a *pH* 6 y 7, a las temperaturas de 15, 25, 35 y 45°C. Estos datos se han ajustado a cinéticas de orden cero, primer y pseudo-primer orden, ya que se pretende estudiar el efecto del tipo de cinética sobre la compensación cinética y termodinámica. Los resultados experimentales, de la variación de la concentración de tiabendazol con el tiempo de irradiación, obtenidos a estos nuevos *pH* se han ajustado a los tres tipos de cinéticas (Ec. 4.5-8, 4.5-6 y 4.5-10). Tanto el ajuste como los estimados de los parámetros han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. Los valores

de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) están comprendidos entre 0,9590 y 0,9999, lo que es indicio de la bondad de los ajustes. En la Tabla 4.5-6 se muestran los datos correspondientes a las constantes globales de fotodegradación para estos tres tipos de cinética, para todos los  $pH$  y temperaturas ensayados.

### ***Compensación cinética***

Para poder evaluar el efecto que la temperatura ejerce sobre el proceso global de fotodegradación de tiabendazol, la variación con la temperatura de los valores de las constantes cinéticas de reacción, mostrados en la Tabla 4.5-1, se ajustan a la ecuación de Arrhenius (Ec. 1.6-9). Tanto los estimados de los parámetros como el ajuste han resultado significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 4.5-7 se muestran los parámetros de los ajustes, donde se observa que, para los tres tipos de cinética ensayados, para  $pH$  ácidos las energías de activación disminuyen al aumentar la acidez del medio. Cuanto mayor es el valor de la energía de activación mayor será el efecto del aumento de temperatura; es decir, para un mismo incremento de temperatura el efecto de fotodegradación es más pronunciado si la energía de activación es superior. Así, por ejemplo, para cinética de orden cero y  $pH=5$ , se ha obtenido una energía de activación de  $17,05 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , de modo que al aumentar la temperatura de tratamiento de 15 a  $45^\circ\text{C}$ , el valor de la constante global de fotodegradación se ha incrementado en un 97,96%; sin embargo, para  $pH=3$ , el valor de la energía de activación es  $6,66 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , obteniendo que para la misma variación de temperatura, la constante global de fotodegradación se ha incrementado en un 29,74%. Para los otros tipos de cinéticas el comportamiento es similar. Además, se observa que para  $pH$  neutro y ligeramente ácido las energías de activación presentan valores negativos, lo que indicaría que la energía del estado de transición es menor que la energía de los reactantes (Mozurkewich y Benson, 1984).

Para estudiar si existe compensación cinética, los valores de  $\ln k_0$  y de  $E_a$ , mostrados en la Tabla 4.5-7, se representan gráficamente. En la Figura 4.5-8 se muestra esta representación gráfica, donde se observa que para los tres tipos de cinéticas los datos se muestran alineados, lo que indica que existe compensación cinética. Los valores mostrados en esta figura se ajustan por el método de mínimos cuadrados a la ecuación 1.6-12, resultando tanto el ajuste como los estimados de los parámetros significativos a un nivel de probabilidad del 95%. A partir de la pendiente, utilizando la ecuación 1.6-16, es posible obtener el valor de la temperatura isocinética y el valor de la ordenada en



el origen se corresponde a la constante de reacción para esta temperatura isocinética. En la Tabla 4.5-8 se muestran los valores de estas variables para los tres modelos cinéticos ensayados. Se observa que, para el modelo cinético de orden cero, el valor de la temperatura isocinética es menor que el obtenido para los otros tipos de cinética, siendo el modelo de primer orden el que presenta un mayor valor.

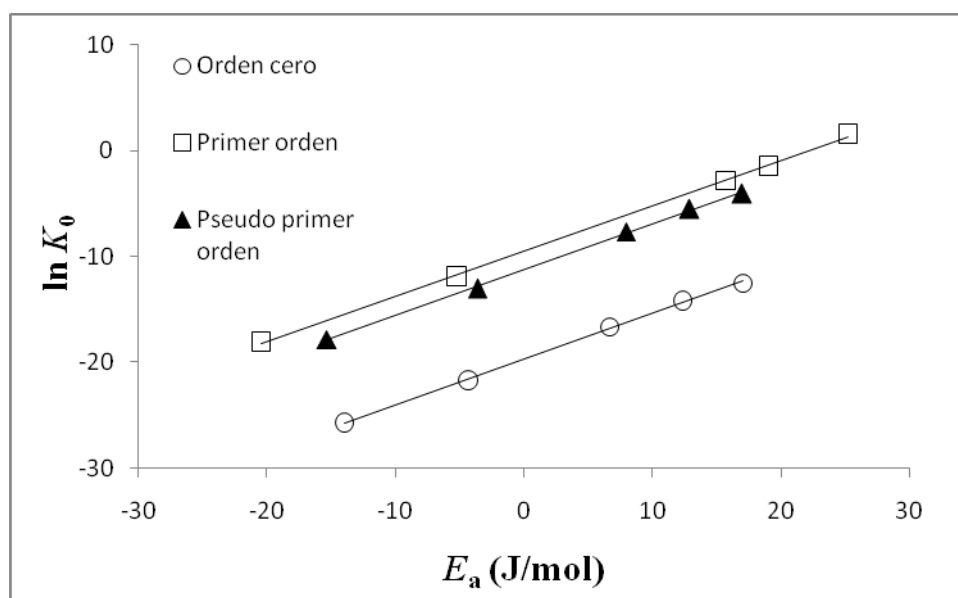
**Tabla 4.5-6.-** Constantes cinéticas para fotodegradación de tiabendazol ajustado a diferentes tipos de cinéticas para los diferentes *pH* ensayados.

<i>pH</i>	<i>T</i> (°C)	<i>Orden cero</i>	<i>Primer orden</i>	<i>Pseudo primer orden</i>
		$m_0 \times 10^9$ (mol·L <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )	$m_1 \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )	$m_{P1} \times 10^5$ (s <sup>-1</sup> )
3	15	3,763	8,533	1,717
	25	4,382	10,967	2,033
	35	4,773	13,117	2,233
	45	4,882	16,017	2,350
4	15	3,467	10,700	1,667
	25	5,441	20,933	2,650
	35	5,741	23,100	2,800
	45	5,795	31,000	2,850
5	15	2,789	7,533	1,317
	25	4,273	9,933	1,950
	35	5,063	12,100	2,317
	45	5,521	16,250	2,600
6	15	2,197	5,533	1,030
	25	2,107	5,483	1,001
	35	1,903	4,933	0,900
	45	1,884	4,563	0,883
7	15	2,144	6,967	1,050
	25	2,129	6,083	1,017
	35	1,524	3,983	0,717
	45	1,293	3,267	0,600

**Tabla 4.5-7.-** Valores de los parámetros de la ecuación de Arrhenius y entropías y entalpías para los estados de transición para los diferentes *pH* ensayados.

Modelo cinético	<i>pH</i>	$E_a$ (J·mol <sup>-1</sup> )	$k_0$ (*)	$\Delta S^\ddagger$ (J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$\Delta H^\ddagger$ (J·mol <sup>-1</sup> )
Cero	3	6,66	6,24x10 <sup>-8</sup>	-391,28	4142
	4	12,36	6,81x10 <sup>-7</sup>	-371,41	9846
	5	17,05	3,75x10 <sup>-6</sup>	-357,22	14536
	6	-4,31	3,65x10 <sup>-10</sup>	-434,03	-6819,3
	7	-14,00	6,63x10 <sup>-12</sup>	-467,35	-16515
Primer	3	15,76	0,0623	-273,46	13248
	4	25,23	4,527	-240,79	22711
	5	19,04	0,213	-266,19	16528
	6	-5,17	6,55x10 <sup>-6</sup>	-352,59	-7683,1
	7	-20,48	1,41x10 <sup>-8</sup>	-403,62	-22991
Pseudo primer	3	7,94	0,000486	-316,78	5427,9
	4	12,89	0,004137	-299,06	10378
	5	16,98	0,016953	-287,25	14469
	6	-3,62	2,236x10 <sup>-6</sup>	-361,52	-6137,5
	7	-15,36	1,836x10 <sup>-8</sup>	-401,45	-17874

(\*) unidades para  $k_0$ : orden cero (mol·L<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>); primer y pseudo-primer orden (s<sup>-1</sup>).

**Figura 4.5-8.-** Compensación cinética para mecanismos cinéticos de diferente orden, para la degradación fotoquímica de tiabendazol.

**Tabla 4.5-8.-** Temperatura isocinética y constante de reacción a la temperatura isocinética, para los tres modelos cinéticos, para degradación fotoquímica de tiabendazol.

Modelo cinético	$T_{iso}$ (°C)	$k_{iso}$ (*)	$R^2$
Orden cero	$4,1 \pm 3,7$	$(2,8 \pm 0,7) \times 10^{-9}$	0,9989
Primer orden	$8,7 \pm 6,2$	$(7,5 \pm 2,5) \times 10^{-5}$	0,9994
Pseudoprimer orden	$4,8 \pm 3,8$	$(1,4 \pm 0,4) \times 10^{-5}$	0,9989

(\*) unidades para  $k_{iso}$ : orden cero ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ); primer y pseudo-primer orden ( $\text{s}^{-1}$ )

A partir de la ecuación 1.6-30, con las temperaturas utilizadas en este trabajo, se ha obtenido el valor de la temperatura media armónica, siendo su valor de 29,6°C. Si se compara este valor con los obtenidos para la temperatura isocinética, se observa que cualquiera que sea el modelo cinético aplicado se obtiene que la temperatura isocinética es menor que la temperatura media armónica, por lo que el mecanismo que controla el proceso de fotodegradación de tiabendazol es entrópico (Leffler, 1955).

Además, en la Tabla 4.5-8 se puede observar que la temperatura isocinética presenta unos intervalos de variación, de forma que el valor máximo que puede llegar a tener es muy inferior al valor de la temperatura media armónica, lo que corrobora que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).

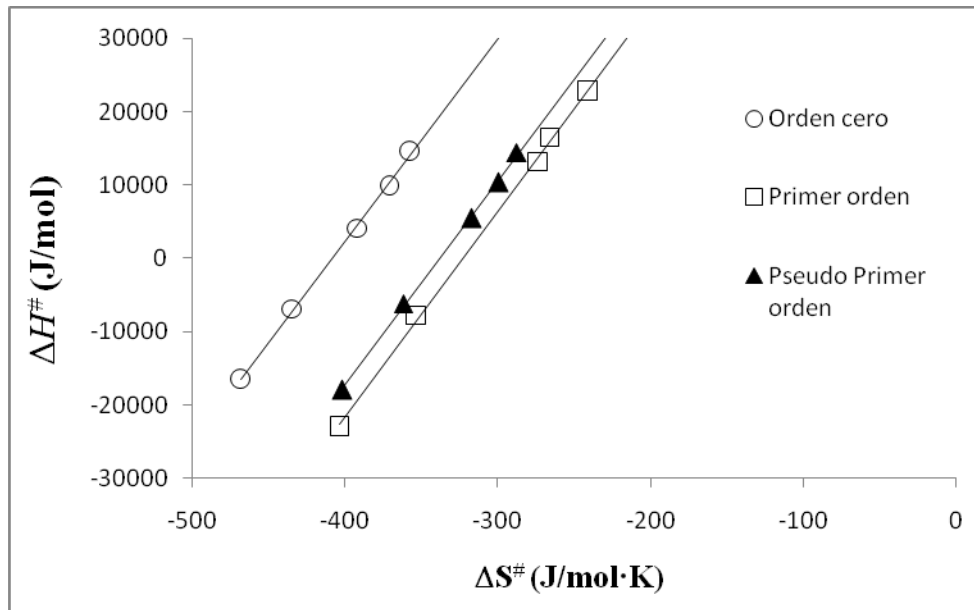
### Compensación termodinámica

A partir de los datos de las constantes cinéticas de fotodegradación mostrados en la Tabla 4.5-6 es posible calcular los valores de las entalpías y entropías del estado de transición. Al representar los valores de  $\ln\left(\frac{k \cdot h_p}{k_B \cdot T}\right)$  frente a la inversa de la temperatura

absoluta ( $1/T$ ) se obtiene una recta (Ec. 1.6-8), a partir de la cual se obtiene una ordenada en el origen que permite calcular la variación de entropía del estado intermedio ( $\Delta S^\ddagger$ ). De la pendiente es posible obtener el correspondiente valor de la variación de entalpía del estado intermedio ( $\Delta H^\ddagger$ ). Tanto los ajustes como los estimados

de los parámetros han resultado significativos en un nivel de probabilidad del 95%. En las dos últimas columnas de la Tabla 4.5-7 se muestran los valores obtenidos en los ajustes para la entropía y entalpía del estado intermedio, para los tres tipos de cinética ensayados. En la Figura 4.5-9 se han representado los valores de  $\Delta H^\ddagger$  frente a  $\Delta S^\ddagger$ , donde se observa que los datos están alineados para cada una de las cinéticas ensayadas. Esto indica que existe compensación termodinámica. Los datos mostrados en la Figura 4.5-9, para los tres tipos de cinéticas, se han ajustado a líneas rectas (Ec. 1.6-19) por el método de los mínimos cuadrados, resultando tanto el ajuste como estimados de los parámetros significativos a un nivel de probabilidad del 95%. El valor de la ordenada en el origen de las rectas ajustadas se corresponde con la energía libre de Gibbs para la temperatura isocinética, mientras que la pendiente coincide con el valor de esta temperatura (Ec. 1.6-23). En la Tabla 4.5-9 se muestran los valores de los ajustes para estas variables, donde se observa que las temperaturas isocinéticas son similares a las obtenidas en el estudio de compensación cinética. Además, presentan valores inferiores a la temperatura media armónica, lo que indicaría que el proceso global de fotodegradación de tiabendazol presenta un control entrópico, corroborando lo que se había obtenido en el estudio de compensación cinética.

El intervalo de variación de las temperaturas isocinéticas muestra que el valor máximo que pueden presentar es inferior al valor de la temperatura media armónica, al igual que ocurría con la compensación cinética, se puede concluir que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos (Krug *et al.*, 1976a,b).



**Figura 4.5-9.-** Compensación termodinámica para mecanismos cinéticos de diferente orden, para la degradación fotoquímica de tiabendazol.

**Tabla 4.5-9.-** Temperatura isocinética y energía libre de Gibbs a la temperatura isocinética, para los tres modelos cinéticos, para degradación fotoquímica de tiabendazol.

Modelo cinético	$T_{iso}$ (°C)	$\Delta G_{iso}^{\#}$ (J·mol <sup>-1</sup> )	$R^2$
Orden cero	3,5 ± 3,1	(11,3 ± 0,7)x10 <sup>4</sup>	0,9994
Primer orden	6,3 ± 5,7	(9,0 ± 0,5)x10 <sup>4</sup>	0,9990
Pseudo primer orden	4,8 ± 3,7	(9,4 ± 0,6)x10 <sup>4</sup>	0,9989

### ***Evolución de las constantes cinéticas de reacción y energías libre de Gibbs con la temperatura***

En las Figuras 4.5-10-a, 4.5-11-a y 4.5-12-a, se muestran los valores de las constantes cinéticas para los diferentes  $pH$ , temperaturas y diferentes modelos cinéticos ensayados en este trabajo. Se puede observar que al disminuir la temperatura cada serie experimental, para un determinado  $pH$ , evolucionan de tal modo que tienden a converger en el punto correspondiente a las coordenadas de temperatura isocinética y constante cinética de reacción a esta temperatura. Esto indica que si se trabaja a la temperatura isocinética, el valor de la constante de reacción será el mismo cualquiera que sea el  $pH$  del medio de reacción.

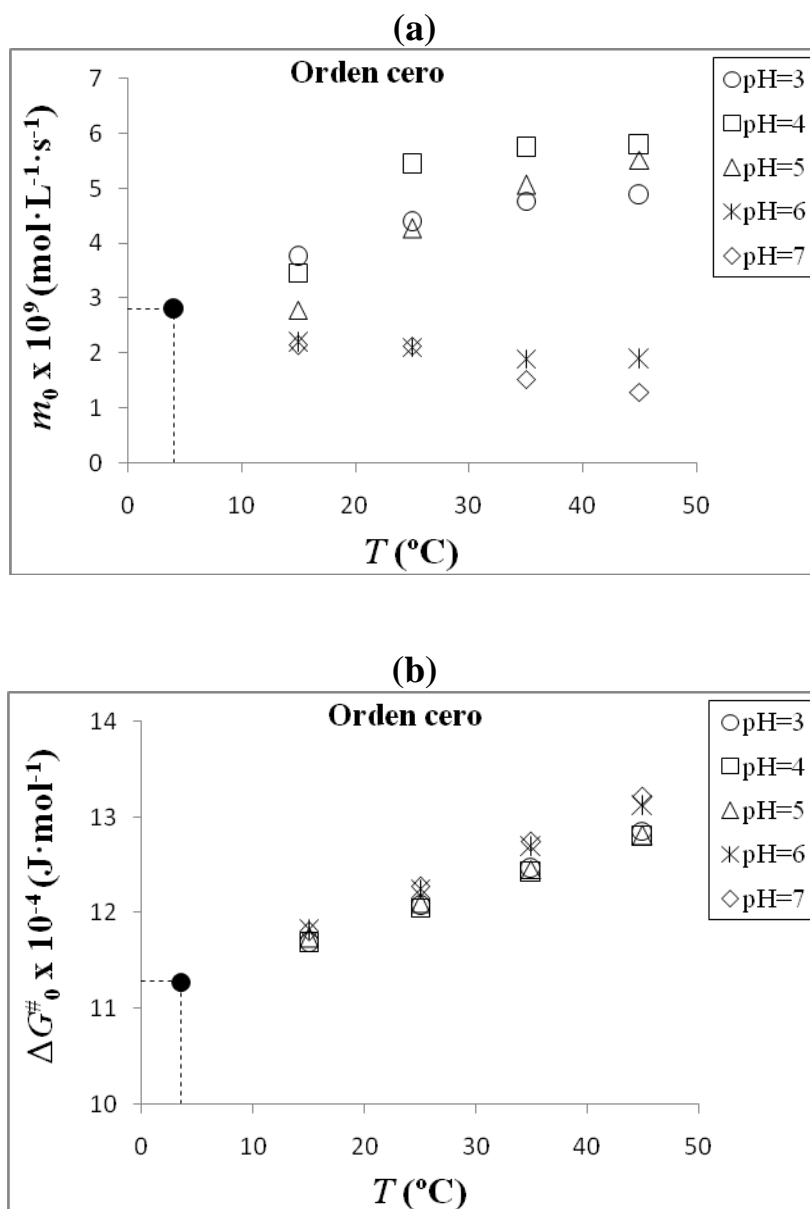
A partir de los valores de  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$  mostrados en la Tabla 4.5-7 es posible calcular la energía libre de Gibbs a partir de la ecuación:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (4.3-8)$$

Para cada una de las series experimentales se obtienen los correspondientes valores de  $\Delta G^\ddagger$  para las diferentes temperaturas de trabajo y modelos cinéticos. En la Tabla 4.5-10 se muestran los valores de la energía libre de Gibbs correspondientes a cada serie experimental y modelo cinético ensayado. Al representar gráficamente los valores de  $\Delta G^\ddagger$  para los diferentes  $pH$  y modelos cinéticos (Figuras 4.5-10-b, 4.5-11-b y 4.5-12-b) se observa que al disminuir la temperaturas todos ellos tienden al valor correspondiente a la temperatura isocinética. Esto indica que si la fotodegradación de tiabendazol se llevase a cabo a la temperatura isocinética, los valores de la energía libre de Gibbs serían coincidentes cualquiera que fuese el valor del  $pH$  de medio del reacción.

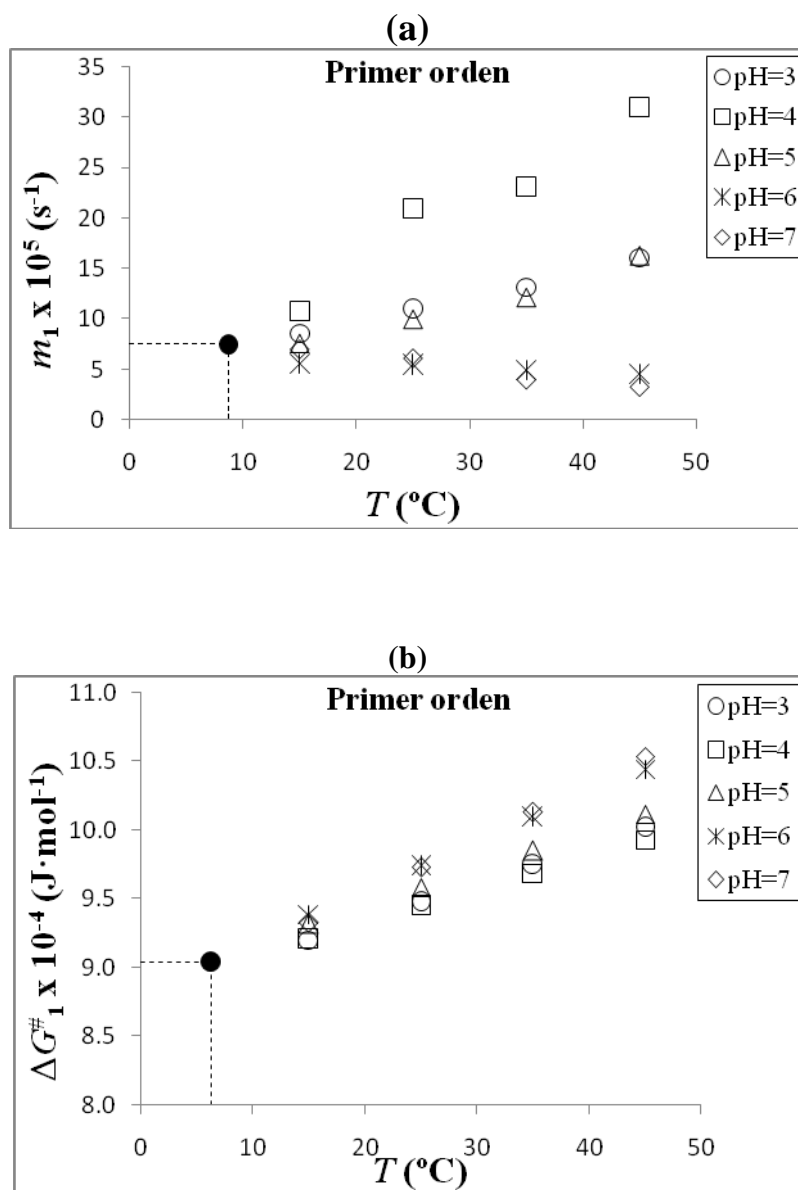
**Tabla 4.5-10.-** Valores de la energía libre de Gibbs para las diferentes cinéticas, a los diferentes *pH* ensayados.

<i>pH</i>	<i>T</i> (°C)	$\Delta G^\#(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1})$		
		<i>Orden Cero</i>	<i>Primer orden</i>	<i>Pseudoprimer orden</i>
3	15	116831	92004	96661
	25	120743	94739	99828
	35	124656	97474	102996
	45	128569	100208	106164
4	15	116812	92059	96507
	25	120526	94466	99498
	35	124240	96874	102488
	45	127954	99282	105479
5	15	117415	93191	97197
	25	120988	95853	100070
	35	124560	98515	102942
	45	128132	101176	105815
6	15	118181	93863	97980
	25	122521	97389	101595
	35	126862	100915	105211
	45	131202	104441	108826
7	15	118082	93252	97744
	25	122755	97288	101758
	35	127429	101324	105773
	45	132102	105360	109787

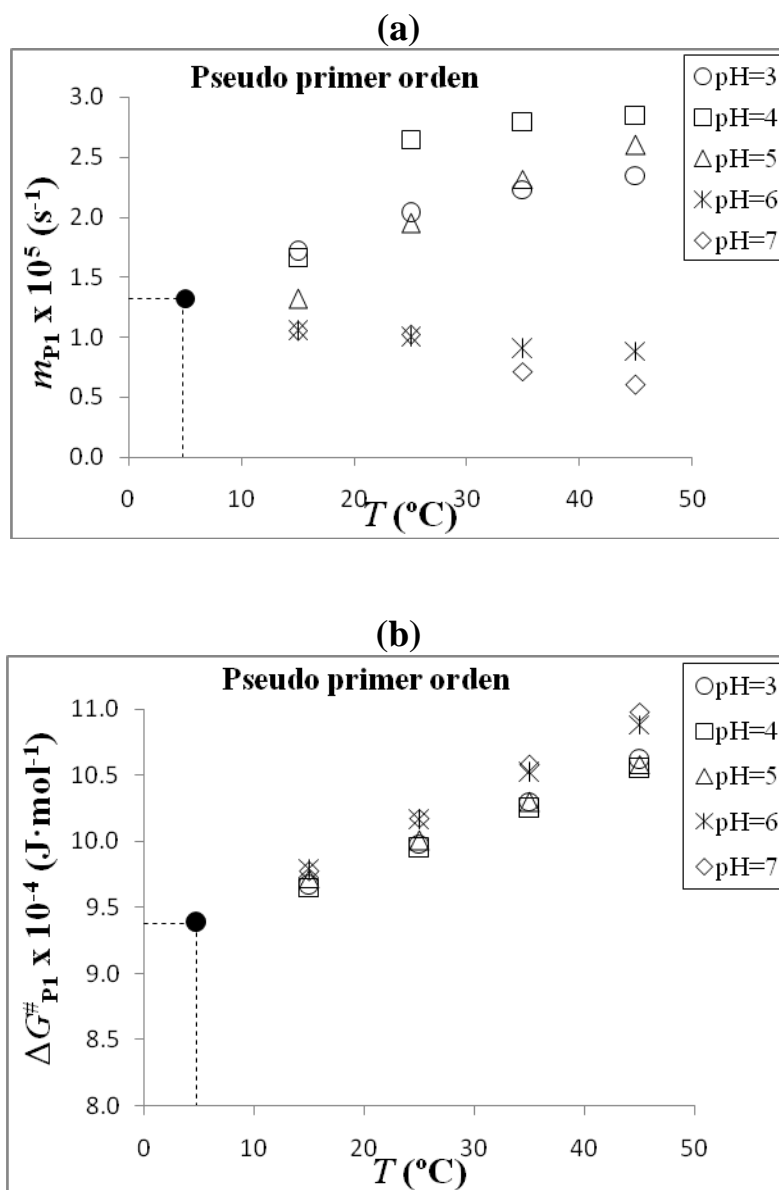


**Figura 4.5-10.-** Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de orden cero.





**Figura 4.5-11.-** Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de primer orden.



**Figura 4.5-12.-** Valores de las constantes cinéticas (a) y energías libres de Gibbs (b), para la fotodegradación de tiabendazol, en función de la temperatura, para cinética de pseudo primer orden.

## 4.6.- Fotodegradación de benomilo

El benomilo (metil-1-[butilcarbamoil]-2-benzimidazol-carbamato) es un fungicida sistémico utilizado para controlar diversas plagas previo a la cosecha de una amplia variedad de frutas y hortalizas. Es un plaguicida estable en medios secos; sin embargo, en medio acuoso se descompone dando lugar a carbendazima y n-butilisocianato (Calmon y Sayag, 1976).

El benomilo es persistente en el medio ambiente, pudiéndose fijar en el suelo y en las superficies de las frutas y hortalizas. A modo de ejemplo, cuando este plaguicida se aplica sobre césped su vida media es de tres a seis meses, mientras que en suelo desnudo perdura de seis a doce meses ([www.rap-al.org](http://www.rap-al.org)).

Tanto el benomilo como la carbendazima, formada en la hidrólisis del primero, son tóxicos, pudiendo producir toxicidad hepática, toxicidad en el desarrollo (como malformaciones en los ojos del feto y en el cerebro), efectos en la reproducción al disminuir la fertilidad, habiéndose encontrado una disminución del tamaño de los testículos y de glándulas adicionales de los machos de ratas tratadas con benomilo a una dosis de 1 mg/kg/día durante 4 meses. Además, tanto el benomilo como la carbendazima son considerados posibles cancerígenos para las personas (EPA, 2002).

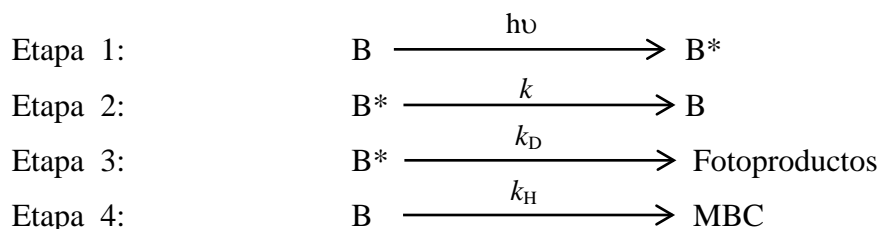
Muchas frutas, previo a su almacenamiento bajo frigoconservación, son tratadas con benomilo para evitar problemas de crecimiento de hongos. Debido a ello y a los tratamientos previos en los campos de cultivo, las frutas están impregnadas de este plaguicida, y como su persistencia suele ser elevada, si estas frutas se utilizan en la elaboración de zumos y derivados, muy probablemente el benomilo pasará al producto final. De hecho, tal como se ha comentado anteriormente, en 655 muestras de zumos de naranjas, de diferentes puntos de Estados Unidos, se encontraron 21 plaguicidas diferentes, siendo los más frecuentes benomilo y carbendazima, seguidos de imazalil y tiabendazol (EFSA, 2011).

Debido a que una gran cantidad de zumos presentan valores de *pH* comprendidos entre 3,5 y 4,2, en el presente trabajo se pretende estudiar la degradación de benomilo en soluciones acuosas con un *pH* de 4.

### 4.6.1.- Mecanismo de fotodegradación de benomilo

El mecanismo cinético de degradación fotoquímica de benomilo es el propuesto en un trabajo anterior (Ibarz *et al.*, 1996). Se supone un mecanismo en cuatro etapas, en

una primera etapa la molécula de benomilo (B) absorbe la radiación incidente para pasar a un estado excitado (B\*). Esta molécula excitada puede volver a su estado fundamental, o bien degradarse para dar fotoproductos. A estas tres etapas se añade una de hidrólisis del benomilo, que en medio ácido conduce a la formación de carbendazima (MBC – bencimidazol-2-il carbamato de metilo).



La energía absorbida por unidad de volumen por el benomilo en la primera etapa del mecanismo propuesto ( $P_{abs}$ ) posee unidades de einsteins (mol de fotones) por unidad de volumen y unidad de tiempo, y se puede calcular de acuerdo con el modelo de radiación descrito anteriormente:

$$P_{abs} = \sum_{\lambda} P_{\lambda} \varepsilon_{\lambda} C_B \quad (4.6-1)$$

Suponiendo estado pseudo-estacionario para el intermedio excitado (B\*), se obtiene que la velocidad intensiva de reacción para el benomilo se puede expresar como:

$$r_B = -K_B P_{abs} - k_H C_B \quad (4.6-2)$$

En la que  $K_B$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$  y  $k_H$ , de modo que:

$$K_B = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (4.6-3)$$

De acuerdo con el mecanismo propuesto, la constante  $K_B$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de benomilo degradados por mol de fotones (Einstein) absorbidos.

Si el tratamiento fotoquímico se lleva a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen  $V$ , trabajando en discontinuo, al realizar un balance de benomilo se obtiene:

$$\frac{dC_B}{dt} = -K_B P_{abs} - k_H C_B \quad (4.6-4)$$

La potencia de radiación absorbida ( $P_{abs}$ ) depende de la concentración de benomilo ( $C_B$ ) en la solución reactante. En el caso de que la potencia radiante absorbida dependa linealmente de la concentración de benomilo, se tiene que:

$$P_{Abs} = k_R C_B \quad (4.6-5a)$$

En la que  $k_R$ ) se puede definir como una función de radiación, de modo que será la relación entre la potencia de radiación absorbida y la concentración:

$$k_R = \frac{P_{Abs}}{C_B} \quad (4.6-5b)$$

A medida que transcurre el tratamiento fotoquímico de degradación, la concentración de benomilo disminuye, y esto hace que el valor de la potencia radiante absorbida también disminuya. Por lo tanto, es presumible que la relación dada por la ecuación 4.6-5b permanezca prácticamente constante a lo largo del tratamiento (Panadés *et al.*, 2000; Arántegui *et al.*, 1995).

Al introducir la ecuación 4.6-5 en la 4.6-4 se obtiene:

$$\frac{dC_B}{dt} = -(K_B k_R + k_H) C_B \quad (4.6-6)$$

La función radiación puede variar a lo largo del proceso de radiación. Sin embargo, si  $k_R$  no presenta una variación muy grande, se puede tomar un valor medio aproximadamente constante y la ecuación 4.6-6 se puede integrar, obteniendo:

$$C_B = C_B^0 \exp(-m_B t) \quad (4.6-7)$$

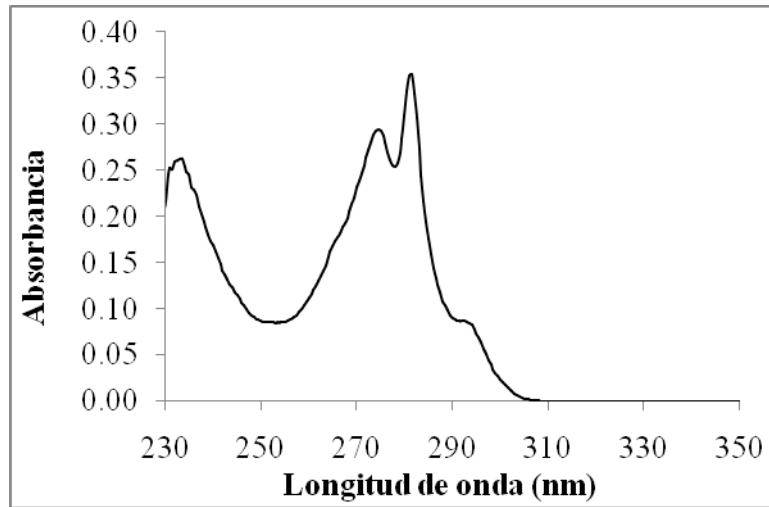
dónde:

$$m_B = K_B k_R + k_H \quad (4.6-8)$$

Como se observa en la ecuación 4.6-7, a partir del mecanismo cinético propuesto, la degradación fotoquímica del benomilo se puede ajustar a un modelo cinético de primer orden, con una constante global de fotodegradación  $m_B$ .

#### 4.6.2.- Potencia radiante absorbida en función de la concentración de benomilo

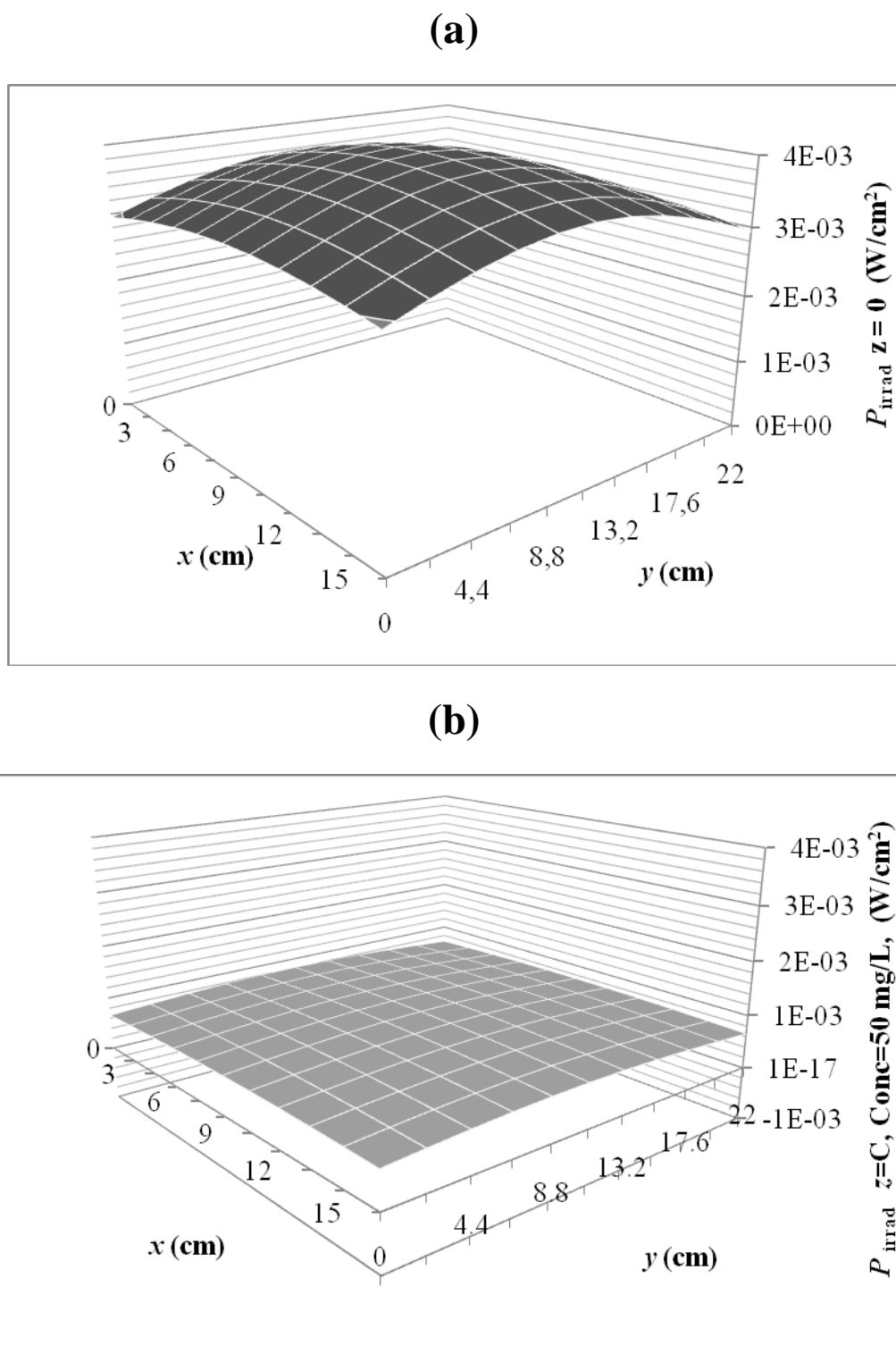
En la Figura 4.6-1 se muestra el espectro de absorción de una solución de benomilo (11 mg/L). Se observa que entre las longitudes de onda de 250 a 310 nm, este compuesto presenta valores apreciables de absorción, existiendo dos picos con máximos para las longitudes de onda de 274,5 y 281,5 nm. Si se observa el espectro de emisión de la lámpara (Figura 3.2-4), existen picos que se encuentran en este intervalo de longitudes de onda, lo que indica que el benomilo quedará afectado por la emisión de esta lámpara. A partir de la Figura 4.6-2 es posible llegar a obtener los valores del coeficiente de extinción molar ( $\epsilon_\lambda$ ) a aquellas longitudes de onda coincidentes del espectro de absorción de benomilo y las de emisión de la lámpara. Asimismo, es posible obtener los coeficientes de absorción ( $\mu_\lambda$ ) a las mismas longitudes de onda, para una concentración en benomilo de 11 mg/L (Tabla 4.6-1). Los valores del coeficiente de absorción son bajos, lo que indica que la radiación incidente puede penetrar a través de la solución de benomilo.



**Figura 4.6-1.-** Espectro de absorción de una solución acuosa de benomilo de 11 mg/L.

**Tabla 4.6-1.-** Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar y coeficiente de absorción (benomilo 11 µg/L), para longitudes de onda seleccionadas.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_{\lambda}$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\mu_{\lambda}=\alpha_{\lambda}$ (cm <sup>-1</sup> )	$P_{emit,\lambda}$ (W)
250	5241,1	0,199	
255	5198,7	0,197	0,179
260	6769,8	0,257	0,269
265	10148,6	0,385	0,358
270	14006,7	0,532	1,208
275	17749,5	0,674	2,058
280	18726,1	0,711	3,624
285	10664,2	0,405	5,199
290	5471,6	0,208	8,680
295	4434,3	0,168	12,170
300	1407,3	0,053	8,770
305	169,9	0,006	5,369



**Figura 4.6-2.-** Potencia de radiación en la superficie (a) y en el fondo (b) de un fotorreactor. La Figura b se ha obtenido para una solución de benomilo de 50 mg/L.



Para obtener el valor de la radiación absorbida para una determinada concentración de benomilo y para cada longitud de onda es necesario resolver la ecuación 4.2-18. Para ello, se utiliza una hoja de cálculo, llevando a cabo la integración de la ecuación utilizando el método de Simpson. También es posible obtener el valor de radiación que llega a la superficie de la solución reactante, así como la que llega al fondo del reactor para una determinada concentración de benomilo. Por integración de la ecuación 4.2-18 se obtiene que a la superficie del reactor llega una energía radiante de 1,179 W. La cantidad de energía radiante que llega al fondo del reactor depende de la concentración de benomilo de la disolución; así, para cuando la solución contenía 50 mg/L, al fondo del reactor llegaba 0,266 W, lo que representa un 22,6% de la radiación en la superficie. En la Figura 4.6-2 se muestran los perfiles de radiación que llegan a la superficie del reactor y los que llegan al fondo del reactor, para una concentración de 50 mg/L de benomilo.

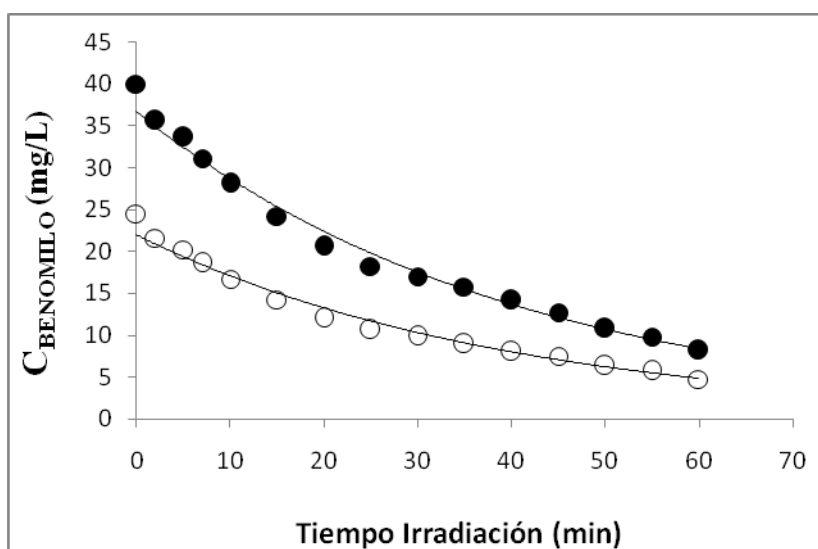
A partir de la ecuación 4.6-5, con los valores de la radiación absorbida por la solución de benomilo ( $P_{abs,B}$ ) en el intervalo de concentraciones desde el inicio al final del experimento, es posible obtener el correspondiente valor medio de la función de radiación ( $k_R$ ). El valor medio obtenido ha sido  $k_R = 0,0311$  Einsteins/(mol·s).

#### 4.6-3.- Fotólisis de benomilo en solución acuosa

En la Figura 4.6-3 se muestra la evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación, a  $pH = 4$ , para dos concentraciones iniciales diferentes de benomilo (40 y 25 mg/L). La evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación muestra una disminución que podría ajustarse a una caída exponencial. Es por ello que se ha supuesto un modelo cinético de primer orden, de modo que la variación del contenido de benomilo con el tiempo de irradiación se puede ajustar a la ecuación 4.6-7. Cabe mencionar que en esta constante global de degradación ( $m_B$ ) se incluye la energía absorbida por la disolución. En la Tabla 4.6-2 se muestran los parámetros del ajuste para los dos experimentos, con distinto contenido inicial de benomilo. Tanto los estimados de los parámetros como el ajuste han resultado significativos a un nivel de confianza del 95%. Los valores de la constante de fotodegradación son  $2,47 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  y  $2,54 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para las concentraciones de 40 y 25 mg/L, respectivamente. Se observa que los valores de la constante de degradación son similares, con una desviación de aproximadamente un 2,8%. Debido a ello, se puede concluir que la concentración inicial de benomilo en la solución no influye en el

valor de la constante cinética global de fotodegradación. Para el valor de la constante global de fotodegradación se toma un valor medio  $m_B = 2,505 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ .

La degradación fotoquímica se ha llevado a cabo en medio acuoso ácido ( $pH = 4$ ), por lo que el benomilo experimentará hidrólisis para formar MBC. Calmon y Sayag (1976) estudiaron el efecto del  $pH$  sobre la cinética de hidrólisis del benomilo. Observaron que cuando el medio del  $pH$  era inferior a 2,5 existía una inhibición de la hidrólisis por acción del ácido. Sin embargo, para valores de  $pH$  comprendidos entre 2,5 y 7 la hidrólisis no depende de la acidez del medio. En este intervalo de valores del  $pH$  obtuvieron que la constante de hidrólisis del benomilo presenta un valor de  $k_H = 5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .



**Figura 4.6-3.-** Evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación a  $pH=4$ .

**Tabla 4.6-2.-** Parámetros de los ajustes a una ecuación cinética de primer orden para la fotodegradación de benomilo a  $pH = 4$ .

$C_{\text{Inicial}}$ (mg/L)	$C_0$ (mg/L)	$m_B$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
40	36,8	0,0247	0,9902
25	22,0	0,0254	0,9877

A partir de los valores de  $m_B$ ,  $k_H$  y  $k_R$ , utilizando la ecuación 4.6-8 es posible obtener el valor de la constante  $K_B = 0,0118 \text{ mol/Einstein}$ . El valor de esta constante representa el rendimiento cuántico del proceso de degradación fotoquímica del benomilo, es decir, los moles degradados por cada mol de fotones absorbidos.

A partir de la ecuación 4.6-3 y con el valor del rendimiento cuántico es posible obtener el valor de la relación  $\frac{k_D}{k} = 84$ . Esto indica que, en el mecanismo cinético propuesto, la etapa b) de retorno al estado fundamental predomina sobre la etapa c) de formación de fotoproductos. Asimismo, con el fin de evaluar el efecto de la etapa d) de hidrólisis se comparan las etapas de formación de fotoproductos y de hidrólisis mediante la relación:  $\frac{K_B k_R}{k_H} = 7,34$ . Lo que indica que en la desaparición de benomilo el mecanismo de degradación fotoquímica predomina sobre la etapa de desaparición por hidrólisis.

# 5. CONCLUSIONES



A partir de los resultados expuestos y discutidos en el capítulo anterior, las conclusiones que se pueden extraer de la irradiación UV de soluciones acuosas y zumos conteniendo micotoxinas y plaguicidas, son las siguientes:

- 1).- La potencia espectral radiante absorbida obtenida por la ecuación simplificada y no simplificada coincide para concentraciones de patulina inferiores a 50 mg/L. Para concentraciones más elevadas, existe una notable divergencia, de modo que no se puede aplicar la ecuación simplificada.
- 2).- La radiación incidente en la superficie del fotorreactor no depende ni de la sustancia que absorbe ni de su concentración. El valor de la radiación que llega al fondo del reactor es inferior al de la superficie, debido a que la solución acuosa absorbe esta radiación. Cuanto mayor es la concentración de la solución acuosa mayor es la diferencia entre estos dos valores. La radiación que alcanza el fondo del reactor depende de la sustancia que absorbe y de su concentración.
- 3).- La relación entre la potencia radiante espectral absorbida y la potencia radiante espectral que llega a la superficie aumenta asintóticamente cuando aumenta la profundidad del reactor. Cuanto mayor es el coeficiente de absorción menor profundidad se necesita para absorber la radiación que llega a la superficie del reactor. Los valores usuales de los coeficientes de absorción de los zumos se hallan entre 50 y 100  $\text{cm}^{-1}$ , de modo que la profundidad necesaria para que se absorba la radiación total que llega a la superficie es de 1 mm. El valor asintótico es la fracción máxima de la radiación incidente que se puede absorber si el reactor es lo suficientemente profundo. Si el coeficiente de absorción es superior a 5  $\text{cm}^{-1}$ , la asíntota casi es el 100%, debido a que casi todos los rayos que alcanzan la superficie del reactor son absorbidos antes de que sus trayectorias abandonen el reactor.
- 4).- La patulina absorbe entre las longitudes de onda 255 a 355 nm, de modo que se puede utilizar una lámpara que emita en estas longitudes de onda, con el fin de llevar a cabo su fotodegradación. Se ha observado que la patulina se puede degradar mediante un tratamiento con irradiación UV, siguiendo una cinética de primer orden. La radiación absorbida por las soluciones acuosas de patulina, con concentraciones inferiores a 500  $\mu\text{g/L}$ , sigue una dependencia lineal con la concentración de patulina.

El pH de las soluciones acuosas influye en el grado de fotodegradación de patulina, habiéndose observado una mayor degradación a pH = 4 que a pH = 7. En el caso de la patulina contenida en zumos de manzana se observa que se degrada en los tratamientos de irradiación UV, siguiendo una cinética de primer orden, aunque la constante global de fotodegradación es menor que en el caso de soluciones acuosas. El motivo de esta disminución de la constante se podría atribuir al hecho de que los zumos presentan pigmentos coloreados que pueden ejercer un efecto fotoprotector, que evita una mayor destrucción de patulina.

5).- La degradación fotoquímica de patulina, en el intervalo de pH de 3 a 6, se puede describir mediante una cinética de primer orden, habiendo observado que el aumentar la acidez del medio de reacción favorece este proceso. Al estudiar los mecanismos de compensación cinética se ha obtenido que la temperatura isocinética presenta un valor de  $-13,4^{\circ}\text{C}$  que es netamente inferior al valor de la temperatura media armónica de  $34,3^{\circ}\text{C}$ , lo que indica que esta fotodegradación presenta un mecanismo de control entrópico. Asimismo, se ha estudiado la compensación termodinámica, obteniendo una temperatura isocinética de  $-14,4^{\circ}\text{C}$ , y como este valor es inferior al correspondiente a la temperatura media armónica, corrobora que el mecanismo entrópico controla el proceso de degradación fotoquímica de patulina. El intervalo de variación de las temperaturas isocinéticas muestra que el valor máximo que pueden presentar es menor al valor de la temperatura media armónica, pudiendo concluir que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos.

6).- La ocratoxina A absorbe a longitudes de onda comprendidas entre 255 y 455 nm, de modo que se puede utilizar una lámpara que emita en estas longitudes de onda, con el fin de llevar a cabo su fotodegradación. Los valores de la potencia radiante espectral absorbida por las soluciones acuosas de ocratoxina A presentan una dependencia lineal con la concentración de ocratoxina A para concentraciones inferiores a  $100\ \mu\text{g/L}$ . La ocratoxina A se puede degradar mediante un tratamiento con irradiación UV, siguiendo una cinética de primer orden. El pH de las soluciones acuosas de ocratoxina A influye en la degradación fotoquímica de la ocratoxina A, habiéndose observada una mayor degradación a pH = 7 que a pH = 4. Para la ocratoxina A en

mosto de uva se ha obtenido que también se degrada con un tratamiento con radiación UV, siguiendo una cinética global de primer orden, aunque las constantes globales de fotodegradación muestran valores inferiores a los obtenidos en la irradiación de las soluciones acuosas. La razón de esto se podría atribuir al hecho de que el mosto contiene otras sustancias que pueden ejercer un efecto global fotoprotector, evitando que la destrucción de ocratoxina A sea mayor.

7).- La degradación fotoquímica de ocratoxina A, en el intervalo de pH de 3 a 6,5, se puede describir mediante una cinética de primer orden, habiendo observado que al disminuir la acidez del medio de reacción favorece este proceso. Al estudiar los mecanismos de compensación cinética se ha obtenido que la temperatura isocinética presenta un valor de 115°C que es netamente superior al valor de la temperatura media armónica de 29,8°C, lo que indica que esta fotodegradación presenta un mecanismo de control entálpico. Asimismo, se ha estudiado la compensación termodinámica, obteniendo una temperatura isocinética de 89,1°C, y como este valor es superior al correspondiente a la temperatura media armónica, corrobora que el mecanismo entálpico controla el proceso de degradación fotoquímica de patulina. El intervalo de variación de las temperaturas isocinéticas muestra que el valor máximo que pueden presentar es superior al valor de la temperatura media armónica, pudiendo concluir que el mecanismo controlante es el entálpico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos.

8).- La fotodegradación de tiabendazol en solución acuosa puede describirse mediante cinéticas de orden cero, pseudo-primer y primer orden. Para los tres tipos de cinéticas se supone el mismo mecanismo de reacción, en tres etapas, habiéndose obtenido que la etapa de desactivación del tiabendazol, activado por la absorción de la radiación, es superior a la etapa de formación de fotoproductos; aunque el aumento de temperatura favorece esta última etapa. Se ha observado que un aumento de temperatura favorece la degradación fotoquímica global de tiabendazol. El pH=4 es el que presenta una mayor fotodegradación de tiabendazol, especialmente a temperaturas comprendidas entre 25 y 45°C.



9).- Se han estudiado los mecanismos de compensación cinética y termodinámica de la fotodegradación de tiabendazol utilizando tres modelos cinéticos. En el caso de compensación cinética, las temperaturas isocinéticas obtenidas han sido de 4,1°C, 8,7°C y 4,8°C, para cinéticas de orden cero, primer orden y pseudo-primer orden, respectivamente. Cualquiera de estos valores es inferior al valor de la temperatura media armónica (29,6°C), lo que indica que la degradación fotoquímica de tiabendazol presenta un mecanismo de control entrópico. Al estudiar la compensación termodinámica, las temperaturas isocinéticas que se han obtenido han sido de 3,5°C, 6,3°C y 4,8°C, para cinéticas de orden cero, primer orden y pseudo-primer orden, respectivamente, que son inferiores a la temperatura media armónica, lo que corrobora que el mecanismo entrópico controla la fotodegradación de tiabendazol. Asimismo, el intervalo de variación de las temperaturas isocinéticas muestra que el valor máximo que pueden presentar es inferior al valor de la temperatura media armónica, pudiendo concluir que el mecanismo controlante es el entrópico y que no ha sido afectado por los posibles errores de experimentación y ajuste de los datos experimentales obtenidos.

10). El tratamiento con radiación UV provoca la degradación de benomilo en solución acuosa, pudiéndose describir dicha fotodegradación mediante un mecanismo cinético de primer orden. Se ha observado que la concentración inicial de benomilo en la solución acuosa no influye en la constante global de fotodegradación. Se ha obtenido que la etapa de desactivación del benomilo, activado por la absorción de la radiación, es superior a la etapa de formación de fotoproductos. Asimismo, en la desaparición de benomilo predomina la degradación fotoquímica sobre la etapa de hidrólisis de formación de carbendazima.

# 6. RECOMENDACIONES



A la vista de los resultados obtenidos, y de todo lo expuesto en la presente tesis, existen ciertos aspectos de investigación que convendría desarrollar en un futuro:

- 1).- Determinar y cuantificar los fotoproductos que se producen en la irradiación de las toxinas y plaguicidas estudiados en este trabajo, lo que permitiría definir la toxicidad de estos fotoproductos. Asimismo, convendría determinar la toxicidad de las soluciones irradiadas.
- 2).- Al estudiar la compensación cinética-termodinámica se ha observado que en algunos casos el control es entrópico. Esto indica que se pueden obtener valores de las constantes cinéticas de reacción más elevados sin necesidad de incrementar la temperatura (energía térmica), pues en este caso existe la posibilidad de incrementar las colisiones de las moléculas usando energía mecánica como la agitación. Una forma de ver este efecto sería combinar el tratamiento fotoquímico con la aplicación de ultrasonidos.
- 3).- Debido a que algunos compuestos, tales como riboflavina, esosina, rosa bengal entre otros, pueden actuar de fotosensibilizadores, se debería estudiar la degradación fotoquímica de toxinas y plaguicidas que contenga conjuntamente estos compuestos fotosensibilizadores en solución acuosa.
- 4).- Estudiar los efectos de la radiación UV sobre las características organolépticas y sobre las propiedades físicas y químicas de los tipos de zumos que contienen los productos tóxicos estudiados.



# 7. BIBLIOGRAFÍA



**A**

- Acar, J.; Gokmen, V.; Taydas, E. E. (1998). The effects of processing technology on the patulin content of juice during commercial apple juice concentrate production. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A Food Research and Thecnology*, 207, 328-331.
- Aguilar, K.; Ibarz, R.; Garvín, A.; Ibarz, A. (2016). Effect of UV–Vis irradiation on enzymatic activities and the physicochemical properties of nectarine juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 969–977.
- Alfano, O.M.; Vicente, M.; Esplugas, S.; Cassano, A.E. (1990). Radiation field inside a tubular multilamp reactor for water and wastewater treatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 29(7), 1270–1278.
- Anónimo (1994). Mozzarella cheese protected by ultraviolet disinfection. *Food Ind.*, 47(10), 19-21
- Anónimo (1999). UV Light provides alternative to heat pasteurization of juices. *Food Technol.*, 53(9), 144.
- Arántegui, J.; Prado, J.; Chamarro E.; Esplugas S. (1995) Kinetics of the UV degradation of atrazine in aqueous solution in the presence of hydrogen peroxide. *J. Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 88, 65-74.
- Arranz, I.; Derbyshire, M.; Kroeger, K.; Mischke, C.; Stroda, J.; Anklam, E. (2005). Liquid chromatographic method for quantitation of patulin at 10 ng/mL in apple-based products intended for infants: Interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 88, 518–525.
- Assatarakul, K., Churrey, J.J.; Manns, D.C.; Worrobo, R.W. (2012). Patulin reduction in apple juice from concentrate by UV radiation and comparison of kinetic degradation models between apple juice and apple cider. *Journal of Food Protection*, 75, 717-724.

**B**

- Bailey, J. S., Buhr, R. J., Cox, N. A.; Berrang, M. E. (1996). Effects of hatching cabinet sanitation treatments on Salmonella cross-contamination and hatchability of broiler eggs. *Poultry Sci.*, 75(2), 1991-1996.



- Balzani V.; Carassiti, V. (1970). *Photochemistry of Coordination Compounds*. Ed. Academic Press, Londres
- Basaran, N.; Quintero-Ramos, A.; Moake, M. M.; Churey, J. J.; Worobo, R.W. (2004). Influence of apple cultivar son inactivation of different strains of *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider by UV irradiation. *Appl. Envirom. Microbiol.*, 70(10), 6061-6065.
- Bedendo, G. C.; Jardim, I. C.; Carasek, E. (2012). Multiresidue determination of pesticides in industrial and fresh orange juice by hollow fiber microporous membrane liquid-liquid extraction and detection by liquid chromatography-electrospray-tandem mass espectrometry. *Talanta*, 88, 573-580.
- Ben-Yehoshua, S.; Rodov, V.; Jin, K. J.; Carmeli, S. (1992). Performed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1217-1221.
- Bintsis, T.; Litopoulou-Tzanetaki, E.; Robinson, R. (2000).Existing and potencial applications of ultraviolet Light in the food industry-A critical review. *J. Food Sci. Food Agric.*, 80, 637-645.
- Bird, R. B.; Stewrd, W. E.; Lighfoot, E. N. (1964). *Fenómenos de Transporte*. Ed. Reverté. Barcelona.
- Boeris, V.; Arancibia, J. A.; Olivieri, A. C. (2014). Determination of five pesticides in juice, fruit and vegetable samples by means of liquid chromatography combined with multivariate curve resolution. *Analytica Chimica Acta*, 814, 23-30.
- Bolong, N.; Ismail, A. F.; Salim, M. R.; Matsuura, T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 238(1-3), 229-246.
- Bosco, F.; Mollea, C. (2012). Mycotoxins in food. En: Benjamin Valdez (Ed.), *Food Industrial Process – Methods and Equipmernt*. En: Tech978-953-307-905-9. <http://dx.doi.org/10.5772/33061> (Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/food-industrial-processes-methods-and-equipment/mycotoxins-in-food>).
- Boval, B.; Smith, J. (1973). Photodecomposition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Chem. Eng. Science*, 28, 1661-1675.
- Brackett, F. P.; Forbes, G.S. (1933). Actinonietrywitliuranyl oxalate at XX 278, 253, and 208 m/x, including a comparison of periodically intermittent and continuous radiation. *J. Am. Chem. Soc.* 55, 4459-4466.

- Brackkett, R. E.; Marth, E. H. (1979). Ascorbic acid and ascorbate cause disappearance of patulin from buffer solutions and apple juice. *Journal of Food Protection*, 42, 864-866.
- Bruna, D.; Voldrich, M.; Marek, M.; Kamarad, J. (1999). Effect of processing and storage conditions on patulin content in apple juice concentrate. *Czech Journal of Food Science*, 17, 127-132.
- Bulla, C. D.; Edgerley, E. (1968). Photochemical degradation of refractory organic compounds. *J. Water Poll. Fed.*, 40 (4), 546-556.
- Bullerman, L. B.; Bianchini, A. (2007). Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 140-146.
- Burroughs, L. F. (1977). Stability of patulin to sulfur dioxide and to yeast fermentation. *Journal – Association of Official Analytical Chemists*, 60, 100-103.
- Burrows, H. D.; Kemp, T. J. (1974). The photochemistry of the uranyl ion. *Chem. Soc. Rev.*, 3, 139-165.
- Burton, H. (1951). Ultra-violet irradiation of milk. *Dairy Sci. Abstr.*, 13, 229-244.
- Butz, P.; Tauscher, B. (2002). Emerging Technologies: Chemicals aspects. *Food Research International*, 35, 279–284.

## C

- Calvert, J.G.; Pitts, Jr. J.N. (1967). *Photochemistry*. Ed. Wiley, Nueva York.
- Calmon, J.P.; Sayag, D.R. (1976). Kinetics and mechanisms of conversion of methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl) to methyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC). *J. Agric. Food Chem.*, 24(2), 311-314.
- Cassano, A. E.; Matsuura, T.; Smith, J. M. (1968). Batch recycle reactor for slow photochemical reactions. *Ind. Eng. Chem. Fundament.*, 7, 655-660.
- Cassano, A. E.; Martin, C. A.; Brandi, R. J.; Alfano, O. M. (1995). Photoreactor analysis and design: Fundamentals and applications. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 34, 2155-2201.
- Choi, L. H.; Nielsen, S. S. (2005). The effect of thermal and non-thermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *J. Food Quality*, 28, 13-29.
- Clapés, P.; Soley, J.; Vicente, M.; Rivera, J.; Caixach, J.; Ventura, F. (1986). Degradation of MCPA by photochemical methods. *Chemosphere*, 15 (4), 395-401.

- Codex Alimentarius Commission. (2003). Code of practice for the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages. *CAC/RCP*, 50, 1-6.
- Costa, J.; Esplugas, S.; Ibarz, A. (1980). Descomposición fotoquímica de soluciones acuosas de dodecilsulfonato sódico en un fotorreactor anular continuo de mezcla perfecta. *Afinidad*, 365, 11-15
- Crini, G. (2006). Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*, 97, 1061–1085.
- Crook, J.A.; Paul V. Rossitto, P.V.; Parko, J.; Koutchma, T.; Cullor, J.S. (2015). . Efficacy of Ultraviolet (UV-C) Light in a Thin-Film Turbulent Flow for the Reduction of Milkborne Pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12 (6), 506-513.
- Crosby, D.; Wong, A. (1973). Photo-decomposition of 2,4,5-trichlorophenoxy-acetic acid (2,4,5-T) in water. *J. Agr. Food Chem.*, 21, 1049-1052.

## D

- Dejenane, D., Sánchez-Escalante, A., Beltrán, J. A.; Roncalés, P. (2001). Extension of the retail display life of fresh beef packaging in modified atmosphere by varying lighting conditions. *J. Food Sci.*, 66(1), 181-186.
- D'Hallewin, G.; Schirra, M., Pala, M.; Ben-Yehoshua, S. (2000). Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJm<sup>-2</sup> reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of Star Ruby grapefruit (*C. paradise* Macf.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4571–4575.
- Dong, Q.; Manns, D. C.; Feng, G.; Yue, T.; Churrey, J. J.; Worobo, R. W. (2010). Reduction of patulin in apple cider by UV radiation. *Journal of Food Protection*, 73, 69-74.

## E

- EFSA (European Food Safety Authority) (2011). The 2009 European Union report on pesticides residues in foods. *EFSA Journal*, 9(11), 2430.

- Egberts, G. (1990). UV sterilization of water in the brewery and beverage industries. *Brauerei Forum*, 5(11), 85-87.
- Elsinghorst, A.; Tikekar, R. V. (2014). Generation of oxidative species from ultraviolet light induced photolysis of fructose. *Food Chemistry*, 154, 276-281.
- EPA (2002). U.S. Environmental Protection Agency. Pesticides EPA-738-R-02-011. Environmental Protection and Toxic Substances. July 31, 2002. *Agency (7508C). Reregistration Eligibility Decision (RED) Benomyl*.
- EPA (2015). U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA: Pesticides (Available at: <http://www.epa.gov/pesticides/> (accessed: 06/01/2015)).
- Esplugas (1975). *Contribución al Estudio de los Fotorreactores de Mezcla Perfecta*. Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona.
- Esplugas, S.; Ibarz, A.; Vicente, M. (1983). Influence of lamp position on the performance of the annular photoreactor. *Chemical Engineering Journal*, 27, 107–111.
- Esplugas, S.; Ibarz, A.; Vicente, M.; Prat, C.; Costa, J. (1984). Importance of radiation flow rate calculations in annular photoreactor design. Meeting A.I.Ch.E., San Francisco (USA).
- European Commission (2003). Commission Regulation (EC) No. 466/2001 as regards patulin. *Official Journal of The European Union of 12 August 2003*, L 230 (pp. 1-3).

## F

- Falguera, V., Pagán, J.; Ibarz, A. (2011a). Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 115-119.
- Falguera, V.; Esplugas, S.; Vicente, M.; Ibarz, A. (2011b). Modeling of absorbed radiation profiles in a system composed by a plane photoreactor and a single lamp. *Food Research International*, 44, 3111-3114.
- Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011c). Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 1: Fundamental engineering aspects. *Food Research International*, 44, 1571–1579.
- Falguera, V.; Pagán, J.; Garza, S.; Garvín, A.; Ibarz, A. (2011d). Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. *Food Research International*, 44, 1580-1588.

- Falguera, V.; Sánchez-Riaño, A. M.; Quintero-Cerón, J. P.; Rivera-Barrero, C. A.; Méndez-Arteaga, J. J.; Ibarz, A. (2012). Characterization of polyphenol oxidase activity in juices from 12 underutilized tropical fruits with high agroindustrial potential. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2921–2927.
- Falguera, V.; Folch, A.; Garvín, A.; Ibarz, A. (2013). Protective effect of melanoidins from fructoseglutamic acid on polyphenol oxidase inactivation by Ultraviolet-visible irradiation. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3290-3294.
- Fan, X.; Geveke, D. J. (2007). Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7816-7821.
- FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations (2003). Manual of the applications of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. *FAO Food and Nutrition Paper*, 73, 1-124.
- Farid, M.; Chen, X. D.; Dost, Z. (2000). Ultraviolet sterilization of orange juice. *8th International Congress on Engineering and Food*, Puebla, México.
- Farrow, J. E., Hoodless, R. A.; Sargent, M.; Sidwell, J. A. (1977). Fungicides residues. Part VI. Determination of residues of post-harvest fungicides in citrus fruit by HPLC. *Analyst*, 102, 752–758.
- FDA-U.S. Food and Drug Administration. (2004). *Apple Juice, Apple Juice Concentrates, and Apple Juice Products-Adulteration with Patulin*. Compliance policy guidance for FDA staff (Sec. 510.150. Disponible en: [http://www.fda.gov/ora/compliance\\_ref/cpgcpgfod/cpg510-150.htm](http://www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpgcpgfod/cpg510-150.htm)).
- Fernández, E.; Figuera, J.M.; Tobar, A. (1979). Use of the potassium ferrioxalate actinometer below 254 nm. *J. Photochem*, 11, 69-71.
- Flores-Andrade, E., Beristain, C.I., Vernon-Carter, E.J., Gutiérrez, G.F., & Azuara, E. (2009). Enthalpy–entropy compensation and water transfer mechanism in osmotically dehydrated agar gel. *Drying Technology*, 27(9), 999–1009.
- Funes, G. J., Gómez, P. L.; Resnik, S. L.; Alzamora, S. M. (2013). Application of pulsed light to patulin reduction in McIlvaine buffer and apple products. *Food Control*, 30, 405-410.

## G

- Galán, M.; Smith, J. (1976). Photodecomposition of phenol in a tubular-flow reactor. *Chem. Eng. Science*, 31, 1047-1056.

- Gamage, T. V.; Samarajeewa, U.; Wettimuny, S. G. De S.; Arseculeratne, S. N. (1985). Non-toxicity to ducklins of solar-irradiated coconut oil contaminated with aflatoxin. *Mircen J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1, 239-245.
- Garvín, A.; Ibarz, R.; Ibarz, A. (2015). Modelling of UV absorption in a plane photoreactor for solutions with high-patulin concentration. *Food Research International*, 69, 266-273.
- Gayán, E. (2013). *Development of Combined Treatments fo Food Hygienization Based on UV Light and Mild Heat*. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza.
- Gayán, E.; Serrano, M.J.; Monfort, A.; Álvarez, I.; Condón, S (2013). Pasteurization of Apple juice contaminated with *Escherichia coli* by a combined UV–mild temperature treatment. *Food and Bioprocess Technology*, 6 (11), 3006-3016.
- Gayán, E.; Condón, S.; Álvarez, I. (2014a). Biological Aspects in Food Preservation by Ultraviolet Light: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 2813-2827.
- Gayán, E.; Condón, S.; Álvarez, I. (2014b). Continuous-Flow UV Liquid Food Pasteurization: Engineering Aspects. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10), 2813-2827.
- Gennadios, A.; Rhim, J.W.; Handa, A.; Weller, C.L.; Hanna, M.A. (1998). Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films. *J. Food Sci.*, 63(2), 225-228.
- Gibbs, C. (2000). UV disinfection. *Soft Drink International*, January, 32-34.
- Greig, C.; Warne, S. (1992). UV disinfection Systems aid brewery hygiene. *Food Technol.*, 27(3), 20-21.
- Grossweiner, L.; Zwicker, E. (1961). Transient measurements of photochemical processes on dyes: I. The photosensitized oxidation of phenol by eosin and related dyes. *Journal Chemical Physics*, 34, 1411-1417.
- Gueguen, J.; Viroben, G.; Noireaux, P.; Subirade, M. (1998). Influence of plasticizers and treatments on the properties of films from pea proteins. *Ind. Crops Prod.*, 7, 149-157.
- Guerrero-Beltrán, J. A.; Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food. Sci. Tech. Int.*, 10(3), 137-147.
- Guerrero-Beltrán, J. A.; Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in apple juice by ultravioleta light. *J. Food Proc. Eng.*, 28, 437-452.

## H

- Harrington, W. O.; Hills, C. H. (1968). Reduction of the microbiological populations of apple cider by ultraviolet irradiation. *Food Technol.*, 22, 117-120.
- Harris, P. R.; Dranoff, J. S. (1975). A Study of Perfectly Mixed Photochemical Reactors. *A. I. Ch. E. Journal*, 11, 497-502.
- Hopkins, J. (1993). The toxicological hazards of patulin. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 455-456.
- Huebner, H. J.; Mayura, K.; Pallaroni, L.; Ake, C. L.; Lemke, S. L.; Herrera, P.; et al. (2000). Development and characterization of a carbon-based composite for reduction patulina levels in apple juice. *Journal of Food Protection*, 63, 106-110.

## I

- Ibarz, A. (1982). *Contribución al Estudio de la Fotodescomposición de Contaminantes Orgánicos en Aguas Residuales*. Piridina, Universidad de Barcelona
- Ibarz, A.; Pagán, J. (1986). Calibrado de una lámpara para tratamiento de contaminantes en alimentos líquido. *Alimentaria*, 174, 53-58.
- Ibarz, A.; Pagán, J.; Vicente, M. (1986). Efecto de la radiación ultravioleta sobre leche cruda. *Alimentación; Equipos y Tecnología*, 4/86, 95-101.
- Ibarz, A.; Pérez-Teijón, C. (1991). Descomposición fotosensibilizada con luz solar de soluciones acuosas de carbendazima. *Alimentaria*, 225, 105-110
- Ibarz, A.; Panadés, R.; Tejero, J.M. (1996). Fotodescomposición de benomilo en solución acuosa. *Afinidad*, 56, 53-56.
- Ibarz, A.; Garvín, A.; Garza, S.; Pagán, J. (2009). Inactivation of carboxypeptidase A and trypsin by UV-Visible light. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10(4): 517-521.
- Ibarz, R.; Garvín, A.; Falguera, V.; Pagán, J.; Garza, S.; Ibarz, A. (2014). Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *Food Research International*, 69, 158-166.
- Ibarz, R.; Garvín, A.; Azuara, E.; Ibarz, A. (2015a). Modelling of ochratoxin A photodegradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 385-392.

Ibarz, A.; Garvín, A.; Falguera, V. (2015b). Ultraviolet in food preservation and processing. En: *Conventional and Advanced Food Processing Technologies*. Bhattacharya S., editor. Ed. Wiley Blackwell, Singapore.

Ibarz, R.; Garvín, A.; Aguilar, K.; Ibarz, A. (2016). Kinetic study and modelling of the UV photo-degradation of thiabendazole. *Food Research International*, 81, 133-140.

## J

Jaraíz, E.; Mangas, F.; Galán, M. (1981). Photodecomposition of aniline in a tubular flow reactor. *Anales de Química*, 77, 129-136.

## K

Kaba, K. B. (2009). The fate of mycotoxins during thermal food processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 549e554.

Kadakal, C.; Nas, S. (2002). Effect of activated charcoal on patulin, fumaric and some other properties of apple juices. *Nahrung*, 46, 31-33.

Keyser, M.; Müller, I. A.; Cilliers, F. P.; Nel, W.; Gouws, P. A. (2008). Ultraviolet radiation as non-thermal treatment for inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 9, 348-354.

Knoevenagel, K.; Himmelreich, R. (1976). Degradation of compounds containing carbon atoms by photooxidation in the presence of water. *Archives Environment Contamination and Toxicology*, 4, 324-333.

Koubek, E. (1975). Photochemically Induced Oxidation of Refractory Organics with Hydrogen Peroxide. *Ind. Eng. Chem., Process Des. Dev.*, 14, 348.

Koutchma, T. N.; Forney, L. J.; Moraru, C. I. (2009a). *Ultraviolet Light in Food Technology. Principles and Applications*. Boca Raton: CRC Press.

Koutchma, T. (2009b). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid fluids. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138-155.

Kramer, G. F.; Ames, B.N. (1987). Oxidative mechanisms of toxicity of low-intensity near-UV Light in *Salmonella typhimurium*. *J. Bacterial*, 169, 2259-2266.



- Krug, R.R.; Hunter, W.G.; Grieger, R.A. (1976a). Enthalpy-entropy compensation.1—Some fundamental statistical problems associated with the analysis of van't Hoff and Arrhenius data. *Journal of Physical Chemistry*, 80 (21), 2335–2341.
- Krug, R.R.; Hunter, W.G.; Grieger, R.A. (1976b). Enthalpy-entropy compensation.2—Separation of the chemical from the statistical effect. *Journal of Physical Chemistry*, 80 (21), 2341–2351.

## L

- Lasram, S.; Oueslati, S.L.; Mliki, A.; Ghorbel, A.; Silar, P.; Chebil, S. (2012). Ochratoxin A and ochratoxigenic black *Aspergillus* species in Tunisian grapes cultivated in different geographic areas. *Food Control*, 25, 75-80.
- Lee, T.; Saad, B.; Ng, E.; Salleh, B. (2012). Zeolite Linde type L as micro-solid phase extraction sorben for the high performance liquid chromatography determination of ochratoxin A in coffee and cereal. *Journal of Chromatography A*, 1237, 46-54.
- Leeson, S., Díaz G. J.; Summers J. D. (1995). *Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins*. Univ. Books. Guelph, Ontario, 1995.
- Leffler, J.E. (1955). The enthalpy-entropy relationship and its implications for organic chemistry. *Journal of Organic Chemistry*, 20 (9), 1202–1231.
- Lennox, J. E.; McElroy, I. J. (1984). Inhibition of growth and patulina síntesis in *Penicillium expansum* by potassium sorbate and sodium propanoate in culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 48, 1031-1033.
- Li, J.; Wu, R.; Hu, Q.; Wang, J. (2007). Solid-phase extraction and HPLC determination of patulin in apple juice concentrate. *Food Control*, 18(5), 530–534.
- Lodi, R.; Brasca, M.; Mañasina, P.; Nicosia, P. (1996). Improvement of the microbiological quality of goat milk by UV treatment. *Dairy Science Abstracts*, 58, 484
- Lu, G.; Li, C.; Liu, P.; Cui, H.; Yao, Y.; Zhang, Q. (2010a). UV inactivation of microorganisms in beer by novel thin-film apparatus. *Food Control*, 21, 1312–1317.
- Lu, G.; Li, C.; Liu, P.; Cui, H.; Xia, Y.; Wang, J. (2010b). Inactivation of microorganisms in apple juice using an ultraviolet silica-fiber optical device. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 100, 167–172.

Luse, R. A.; McLaren, A. D. (1963). Mechanism of enzyme inactivation by ultraviolet light and the photochemistry of amino acids (at 2537 Å). *Photochemistry and Photobiology*, 2, 343-360.

## M

Marín, S.; Mateo, E. M.; Sanchis, V.; Valle-Algara, F. M.; Ramos, A. J.; Jiménez, M. (2011). Patulin contamination in fruit derivatives, including baby food, from the Spanish market. *Food Chemistry*, 124, 563-568.

Matsuura, T.; Cassano, A. E.; Smith, J. M. (1969). Acetone photolysis in a flow reactor: Kinetic studies. *A.I.Ch.E.*, 15, 495-501.

Matsuura, T.; Smith, J. (1971). Photodecomposition of detergent solutions at high conversions. *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, 10 (2), 316-318.

McLaren, A. D.; Gentile, P.; Kirk Jr., D. C.; Levin, N. A. (1953). Photochemistry of proteins. XVII. Inactivation of enzymes with ultraviolet light and photolysis of the peptide bond. *J. Polymer Sci.*, 10(3), 333-344.

McKernzie, K. S.; Sarr, A. B.; Mayura, K.; Bailery, R. H.; Miller, D. R.; Rogers, T. D.; et al. (1997). Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 807-820.

Mestres, R.; Tourte, J.; Campo, M. (1972). Residus de pesticides. XXIII. Recherche et dosage du thiabendazole dans les agrumes et les bananes. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique*, 703, 315-321.

Micard, V.; Belamri, R.; Morel, M.-H.; Guilbert, S. (2000). Properties of chemically and physically treated wheat gluten films. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2948-2953.

Milly, P. J.; Toledo, R. T.; Chen, J.; Kazem, B. (2007). Hydrodynamic cavitation to improve bulk fluid to surface mass transfer in a nonimmersed ultraviolet system for minimal processing of opaque and transparent fluid foods. *Journal Food Science*, 72 (9), M407-M413.

Moake, M. M.; PadillaZakourr, O. I.; Worobo, R. W. (2005). Comprehensive review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4, 8-21.

Montforts, M. H. (2006). Assessment of persistency and bioaccumulation in pesticide registration frameworks within the Organization for Economic Cooperation and Development. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2(1), 13-21.

Morgan, R. (1989). UV 'green' light disinfection. *Dairy Industries International*, 54(11), 33-35.

Mozurkewich, M.; Benson; S.W. (1984). Negative activation energies and curved Arrhenius plots. 1. Theory of reactions over potential wells. *J. Phys. Chem.*, 88, 6429-6435.

## N

Nakayama, A.; Shinya, R. (1981). Ultraviolet sterilization of sugar solution containing spores of obligate anaerobes causing flat sour spoilage. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan (Shokusan Eiseigaku Zasshi)*, 22, 421-424.

Neely W. C.; West A. D. (1972). Spectroanalytical parameters of fungal metabolites. 3. Ochratoxin A. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 55, 1305-1309

Nkama, I.; Muller, H. G. (1988). Effects of initial moisture content and light intensity on the photodegradation of aflatoxin B<sub>1</sub> in contaminated rice. *J. Cereal Sci*, 8(3), 269-274.

Norman, S. M.; Fouse, D. C.; Craft, C. C. (1972). Thiabendazole residues on and in citrus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(6), 1227-1230.

## O

Oliver, B.; Cosgrove, E. (1975). The disinfection of sewage treatment plant effluents using ultraviolet light. *Canadian Journal of Chemical Engineering.*, 53, 170-174.

Oliver, D. B.; Bach, W.; Kryschi, R. (1990). Disinfection of water in breweries by UV irradiation. *Brauwelt*, 130, 1428-1434.

Orlowska, M.; Koutchma, T.; Kostrzynska, M.; J. Tang, J. (2015). Surrogate organisms for pathogenic O157:H7 and non-O157 Escherichia coli strains for apple juice treatments by UV-C light at three monochromatic wavelengths. *Food Control*, 47, 647-655.

## P

- Panadés, R.; Ibarz, A.; Esplugas, S. (2000). Photodecomposition of carbendazim in aqueous solutions. *Water Research*, 34 (11), 2951-2954.
- Papadopoulou-Mourkidou, E. (1991). Post-harvest-applied agrichemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. *Journal of the Association of Official Chemists*, 74, 745–765.
- Pitts, J. M.; Margerum, J. D.; Taylor, R. P.; Brim, W. (1955). Determination of light intensities with a highly sensitive uranyl oxalate actinometer. *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 5499-5501.

## R

- Rabek, J. (1982). *Experimental Methods in Photochemistry and Photophysics*. Ed. Wiley, Nueva York.
- Rhim, J.W.; Gennadios, A.; Fu, D.; Weller C.L.; Hanna, M.A. (1999). Properties of ultraviolet irradiated protein films. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 32, 129-133.
- Roca-Jalil, M. E., Baschini, M., Rodríguez-Castellón, E., Infantes-Molina, A., & Sapag, K. (2014). Effect of the Al/clay ratio on the thiabendazole removal by aluminum pillared clays. *Applied Clay Science*, 87, 245–252.
- Roland, J. O.; Beuchat, L. R.; Worthington, R. E.; Hitchcock, H. L. (1984). Effects of sorbate, benzoate, sulphur dioxide and temperature on growth and patulina production by *Byssosclamyces* in grape juice. *Journal of Food Protection*, 47, 237-241.
- Rossetti, G.H.; Albizzati, E.D.; Alfano, O.M. (2004). Modeling of a flat-plate solar reactor. Degradation of formic acid by the photo-Fenton reaction. *Solar Energy*, 77, 461–470.

## S

- Salomao, B. C. M.; Aragao, G. M. F.; Churrey, J. J.; Worobo, R. W. (2008). Efficacy of sanitizing treatments against *Penicillium expansum* inoculated on six varieties of apples. *Journal of Food Protection*, 71, 643-647.

- Samarajeewa, U.; Arseculeratne, S. N. (1974). Control of aflatoxin contamination-2. Detoxification of aflatoxin contaminated coconut oil. *Proc. Ceylon Assoc. Adv. Sci.*, 30, 35.
- Samarajeewa, U.; Jayatilaka, C. L. V.; Ranjithan, A.; Gamage, T. V.; Arseculeratne, S. N. (1985). A pilot plant for detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> contaminated oil by solar irradiation. *Mircen J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1, 333-343.
- Samarajeewa, U.; Gamage, T. V.; Arseculeratne, S. N. (1987). Non-toxicity of solar-irradiated edible oils contaminated with aflatoxin B<sub>1</sub>. En: *Progress in Venom and Toxin Research*. Eds. P. Gopalakrishnakone y C.K. Tan. Universidad de Singapur, Singapur
- Samarajeewa, U.; Sen, A. C., Cohen, M. D.; Wei, C. I. (1990). Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *J. Food Protect.*, 53(6), 489-501.
- Sánchez-Pérez, J. A.; Carra, I., Sirtori, C., Agüera, A.; Esteban, B. (2014). Fate of thiabendazole through the treatment of a simulated agro-food industrial effluent by combined MBR/Fenton processes at µg/L scale. *Water Research*, 51, 55–63.
- Sant'Ana, A.; Rosenthal, A.; de Massaguer, P. (2008). The fate of patulin in apple juice processing: A review. *Food Research International*, 41, 441–453.
- Sargent, J.; Sanks, R. (1974). Light-energized oxidation of organic wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 46 (11), 2547-2254
- Sargent, J.; Sanks, R. (1976). Dye catalyzed oxidation of industrial wastes. *Journal of Environmental Engineering Division*, 102 (5), 879-895
- Schorr, V.; Boval, B.; Hancil, V.; Smith, J. (1971). Photooxidation kinetics of organic pollutants in municipal waste water. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Develop.*, 10, 509-514.
- Seiji, M.; Iwashita, S. (1965). Enzyme inactivation by ultraviolet light and protective effect of melanin. *J. Biochem.*, 57(3), 457-459.
- Shama, G.; Peppiatt, C.; Biguzzi, M. (1996). A novel thin film photoreactor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 65, 56–64.
- Shantha, T.; SreenivasaMurthy, V. (1981). Use of sun light to partially detoxify groundnut (peanut) cake flour and casein contaminated with aflatoxin B<sub>1</sub>. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64, 291-293.
- Shi, K.; Kokimi, J.L.; Huang, Q. (2009). Engineering zein films with controlled surface morphology and hydrophilicity. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 2186-2192.

- Sizer, C. E.; Balasubramaniam, V. M. (1999). New intervention processes for minimally processed juices. *Food Technology*, 53(10), 64-67.
- Snowball, M. R.; Hornsey, I. S. (1988). Purification of water supplies using ultra-violet Light. En: *Development in Food Microbiology*. Ed. R. K. Robinson. Elsevier Applied Science, London.
- Stermer, R. A., Lasater-Smith, M.; Brasington, C. F. (1987). Ultraviolet radiation-An effective bactericide for fresh meat. *J. Food Protect.*, 50(2), 108-111.
- Stevens, C.; Khan, V. A.; Lu, J. Y.; Wilson, C. L.; Pusey, P. L.; Igwegbe, E. C. K.; Kabwe, M. K.; Mafolo, Y.; Liu, J.; Chalutz, E.; Droby, S. (1997). Integration of ultraviolet a (UV-C) Light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. *Biological Control*, 10, 98-103.
- Stevens, C.; Khan, V. A.; Lu, J. Y.; Chalutz, E. M.; Droby, S.; Kabwe, M. K.; Huang, Z.; Adeyeye, O.; Pusey, P. L.; Tang, A. Y. A. (1999). Induced resistance of sweet potato to *Fusarium* root by UV-C hormesis. *Crop Protection*, 18, 463-470.

## T

- Tikekar, R. V.; Anantheswaran, R. C.; LaBorde, I. F. (2013). Patulin degradation in a model apple juice system and in apple juice during ultraviolet processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12047>.
- Tran, M. T. T.; Farid, M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Sci. Technol.*, 5, 495-502.

## U

- Ustunol, Z.; Mert, B. (2004). Water solubility, mechanical, barrier, and thermal properties of cross-linked whey protein isolate-based films. *J. Food Sci.*, 69 (3), FEP129-133.

## V

- Veneziano, A.; Vacca, G.; Arana, S.; De Simone, F.; Rastrelli, L. (2004). Determination of carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl in banana (*Musa acuminata*) samples imported to Italy. *Food Chemistry*, 87, 383–386.
- Vicente, M.; Esplugas, S. (1983). Calibrado del fotorreactor anular. *Afinidad*, 40, 453-457.

## W

- Wafa, E. W.; Yahya, R. S.; Sobh, M. A.; Eraky, I.; El-Baz, M.; El-Gayar, H. A. M.; et al. (1998). Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: a preliminary study. *Human & Experimental Toxicology*, 17, 124e129.
- Wheeler, J. L.; Harrison, M. A.; Koehler, P. E. (1987). Presence of patulin in pasteurized apple cider. *Journal of Food Science*, 52, 479-480.
- WHO (1995). World Health Organization, 44th Report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *Technical Reprrot Series*, Vol. 859 (pp. 36).
- Wright, J. R.; Sumne, S. S.; Hackney, C. R.; Pierson, M. D.; Zoecklein, B. W. (2000). Efficacy of ultraviolet Light for reducing *Escherichia coli* 0157:H7 in unspasteurized apple cider. *J. Food Protection*, 63(59), 563-567.
- Wihodo, M.; Moraru, C.I. (2013). Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. *J. Food Eng.*, 114, 292-302.

## Y

- Yazici, S.; Velioglu, S. (2002). Effect of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and calcium-D-pantothenate on the patulin content of apple juice concentrate. *Nahrung/Food*, 46, 256-257.
- Yousef, A. E.; Marth, E. H. (1985). Use of ultraviolet energy to degradate aflatoxin M<sub>1</sub> in raw or heated milk with and without added peroxide. *J. Dairy Sci.*, 69, 2243-2247.
- Yousef, A. E.; Marth, E. H. (1987). Kinetics of interaction of aflatoxin M<sub>1</sub> in aqueous solutions irradiated with ultraviolet energy. *J. Agric. Food Chem.*, 35, 785-789.

**Z**

- Zbozinek, J. V. (1984). Environmental transformations of DPA, SOOP, benomyl and thiabendazole. *Residue Reviews*, 92, 113–155.
- Zegota, H.; Zegota, A.; Bachmann, S. (1988). Effect of irradiation and storage on patulin disappearance and some chemical constituents of apples juices concentrate. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersucung und-Forrshun*, 187, 321-324.
- Zhu, Y., Koutchma, T.,Warriner, K.; Shao, S.; Zhou, T. (2013). Kinetics of patulin degradation in model solution, apple cider and apple juice by ultraviolet radiation. *Food Science and technology International*, 19(4), 291–303.
- Zhu, Y., Koutchma, T.,Warriner, K.; Zhou, T. (2014). Reduction of patulin in apple juice products by UV light of different wavelengths in the UVC range. *Journal of Food Protection*, 77(6), 963–971.

Recursos electrónicos:

[http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Benomil\\_Enlace\\_81.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Benomil_Enlace_81.pdf) (conectado mayo 2014)





# 8. NOMENCLATURA



$a$	Origen de ordenadas de la regresión lineal entre $P_{abs}$ y $C_{TBZ}$
$A$	Dimensión del reactor en el eje $x$
$A_{\lambda}$	Absorbancia de la solución a la longitud de onda $\lambda$
$A_{10}$	Absorbancia logaritmo en base 10
$A_e$	Absorbancia logaritmo en base $e$
$b$	Pendiente de la regresión lineal entre $P_{abs}$ y $C_{TBZ}$
$B$	Dimensión del reactor en el eje $y$
$B$	Molécula de benomilo
$B^*$	Molécula excitada de benomilo
$C$	Dimensión del reactor en el eje $z$
$C$	Concentración de la sustancia absorbente presente en la solución
$C^0$	Concentración inicial de la sustancia absorbente presente en la solución
$D$	Radio de la esfera definida por los dos puntos de emisión de la lámpara, el punto central y el punto considerado de la solución
$d_S$	Longitud de la trayectoria de luz a través de la solución
$E_a$	Energía de activación
$F_{\lambda}$	Fracción de energía emitida por la lámpara a la longitud de onda $\lambda$
$\Delta G$	Cambio de la energía libre de Gibbs
$\Delta H$	Cambio de entalpía
$I$	Energía transmitida a través de la solución
$I_{\lambda}$	Energía de radiación a una longitud de onda $\lambda$ que llega a un punto específico dentro de la solución a partir de un punto específico de la lámpara
$k_D$	Constante cinética para la etapa de desactivación
$k$	Constante cinética para la etapa de formación de fotoproducto
$k_0$	Factor de frecuencia
$K_i$	Rendimiento cuántico para el compuesto $i$
$k_R$	Constante de proporcionalidad entre $P_{abs}$ y $C_P$
$L$	Longitud de la lámpara
$m$	Constante global de degradación fotoquímica
$n$	Número de capas en las que se divide el reactor para evaluar 4.2-15
$N$	Número total de temperaturas de tratamiento
$OTA$	Molécula de ocratoxina A
$OTA^*$	Molécula excitada de ocratoxina A
$P$	Molécula de patulina
$P^*$	Molécula excitada de patulina
$P_L$	Potencia emitida por la lámpara
$P(z)$	Potencia radiante espectral incidente para una profundidad específica del reactor para la superficie entera
$P(0)$	Potencia radiante espectral incidente en la superficie del reactor para la superficie entera
$P(C)$	Potencia radiante espectral incidente en el fondo del reactor para la superficie entera
$P_{\lambda}$	Energía total emitida por toda la lámpara a una longitud de onda $\lambda$
$P_{abs,\lambda}$	Energía de radiación total absorbida a una longitud de onda $\lambda$ por todo el volumen de reacción
$P_{abs}(V)$	Potencia de radiación total absorbida por todo el volumen
$P_{abs}$	Potencia de radiación total absorbida por unidad de volumen
$R$	Constante universal de gases
$R_i$	Velocidad intensiva de reacción para la degradación del compuesto $i$

$\Delta S$	Cambio de entropía
$t$	Tiempo de irradiación
$T$	Temperatura
$T_{iso}$	Temperatura isocinética
$T_{hm}$	Temperatura media armónica
$TBZ$	Molécula de tiabendazol
$TBZ^*$	Molécula excitada de tiabendazol
$V$	Volumen de reacción
$x$	Posición del punto dentro de la solución en el eje de las $x$ donde se considera la energía de absorción
$x_0$	Posición de la lámpara en el eje de las $x$
$X$	Conversión de ácido oxálico
$y$	Posición del punto dentro de la solución en el eje de las $y$ donde se considera la energía de absorción
$y_0$	Posición del punto de partida de la lámpara en el eje $y$
$y_L$	Coordenada que define cada punto específico de la lámpara
$z$	Posición del punto dentro de la solución en el eje de las $z$ donde se considera la energía de absorción
$z_0$	Posición de la lámpara en el eje de las $z$
$\beta$	Ángulo definido tanto por tanto el punto de emisión de la lámpara como por el punto en la solución que recibe la radiación
$\varepsilon_\lambda$	Coefficiente de extinción molar a la longitud de onda $\lambda$
$\phi_\lambda$	Rendimiento cuántico a la longitud de onda $\lambda$
$\eta_\lambda$	Eficacia de absorción (Ec. 1.7-7)
$\mu_\lambda$	Coefficiente de absorción a la longitud de onda $\lambda$

Subíndices.

$B$	Benomilo
$emit$	Emitida
$hm$	Media armónica
$iso$	Isocinética
$L$	Lámpara
$O-OTA$	Ocratoxina A
$P$	Patulina
$TBZ$	Tiabendazol
$\lambda$	Longitud de onda
0	Orden cero
1	Primer orden
P1	Pseudo-primer orden

## 9. ANEJOS



A partir del trabajo desarrollado en esta tesis se han publicado los siguientes artículos:

- 1).- Ibarz, R; Garvín, A.; Falguera, V.; Pagán, J.; Garza, S.; Ibarz, A. (2014). Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *Food Research International*, 66, 158-166. doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.006.
- 2).- Garvín, A.; Ibarz, R.; Ibarz, A. (2015). Modelling of UV absorption in a plane photoreactor for solutions with high-patulin concentration. *Food Research International*, 69, 266-273. doi: 10.1016/j.foodres.2014.12.035.
- 3).- Ibarz, R.; Garvín, A.; Azuara, E.; Ibarz, A. (2015). Modelling of ochratoxin A photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 385-392. doi: 10.1016/j.lwt.2014.12.017.
- 4).- Ibarz, R; Garvín, A.; Aguilar, K.; Ibarz, A. (2016). Kinetic study and modeling of the UV photo-degradation of thiabendazole. *Food Research International*, 81, 133-140. doi: 10.1016/j.foodres.2015.12.014.
- 5).- Ibarz, R.; Garvín, A.; Pagán, J.; Ibarz, A. (2015). Modelización cinética de la degradación fotoquímica de benomilo. *Afinidad*, 579, 108-113.
- 6).- Ibarz, R.; Garvín, A.; Rojas, S.; Azuara, E.; Ibarz, A. (2015). Rate-controlling mechanisms in the photo-degradation of Ochratoxin A. *LWT - Food Science and Technology*, (Pendiente aceptación)

Actualmente, se está trabajando en la redacción de nuevos artículos sobre compensación cinética-termodinámica.







## Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp



R. Ibarz, A. Garvín\*, V. Falguera, J. Pagán, S. Garza, A. Ibarz

Food Technology Department, Xarta-UTPV, University of Lleida, Catalonia, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 June 2014

Received in revised form 5 September 2014

Accepted 8 September 2014

Available online 16 September 2014

#### Chemical compounds studied in this article:

Patulin (PubChem CID: 4696)

#### Keywords:

Patulin

UV

Radiation

Photo-reactor

Photo-degradation

Treatment

Juice

Apple

### ABSTRACT

In this paper, a new mechanism is proposed to describe the degradation of patulin using UV radiation from a mid-pressure lamp with emission wavelengths between 250 and 740 nm. The mechanism consists of three stages: excitation of the patulin molecule that can desorb the energy to its fundamental state or degrade to photoproducts. It is shown that this mechanism is in line with a first-order kinetic that best describes the process.

Considering the linear spherical emission model and using the Simpson integration method, the spectral radiant power absorbed by the whole solution is evaluated, and also its dependence on patulin concentration and the incident spectral radiant power at different depths.

Previous works studied the degradation of patulin using UV radiation, but using exclusively the germicidal wavelength of 254 nm. Moreover, none of them proposed a reaction mechanism, nor evaluated the spectral radiant power absorbed by the whole solution.

First of all, the absorption spectrum of patulin was obtained. It was concluded that both the absorption by patulin and emission from the lamp coexist in the range between 255 and 350 nm.

The kinetic constants for aqueous solutions of 500 µg/L of patulin at pH = 4 and pH = 7 and temperatures of 8, 25, 45, and 65 °C were obtained. In order to know the effect of the juice matrix on the photodegradation process, the kinetic constants for clarified 12 °Brix apple juice containing 500 µg/L of patulin were obtained at the same pH and temperature values.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Patulin (PAT) is a mycotoxin produced by fruit decay fungi, in particular *Penicillium*, *Aspergillus* and *Byssoschlamys* species, *Penicillium expansum* being the most relevant (Bosco & Mollea, 2012). PAT can be found mainly in apple and apple products, with much less frequent contamination in other food products (Moake, PadillaZakour, & Worobo, 2005). Marín et al. (2011) published a summary of the surveys published after year 2000, showing an average of 47% of positive samples of apple juices and nectars.

As PAT was shown to be mutagenic and to cause neurotoxic, immunotoxic, genotoxic and gastrointestinal effects in rodents (Hopkins, 1993), the maximum tolerance limit in juices was established at 50 µg/L (European Commission, 2003; FDA-U.S. Food and Drug Administration, 2004; WHO, 1995).

PAT contamination of apple derivatives has to be minimized by removing and trimming decayed and damaged fruit (Codex Alimentarius Commission, 2003; FAO-Food and Agriculture organization of the United Nations, 2003). Nevertheless, a single contaminated apple in a batch of up to 1000 apples can cause a content

higher than the maximum permitted level (Salomao, Aragao, Churey, & Worobo, 2008). Moreover, fungal growth can occur internally, as a consequence of various kinds of damage, and can result in the occurrence of PAT in externally undamaged fruit (Bosco & Mollea, 2012) and the contamination can also appear or be increased during storage. So, the mould has to be eliminated in fresh fruits and an effective method for degrading PAT without modifying end-product quality has to be found. As juice processing can only eliminate under half of the initial PAT concentration (Acar, Gokmen, & Taydas, 1998) and it is also highly resistant to pasteurization (Wheeler, Harrison, & Koehler, 1987), many alternative methods have been studied to eliminate this mycotoxin in apple juices. These include filtration (Huebner et al., 2000), adsorption (Kadalkal & Nas, 2002), ozone (McKenzie et al., 1997), pressure (Bruna, Voldrich, Marek, & Kamarad, 1999), ionizing irradiation (Zegota, Zegota, & Bachmann, 1988), pulsed light (Funes, Gómez, Resnik, & Alzamora, 2013) and addition of chemical additives such as sulphur compounds (Burroughs, 1977), ascorbic acid (Brackett & Marth, 1979), thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and calcium pantothenate (Yazici & Velioglu, 2002), sodium benzoate (Roland, Beuchat, Worthington, & Hitchcock, 1984), potassium sorbate and sodium propionate (Lennox & McElroy, 1984). Most of these alternative methods provoke great changes to the final juice or are unable to eliminate the total PAT content.

\* Corresponding author at: ETSEA – Universidad de Lleida Av. Rovira Roure, 191 25198 Lleida Catalonia, Spain.

E-mail address: [garvin@tecal.udl.cat](mailto:garvin@tecal.udl.cat) (A. Garvín).

Ultraviolet irradiation is widely applied in industries to disinfect drinking water, air and surface disinfection and toxin degradation (Falguera, Pagán, Garza, Garvín, & Ibarz, 2011). Dong et al. (2010) reported that UV irradiation at the exclusive germicidal wavelength (254 nm) could lead to a reduction and/or elimination of PAT in apple cider and juice products without unwanted alterations of the final product. Assatarakul, Churey, Manns, and Worobo (2012) later concluded that the reaction followed a first-order kinetic model and Tikekar, Anantheswaran, and LaBorde (2013) concluded the more time needed than for the reduction of pathogens.

All the previous works that studied the UV photodegradation of PAT used a lamp emitting exclusively at the germicidal wavelength of 254 nm and none of them proposed a reaction mechanism, nor evaluated the spectral radiant power absorbed by the whole solution or its dependence on PAT concentration and the incident spectral radiant power at different depths. In all the cases, they studied the effect of UV incident dose at the surface of the reactor, measuring the incident intensity at the surface of the liquid with a radiometer, but without evaluating the absorbed energy, which is the parameter that really influences the reaction. In fact, the incident intensity at the surface is not the incident intensity at any other depth. They concluded that the time needed for PAT reduction is much higher than the time required for pathogen reduction and proposed the combination of UV irradiation with other juice-processing techniques, such as adsorption, filtration or addition of fructose.

So, the main aim of this work is to solve this lack of information, studying the degradation of PAT with a multi-wavelength emitting lamp of much higher power, in order to know if the time needed for germicidal reduction by the 254 nm wavelength is similar to the time needed for PAT reduction at all the wavelengths emitted by the lamp in the range where PAT absorbs energy. To this end, the emitting and absorption spectra must be compared and the absorbed energy and its dependence on the PAT concentration have to be calculated. Finally, a reaction mechanism, related with the absorbed energy, which fits the first-order kinetic, is proposed.

Depending on the variety and ripeness of the apples, the juice has a pH ranging approximately from 3.5 to 4.2, while the washing water pH is close to neutrality. Therefore, aqueous solutions of PAT at pH 4 and pH 7 were irradiated. The photodegradation of PAT added to a reconstituted apple juice from a concentrate was also studied.

## 2. Material and methods

### 2.1. Irradiation model

When a solution is irradiated with an electromagnetic radiation, part of the energy is absorbed. The ability to absorb radiation can be known by defining the absorbance as the logarithm of the ratio between the incident ( $P_\lambda^0$ ) and the transmitted ( $P_\lambda$ ) spectral radiant power at  $\lambda$  wavelength. Taking into account the base of the logarithm, two definitions are possible:

$$A_{10}(\lambda) = \log_{10} \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda}; A_e = \ln \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda} \quad (1)$$

The spectrophotometers usually measure the absorbance as  $A_{10}$ , while the model equations use  $A_e$ . The relation between both terms is  $A_e = A_{10} \cdot \ln 10$ .

Lambert–Beer proposed a linear relation between the absorbance at a fixed wavelength and the concentration of the absorber substance

$$A(\lambda) = \varepsilon_\lambda \cdot C_A \cdot D_S \quad (2)$$

where  $A(\lambda)$  is the absorbance at  $\lambda$  wavelength,  $\varepsilon_\lambda$  the molar absorption coefficient at the same wavelength,  $C_A$  the concentration of the absorber substance and  $D_S$  the path length of light through the solution.

Considering Lambert–Beer's law, the e-base absorbance, a plane photoreactor with a cylindrical lamp (Fig. 1) and a linear spherical emission model (Falguera et al. 2011b), the spectral radiant power reaching ( $P_\lambda$ ) a specific point ( $x, y, z$ ) inside the solution at each wavelength, from the spectral radiant power emitted at the same wavelength by a specific point of the lamp, can be obtained as:

$$A_\lambda = \ln \frac{P_\lambda(S)}{P_\lambda(x, y, z)} = \varepsilon_\lambda C_A D_S \quad (3)$$

$$P_\lambda(x, y, z) = P_\lambda(S) \frac{D_0^2}{D^2} \exp(-\varepsilon_\lambda C_A D_S) = P_\lambda(S) \frac{D_0^2}{D^2} \exp\left(-\varepsilon_\lambda C_A \frac{z}{\sin\beta}\right) \quad (4)$$

where  $P_\lambda(S)$  is the incident spectral radiant power at  $\lambda$  wavelength at the reactor's surface from the specific point considered in the emitting lamp, being obtained as:

$$P_\lambda(S) = \frac{W_\lambda(L)/L}{4\pi D_0^2} dy_L \quad (5)$$

where  $W_\lambda(L)$  is the total energy emitted by the whole lamp at  $\lambda$  wavelength,  $L$  is the lamp length,  $y_L$  is the coordinate that defines each specific point of the lamp and  $D_0$  is the radius of the sphere defined by the considered emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection in the reactor's surface of the beam in his way to the considered point ( $x, y, z$ ).

$D_0$  and  $D_S$  can be obtained from the following equations:

$$D_0 = \frac{z_0}{\sin\beta} \quad (6)$$

$$\sin\beta = \frac{z_0 + z}{D} \quad (7)$$

$$D^2 = (x - x_0)^2 + (y - y_L)^2 + (z + z_0)^2 \quad (8)$$

$$D_S = \frac{z}{\sin\beta} \quad (9)$$

The incident spectral radiant energy for a specific depth of the reactor can be obtained integrating Eq. (4) for the whole length of the lamp, and all the  $x$  and  $y$  values for the specific  $z$  value:

$$P_\lambda(z) = \frac{W_\lambda(L)/L}{4\pi} \int_{x=0}^A \int_{y=0}^B \int_{y_L=y_0}^{y_0+L} \frac{\exp\left(-\varepsilon_\lambda C_A \frac{z}{\sin\beta}\right)}{D^2} dy_L dy dx \quad (10)$$

where  $A$  and  $B$  are the reactor's dimensions on the  $x$  and  $y$  axes.

A point ( $x', y', z'$ ) is considered at an infinitesimal distance from ( $x, y, z$ ). The transmitted spectral radiant power through this infinitesimal path ( $d_S$ ) is:

$$P_\lambda(x', y', z') = P_\lambda(x, y, z) \exp(-\varepsilon_\lambda C_A d_S) \quad (11)$$

being

$$d_S = \frac{dz}{\sin\beta} \quad (12)$$

In the case of dilute solutions, where the values of the product  $\varepsilon_\lambda \cdot C$  are low, this equation can be simplified as:

$$P_\lambda(x', y', z') \approx P_\lambda(x, y, z) [1 - \varepsilon_\lambda C_A d_S] \quad (13)$$

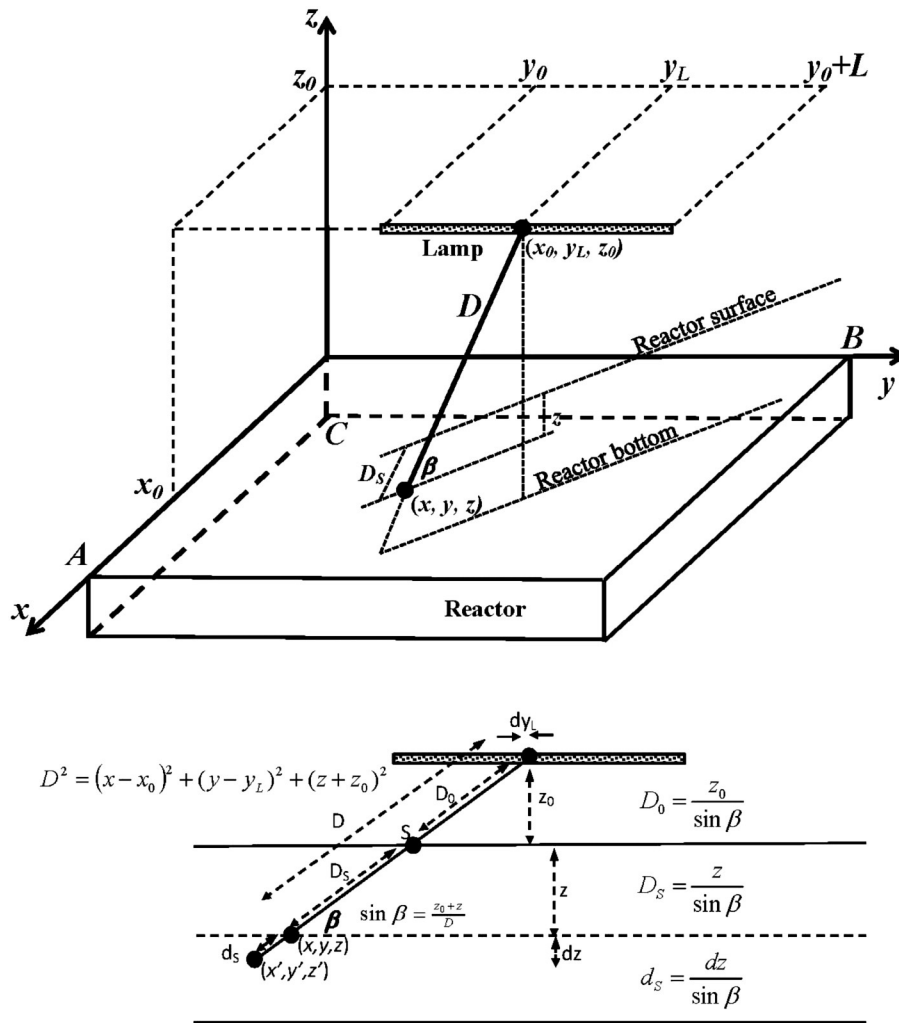


Fig. 1. Scheme of a plane photoreactor.

The infinitesimal spectral radiant power absorbed by the solution between the points separated at an infinitesimal distance is:

$$dP_{abs,\lambda}(x,y,z) = P_{\lambda}(x,y,z) - P_{\lambda}(x',y',z') \approx P_{\lambda}(x,y,z)(\epsilon_{\lambda}C_A d_s) \quad (14)$$

$$dP_{abs,\lambda}(x,y,z) = \frac{W_{\lambda}(L)/L}{4\pi D^2} dy_L \exp\left(-\epsilon_{\lambda}C_A \frac{z}{\sin\beta}\right) \epsilon_{\lambda}C_A \frac{dz}{\sin\beta} \quad (15)$$

Thus, the spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp at  $\lambda$  wavelength is:

$$P_{abs,\lambda}(V) = \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{W_{\lambda}(L)/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\epsilon_{\lambda}C_A \frac{z}{\sin\beta}\right) \epsilon_{\lambda}C_A \frac{dz}{\sin\beta} dy_L dx dy dz \quad (16)$$

This equation has to be calculated by numerical methods.

The total absorbed spectral radiant power is the sum of  $P_{abs,\lambda}$  for all the wavelength values for which both emission from the lamp and solution absorption exist

$$P_{abs}(V) = \sum_{\lambda} P_{abs,\lambda}(V) \quad (17)$$

Dividing by the volume, the total absorbed spectral radiant power per volume unit is obtained:

$$P_{abs} = \frac{P_{abs}(V)}{V} \quad (18)$$

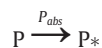
It is important to clarify that the value of  $P_{\lambda}(z)$  (Eq. (10)) for  $z = 0$  is the incident radiation dose at the surface of the reactor. Some authors consider this value in their studies of photo-degradation. In this case, this equation has been used for evaluating the total radiation absorbed by the whole reaction (Eq. (16)). Although the total radiation absorbed by the solution depends on the incident radiation dose at the surface of the reactor, only a fraction of the incident radiation dose is absorbed. In fact, the incident radiation dose at the surface could even not be absorbed at all.

### 2.2. PAT photodegradation kinetics

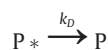
In 2012, Assatarakul et al. studied the degradation of PAT in reconstituted apple juice and cider to model this type of degradation, and assayed zero-order and first-order kinetic models to describe the variation of PAT content with the applied radiation dose. The present work intends to obtain a kinetic model describing the variation of PAT with the irradiation time. A mechanism of degradation in three stages is proposed. In the first, the PAT molecule absorbs energy from a ground state (P) into an excited one (P\*). The excited molecule can decline to its

fundamental state or degrade to form photoproducts. Thus, this mechanism can be expressed as:

Stage 1:



Stage 2:



Stage 3:



where  $P_{abs}$  is the total spectral radiant power absorbed by the PAT solution per volume unit. Their units have to be Einsteins (mol of photons) per volume unit and per time unit, and can be calculated according to the previous irradiation model section.

Assuming a pseudo steady state for the excited intermediate  $P^*$ , the intensive reaction rate can be expressed as:

$$r_p = K_p P_{abs} \quad (19)$$

where  $r_p$  is the intensive reaction rate for PAT, being the variation of quantity of PAT per time and volume unit, and  $K_p$  is a dimensionless constant that depends on  $k_D$  and  $k$ , so that:

$$K_p = \frac{k}{k + k_D} \quad (20)$$

According to the mechanism proposed, the  $K_p$  constant represents the quantum yield of the overall photodegradation as degraded moles per absorbed photon moles (Einstein).

The irradiation processes were performed in a perfectly stirred reactor of volume  $V$ , working on batch process. If a mass balance for PAT is combined with the reaction rate ( $r_p$ ), the next equation is obtained:

$$\frac{dC_p}{dt} = -K_p P_{abs} \quad (21)$$

It is necessary to know the relation between  $P_{abs}$  and the PAT concentration ( $C_p$ ). For low values of concentration, they usually have a linear relationship like:

$$P_{Abs} = k_R C_p \quad (22)$$

where  $k_R$  is the constant of proportionality.

The linear relationship is probably due to the fact that throughout the process of irradiation the PAT concentration decreases and, as a consequence, so does the flow of radiation absorbed by the PAT.

Integrating Eq. (21), the dependence between the PAT concentration and time is obtained:

$$C_p = C_p^0 \exp(-m_p t) \quad (23)$$

where:

$$m_p = K_p k_R \quad (24)$$

In conclusion, from the proposed kinetic model, it is shown that the PAT photodegradation data can be fitted to a first-order kinetic model, with a global constant photodegradation  $m_p$ .

### 2.3. Preparation of samples

Aqueous solutions of PAT were prepared at a concentration of 500  $\mu\text{g/L}$  at pH 4 and 7. The pH of each solution was obtained by the buffer phosphate/citric acid (Mcllvaine, Germany). From the 70 °Brix clarified and concentrated juice, a 10 °Brix juice was prepared by dilution with distilled water. The content of PAT from this juice was determined; showing that the juice was free of PAT. Then PAT (Sigma, Germany) was added to the juice in order to obtain samples with an initial mycotoxin concentration of 500  $\mu\text{g/L}$ .

### 2.4. Irradiation of samples

The irradiation of samples was performed in an installation consisting of a black chamber containing the reactor and the lamp. Eight hundred mL of the samples was placed in the  $22 \times 15 \times 10$  cm reactor made of methacrylate, so that the surface of the sample was 22.5 cm from the lamp and the solution height was 2.4 cm. The reactor was mixed using a magnetic stirrer. In order to maintain a constant temperature in the sample contained in the reactor, a refrigerant coil was used. This allowed the working temperatures (8, 25, 45, and 65 °C) to be set with a variation of  $\pm 1$  °C. The lamp used was a mid-pressure 400 W nominal power mercury Philips HPM 12 (Philips, The Netherlands) emitting on the 250–700 nm wavelength range. In order to maintain a constant lamp UV emission, it was turned on 10 min before placing the samples to be radiated. Aqueous solutions of PAT were irradiated for 90 min, while those of juice were irradiated for 180 min. At certain intervals, 2 mL-aliquots were taken in order to analyse the PAT content.

### 2.5. Actinometry

Actinometry was carried out to establish the real power of the lamp, using the photochemical decomposition of oxalic acid in the presence of uranyl cation (Falguera, Esplugas, Vicente, & Ibarz, 2011).

### 2.6. Determination of PAT by HPLC chromatography

The PAT content in the different samples tested was determined using a 1260 Infinity HPLC chromatograph (Agilent Technologies, Germany) according to the method described by Arranz et al. (2005). The analytical column used was a ZORBAX Eclipse Plus C18 4.6  $\times$  100 mm, 3.5  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies, Germany). The detector was a DAD (Agilent Technologies, Germany) at 276 nm. The solvents used were milliQ water and acetonitrile (Sigma, Germany), with a water/acetonitrile ratio of 99/1 as the mobile phase. The column worked in the reverse phase and with a flow of 1 mL/min and 1  $\mu\text{L}$  of aqueous solution of PAT was injected into it. This solution was filtered prior to injection with a 0.45  $\mu\text{m}$  filter Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Germany).

In the case of apple juice samples, the PAT had to be extracted from the samples of juice prior to injection (Li, Wu, Hu, & Wang, 2007). AFFINIMIP (Polyintell, France) cartridges were used in the extraction of PAT following the methodology described by the manufacturer. The cartridge was activated with 2 mL of Acetonitrile, followed by 1 mL of distilled water. Then, 8 mL of clarified juice were eluted. In order to wash out the possible interferences, the cartridge was washed with 4 mL of acetic acid 1% and 4 mL of water. All the water had to be eliminated before washing the cartridge with 0.5 mL of diethyl ether. Then, the adsorbed PAT was dissolved by eluting 2 mL of ethyl acetate, which was collected in a conical bottom tube where a drop or pure acetic acid was previously added to prevent degradation of the patulin. The solution was then dried with a nitrogen stream. Finally, it was dissolved with 0.5 mL of 0.1% acetic acid aqueous solution and a 1- $\mu\text{L}$  aliquot of this final solution was injected into the chromatograph to quantify the PAT content.

## 2.7. Statistical analysis

The experimental results obtained in this study were fitted to different kinetic and mathematical models using the Statgraphics (STSC Inc. Rockville, Md, USA, Plus 5.1 version) statistic data processing software. The fit and the estimates were calculated at a 95% significant level.

Both the UV radiation treatments and the sample analysis were carried out in duplicate.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Actinometry

The Actinometric evaluation concluded that the lamp emitted a real power of  $1.38 \cdot 10^{-3}$  Einstein/s.

### 3.2. Calculation of $k_R$

Fig. 2-a shows the absorption spectrum of an aqueous solution of PAT where it can be seen that this compound has an absorption band between 200 and 320 nm. If the emission spectrum of the lamp used in the present study is observed (Fig. 2-b), this presents several bands between 260 and 350 nm which match the absorption range of PAT. Therefore, it is expected that the energy emitted by the lamp in this wavelength range will be absorbed by the PAT and that is why it may cause the photochemical degradation of this compound. From Fig. 2-a, it is possible to obtain the values of the molar extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) for different wavelengths (Table 1). From these coefficients and the PAT concentration used, it can be concluded that there are no problems for the radiation to penetrate the reactant solution (Falguera et al., 2011).

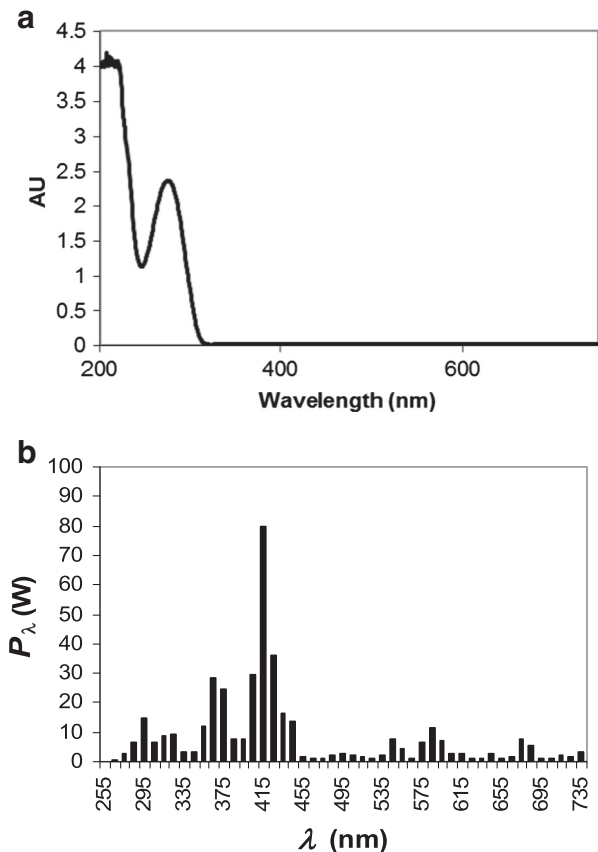


Fig. 2. (a) Absorption spectrum of an aqueous solution of PAT from 25 mg/L. (b) Emission spectrum of the HPM 12 lamp.

Table 1

Molar extinction coefficients of PAT at different wavelengths.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )
255	20,402
260	25,090
265	29,479
270	32,631
275	33,630
280	32,859
285	29,725
290	24,439
295	17,495
300	11,558
305	5649
310	1964
315	543
320	212
325	376
330	360
335	346
340	341
345	341
350	341
355	339

By means of a spreadsheet, the value of the absorbed radiation for each concentration of PAT and wavelength was calculated using the Simpson integration method to solve Eq. (16). With this same sheet,

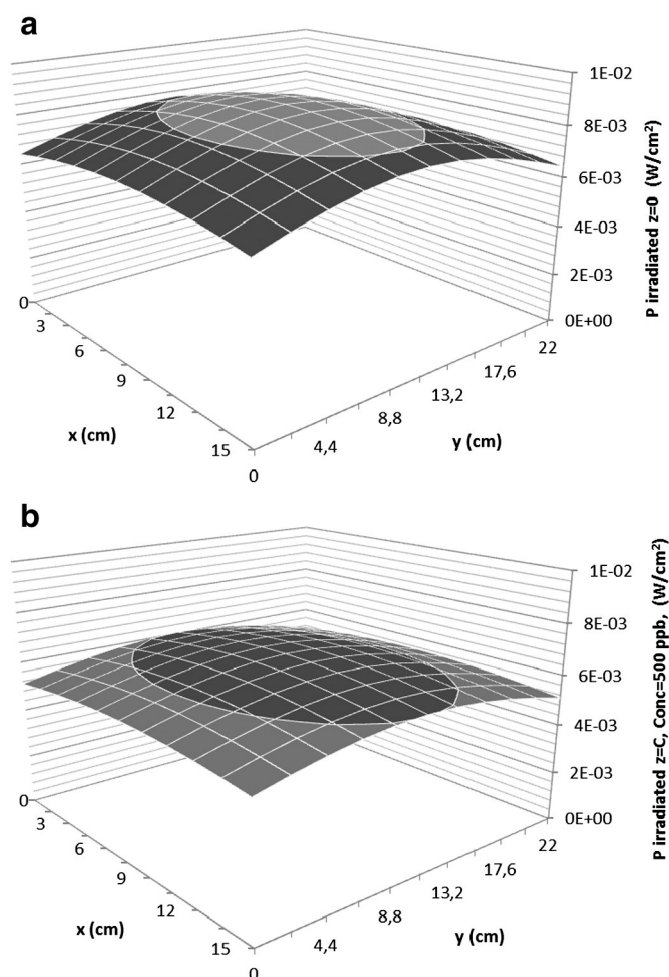


Fig. 3. Power irradiation energy on the surface (a) and bottom (b) of the photoreactor. Panel (b) was obtained for the 500- $\mu$ g/L PAT solution.

both the incident radiation dose reaching the surface of the reactor ( $P_{\lambda}(0)$ ) and its bottom ( $P_{\lambda}(C)$ ) were obtained, depending on the other coordinates (Fig. 3). It can be seen that less energy reaches the bottom than the surface; however, it is enough to cause degradation of the photosensitive components. Integrating Eq. (10), a value of  $7.75 \cdot 10^{-3} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$  was obtained at the surface of the reactor, while for the bottom this value depended on the concentration of the PAT solution. For a concentration of  $500 \mu\text{g/L}$ , this value at the reactor bottom was  $6.02 \cdot 10^{-3} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ , which represented 77.7% of the radiation at the surface.

The total energy absorbed by a  $500 \mu\text{g/L}$  aqueous PAT solution, in the entire reaction volume for all wavelengths is  $0.157 \text{ W}$  ( $4.75 \cdot 10^{-4} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ ). The emission spectrum of the lamp includes a wavelength of  $255 \text{ nm}$ , widely known for its germicidal effect. For this wavelength and the entire reaction volume, the absorbed energy is  $3.55 \cdot 10^{-6} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$  and the incident irradiation dose at the surface of the reactor is  $2.53 \cdot 10^{-5} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ . As Guerrero-Beltrán and Barbosa-Cánovas (2004) indicated, different radiation doses are required at this wavelength depending on the type of microorganism to be eliminated. Thus, for the case of vegetative bacteria, the one that requires the smallest dose of radiation is *Bacillus megatherium* with  $2.5 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ , while *Sarcina lutea* requires the highest dose,  $26.4 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ . With the lamp used in the present work, with irradiation times between 1.6 and 17.4 min, all these vegetative bacteria would have been inactivated. In the case of sporulated bacteria, the inactivation doses are within the range of 22.0 up to  $46.2 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ , these belonging to *Bacillus subtilis* and *Bacillus anthracis* respectively, which means that the needed irradiation times are between 14.5 and 30.4 min. For yeasts, the minimum and maximum doses are those of *Brewer's Yeast* and *Saccharomyces sp.* ( $11.6$  and  $17.6 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ , respectively), corresponding to required irradiation times of between 7.6 and 11.6 min.

From the obtained values of  $P_{abs}$ , the proportionality constant ( $k_R$ ) can be calculated using Eq. (22). Fig. 4 shows the relation between  $P_{abs}$  and PAT concentration ( $C_P$ ) in the range of 0.5 up to  $500 \mu\text{g/L}$  including the linear fit from which a value of  $0.150 \text{ Einstein}/(\text{mol} \cdot \text{s})$  as  $k_R$  ( $R^2 = 0.9994$ ) was obtained.

### 3.3. Photolysis of PAT in aqueous solution

The evolution of the PAT content from aqueous solutions over irradiation time, with an initial content of  $500 \mu\text{g/L}$  PAT, is shown in Fig. 5. It can be seen that for the same working temperature, PAT degraded more easily at  $\text{pH} = 4$  than at  $\text{pH} = 7$ . It can also be observed that for a given pH, the more the temperature increased, the more easily the

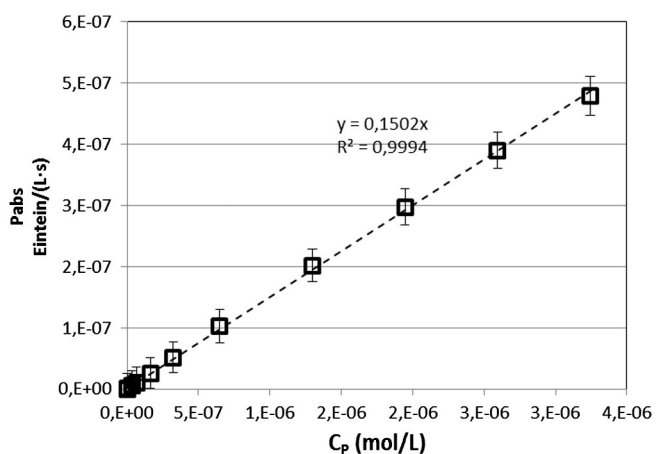


Fig. 4. Influence of PAT concentration ( $C_P$ ) in  $P_{abs}$ . Determination of proportionality constant  $k_R$ .

PAT was degraded. For solutions of  $\text{pH} = 7$  and temperatures of 8 and  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , after a 90-minute irradiation time, the PAT content was approximately 6% of the initial value. This treatment represents a  $137 \text{ mJ} \cdot \text{m}^{-2}$  equivalent incident dose at the surface in the wavelength of  $255 \text{ nm}$ , which is in the area the low-pressure germicidal lamps emit. For higher treatment temperatures, total PAT removal was obtained within 75 and 85 min at temperatures of 65 and  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectively, equivalent to doses of 114 and  $129 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ , in the germicide area. Irradiating  $\text{pH} = 4$  solutions gave a total degradation of PAT for all assayed temperatures with treatment times between 70 and 40 min at temperatures ranging from 8 to  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ . These processing times are much higher than those needed to inactivate yeasts and bacteria, both vegetative and sporulated. Therefore, while the process degrades PAT, any microorganism present in the solution would also be inactivated, as also was obtained by Tikekar et al. (2013).

Fig. 5 shows that PAT degradation curves follow an exponential decrease. In order to assess the overall kinetic constants of the photodegradation of PAT, the experimental data shown in Fig. 5 were fitted to Eq. (23). In this figure the error bars have been omitted to facilitate interpretation. The data obtained in these fittings are shown in Table 2, emphasizing that the coefficients of determination ( $R^2$ ) show values between 0.9894 and 0.9975, which is an indication of the reliability of the model. It can be observed that the overall kinetic constant values increased with the treatment temperature, so the higher the temperature the more photodegradation was produced, which coincides with what is observed in Fig. 5. It was also observed that the values of the global constants were higher at  $\text{pH} = 4$ , thus indicating that the photodegradation was higher at this pH than at  $\text{pH} = 7$ , and also corroborating the one observed in Fig. 5.

From the values of the photodegradation constant ( $m_p$ ) and the value of the  $k_R$  constant, the value of the constant  $K_p$  can be obtained through Eq. (24). In Table 2, the values of this constant for the irradiated solutions at two different pH and tested at different temperatures are shown. As expected, this value followed the same trend as the constant  $m_p$ , i.e., for a given pH its value increased with increasing temperature, while at the same temperature its value was higher at a more acidic pH. As the  $K_p$  value represents the quantum yield of the overall photodegradation reaction, it can be concluded that the higher the working temperature and the more acid the reaction medium is, the more efficient the absorption of radiation is.

Furthermore, with the value of  $K_p$  and using Eq. (20), the ratio  $k_D/k$  can be calculated. The values of this ratio are also shown in Table 2, where it can be observed that the values were greater than 1, meaning that in the assumed reaction mechanism the declining step was greater than the product formation. However, an increase in temperature made the  $k_D/k$  ratio decrease, so that the photoproduct formation step became more important than the inactivation of the excited PAT.

### 3.4. Extraction of PAT from apple juice

The extraction process was checked by adding  $500 \mu\text{g/L}$  of PAT to three PAT-free clarified 12 °Brix apple juice samples. After the extraction process, the concentration obtained was always higher than  $496 \mu\text{g/L}$ .

### 3.5. Photolysis of PAT in apple juice

Samples of PAT-free clarified 12 °Brix apple juice, obtained with juice concentrated by dilution with water were added  $500 \mu\text{g/L}$  of PAT and then irradiated for 180 min. Fig. 6 shows the variation of the content of PAT of juice with the irradiation time at the same experimental temperatures as the aqueous solution. This figure shows that as the temperature increased, a greater reduction of PAT in the juice content was achieved. If it is compared with the results obtained with the degradation of the PAT in the aqueous solution (Fig. 5), it can be observed that there was a lesser degree of photo-degradation. Thus, for the

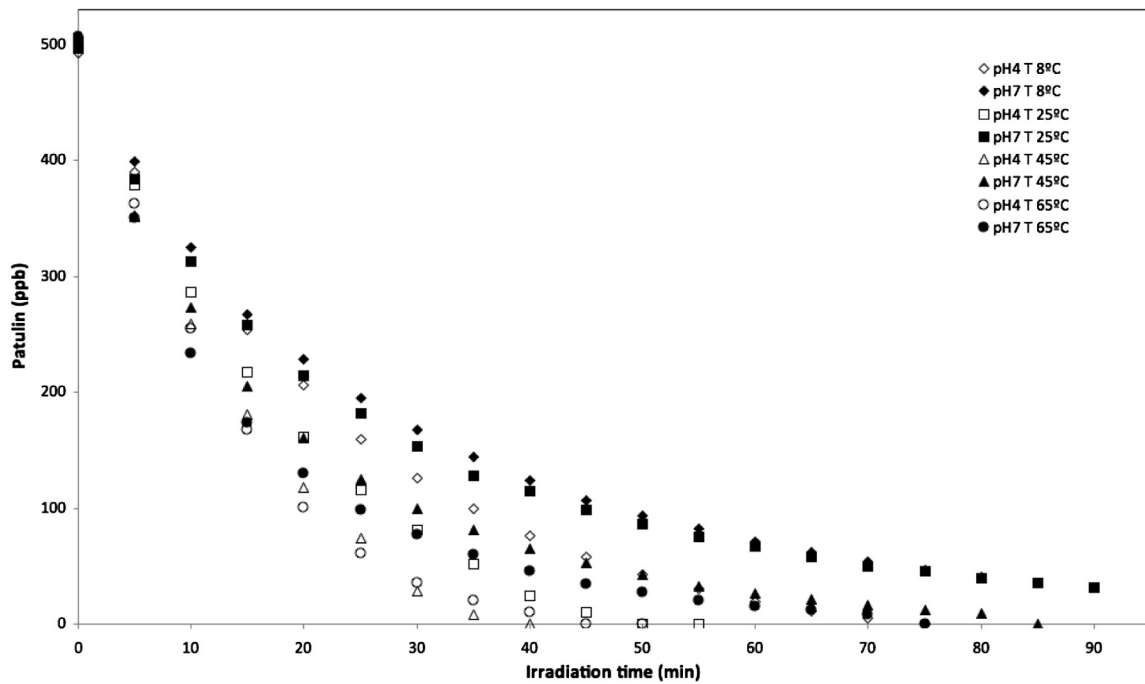


Fig. 5. Evolution of the PAT content with irradiation time for aqueous solutions at pH = 4 and pH = 7, at different temperatures.

temperature of 65 °C and 60 min of irradiation, the PAT disappeared from the aqueous solution of pH = 4. However, in the apple juice, for this same time, there was still 27.5% of the initial content of PAT. In addition, in the case of irradiation of the PAT in the aqueous solution, within 90 min of irradiation, the PAT disappeared from all samples, with the exception of the sample of pH = 7 and 8 °C. On the other hand, for apple juice, higher irradiation times were necessary. Even for 180 min of irradiation, samples at 8 °C still contained 19.5% of initial the PAT, and only the irradiated sample at 65 °C showed a final negligible content of PAT.

In the same way as in the case of the photodegradation of PAT in the aqueous solution, the variation of the PAT content in the apple juice with the irradiation time showed an exponential decrease. In order to obtain the overall kinetic constants of degradation, the experimental data shown in Fig. 6 were fitted to Eq. (23). Table 3 shows the data obtained in these fittings, where the coefficients of determination ( $R^2$ ) show values between 0.9547 and 0.9945. It was observed that the values of the overall kinetic constants increased with the rise in the experimental temperature. If the data shown in Tables 2 and 3 are compared, it is observed that the values of the overall kinetic constants of photodegradation were much lower in samples of juice, which corroborates what was observed in Figs. 5 and 6, described above.

Table 2

Parameters from the first-order kinetic fittings for the PAT photo-degradation in aqueous solution at pH = 4 and pH = 7, at different temperatures.

pH	T (°C)	Intercept (µg/L)	$m_p \cdot 10^4$ ( $s^{-1}$ )	$K_p \cdot 10^3$ (mol/Einstein)	$k_D/k$	$R^2$
4.0	8	497 ± 6	7.83 ± 0.17	5.25 ± 0.03	189 ± 5	0.9975
4.0	25	513 ± 13	10.2 ± 0.3	6.84 ± 0.05	145 ± 3	0.9925
4.0	45	509 ± 17	12.5 ± 0.7	8.38 ± 0.09	118 ± 2	0.9894
4.0	65	516 ± 13	13.2 ± 0.5	8.85 ± 0.09	112 ± 2	0.9935
7.0	8	475 ± 8	5.67 ± 0.16	3.80 ± 0.03	262 ± 5	0.9931
7.0	25	467 ± 10	6.00 ± 0.17	4.02 ± 0.03	247 ± 5	0.9901
7.0	45	478 ± 7	8.83 ± 0.17	5.92 ± 0.05	168 ± 4	0.9961
7.0	65	493 ± 9	11.0 ± 0.3	7.38 ± 0.05	134 ± 2	0.9952

The lowest values of the global constants of photodegradation of PAT in apple juice can be attributed to the fact that the juices contain pigments that absorb part of the incident radiation, producing a photoprotector effect.

#### 4. Conclusions

PAT absorbs radiation between 255 and 355 nm, so a multi-wave emitting lamp can be used with the dual purpose of reducing the microbial burden at 255 nm and PAT at all the wavelengths from 255 to 355 nm. According to the calculated values of the incident radiation dose at the surface of the reactor for the germicide wavelength of 255 nm, the time needed to reach the germicide radiation dosage is lower than the time needed for photo-degradation of the PAT, so that, as a collateral effect, any microorganism present in the solution would be inactivated.

The degradation of PAT by multi-wavelength UV irradiation follows first-order kinetics. The radiation absorbed by the aqueous solution of PAT follows a linear dependence on the PAT concentration. The pH of

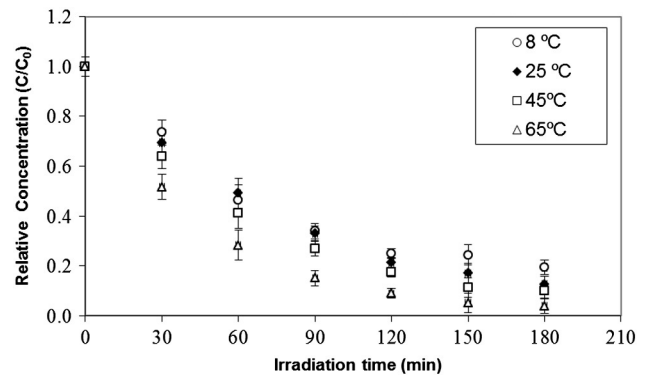


Fig. 6. Evolution of the PAT content in apple juice, with the irradiation time at different temperatures.



**Table 3**

Parameters from the first-order kinetic fittings for the PAT photo-degradation in apple juice, at different temperatures.

T (°C)	Intercept (–)	$m_p \cdot 10^4$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
8	0.894 ± 0.014	1.5 ± 0.3	0.9547
25	0.975 ± 0.009	1.95 ± 0.05	0.9945
45	0.940 ± 0.012	2.23 ± 0.18	0.9892
65	0.894 ± 0.013	3.10 ± 0.16	0.9919

the aqueous solutions influenced the extent of the photo-degradation of PAT. Greater degradation was observed at pH 4 than at pH 7. PAT is also degraded in apple juice, although at a lower rate than in the case of aqueous solutions. This rate reduction is probably due to the fact that some juice components absorb radiation and, as a consequence, exert a photoprotection effect, reducing the energy absorbed by PAT.

#### Nomenclature

$A(\lambda)$	Absorbance of the solution at $\lambda$ wavelength
$A_{10}(\lambda)$	10-base logarithm
$A_e(\lambda)$	e-base logarithm
$A$	reactor dimension on the $x$ axis
$B$	reactor dimension on the $y$ axis
$C$	reactor dimension on the $z$ axis
$C_A$	concentration of the absorber substance present in the solution
$C_P$	PAT concentration
$C_P^0$	initial PAT concentration
$D$	radius of the sphere defined by both the emitting lamp point as the sphere's centre and the considered solution point
$D_O$	radius of the sphere defined by the considered emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection in the reactor's surface of the beam in his way from the lamp to the considered point ( $x,y,z$ )
$D_S$	path length of light through the solution
$d_S$	infinitesimal path between ( $x,y,z$ ) and ( $x',y',z'$ )
$k_D$	kinetic constant for the declining step
$K$	kinetic constant for the photoproduct formation step
$K_P$	kinetic constant for the global photodegradation reaction
$k_R$	constant of proportionality between $P_{abs}$ and $C_P$
$L$	lamp length
$m_p$	constant of the exponential evolution of $C_P$
$P$	PAT molecule
$P^*$	excited PAT molecule
$P_\lambda^0$	emitted spectral radiant power at $\lambda$ wavelength from a specific point in the lamp
$P_\lambda$	spectral radiant power at $\lambda$ wavelength transmitted by the solution
$P_\lambda(x,y,z)$	spectral radiant power at $\lambda$ wavelength reaching the specific point ( $x,y,z$ ) in the solution from a specific point in the lamp
$P_\lambda(S)$	incident spectral radiant power at $\lambda$ wavelength at the reactor's surface from the specific point considered in the emitting lamp
$P_\lambda(z)$	Incident spectral radiant power for a specific depth of the reactor and the whole surface
$P_\lambda(0)$	incident irradiation dose at the surface of the reactor
$P_\lambda(C)$	incident irradiation dose at the bottom of the reactor
$P_{abs,\lambda}(V)$	spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp at $\lambda$ wavelength
$P_{abs}(V)$	spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp at all the wavelength values
$P_{abs}$	total spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp per volume unit
$r_P$	reaction rate for PAT degradation

$V$	reaction volume
$W_\lambda(L)$	total energy emitted by the whole lamp at $\lambda$ wavelength
$x$	position on the $x$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$x'$	position on the $x$ axis for the point located at an infinitesimal distance from ( $x,y,z$ )
$x_0$	lamp position on the $x$ axis
$y$	position on the $y$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$y'$	position on the $y$ axis for the point located at an infinitesimal distance from ( $x,y,z$ )
$y_0$	lamp's starting point position on the $y$ axis
$y_L$	coordinate that defines each specific point of the lamp
$z$	position on the $z$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$z'$	position on the $z$ axis for the point located at an infinitesimal distance from ( $x,y,z$ )
$z_0$	lamp position on the $z$ axis
$\beta$	angle defined by both the emitting point in the lamp and the solution point receiving the radiation
$\epsilon_\lambda$	molar extinction coefficient at $\lambda$ wavelength

#### Acknowledgements

The authors kindly thank the *Ministerio de Ciencia e Innovación* of the Spanish Government for the funding received in the project CTQ2011-26569.

#### References

- Acar, J., Gokmen, V., & Taydas, E. E. (1998). The effects of processing technology on the patulin content of juice during commercial apple juice concentrate production. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A Food Research and Technology*, 207(4), 328–331.
- Arranz, I., Derbyshire, M., Kroeger, K., Mischke, C., Stroda, J. y, & Anklam, E. (2005). Liquid chromatographic method for quantitation of patulin at 10 ng/mL in apple-based products intended for infants: Interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 88, 518–525.
- Assatarakul, K., Churey, J. J., Manns, D. C., & Worobo, R. W. (2012). Patulin reduction in apple juice from concentrate by UV radiation and comparison of kinetic degradation models between apple juice and apple cider. *Journal of Food Protection*, 75(4), 717–724.
- Bosco, F., & Mollea, C. (2012). Mycotoxins in food. In Benjamin Valdez (Ed.), *Food Industrial Processes – Methods and Equipment*. InTech978-953-307-905-9, <http://dx.doi.org/10.5772/33061> (Available from: <http://www.intechopen.com/books/food-industrial-processes-methods-and-equipment/mycotoxins-in-food>).
- Brackett, R. E., & Marth, E. H. (1979). Ascorbic acid and ascorbate cause disappearance of patulin from buffer solutions and apple juice. *Journal of Food Protection*, 42, 864–866.
- Bruna, D., Voldrich, M., Marek, M., & Kamarad, J. (1999). Effect of processing and storage conditions on patulin content in apple juice concentrate. *Czech Journal of Food Science*, 17(4), 127–132.
- Burroughs, L. F. (1977). Stability of patulin to sulfur dioxide and to yeast fermentation. *Journal – Association of Official Analytical Chemists*, 60, 100–103.
- Codex Alimentarius Commission (2003). Code of practice for the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages. *CAC/RCP*, 50, 1–6.
- Dong, Q., Manns, D. C., Feng, G., Yue, T., Churey, J. J., & Worobo, R. W. (2010). Reduction of patulin in apple cider by UV radiation. *Journal of Food Protection*, 73(1), 69–74.
- European Commission (2003). Commission Regulation (EC) No. 1425/2003 of 11 August 2003 amending Regulation (EC) No. 466/2001 as regards patulin. *Official Journal of the European Union of 12 August 2003*, L 230. (pp. 1–3).
- Falguera, V., Espugás, S., Vicente, M., & Ibarz, A. (2011a). Modeling of absorbed radiation profiles in a system composed by a plane photoreactor and a single lamp. *Food Research International*, 44, 3111–3114.
- Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011b). Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. *Food Research International*, 44, 1580–1588.
- FAO-Food and Agriculture organization of the United Nations (2003). Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. *FAO Food and Nutrition Paper*, 73, 1–124.
- FDA-U.S. Food and Drug Administration (2004). *Apple juice, apple juice concentrates, and apple juice products—Adulteration with patulin*. Compliance policy guidance for FDA staff (Sec. 510.150. Available at: [http://www.fda.gov/ora/compliance\\_ref/cpg/cpgfod/cpg510-150.htm](http://www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpg/cpgfod/cpg510-150.htm)).

- Funes, G. J., Gómez, P. L., Resnik, S. L., & Alzamora, S. M. (2013). Application of pulsed light to patulin reduction in Mcllvaine buffer and apple products. *Food Control*, 30(2), 405–410.
- Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Review: Advantages and limitations on processing foods by UV. *Food Science and Technology International*, 10(3), 137–147.
- Hopkins, J. (1993). The toxicological hazards of patulin. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 455–456.
- Huebner, H. J., Mayura, K., Pallaroni, L., Ake, C. L., Lemke, S. L., Herrera, P., et al. (2000). Development and characterization of a carbon-based composite material for reducing patulin levels in apple juice. *Journal of Food Protection*, 63, 106–110.
- Kadalkal, C., & Nas, S. (2002). Effect of activated charcoal on patulin, fumaric acid and some other properties of apple juice. *Nahrung*, 46, 31–33.
- Lennox, J. E., & McElroy, L. J. (1984). Inhibition of growth and patulin synthesis in *Penicillium expansum* by potassium sorbate and sodium propionate in culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 48, 1031–1033.
- Li, J., Wu, R., Hu, Q., & Wang, J. (2007). Solid-phase extraction and HPLC determination of patulin in apple juice concentrate. *Food Control*, 18(5), 530–534.
- Marín, S., Mateo, E. M., Sanchis, V., Valle-Algarra, F. M., Ramos, A. J., & Jiménez, M. (2011). Patulin contamination in fruit derivatives, including baby food, from the Spanish market. *Food Chemistry*, 124(2), 563–568.
- McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D. R., Rogers, T. D., et al. (1997). Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 35(8), 807–820.
- Moake, M. M., PadillaZakour, O. I., & Worobo, R. W. (2005). Comprehensive review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(1), 8–21.
- Roland, J. O., Beuchat, L. R., Worthington, R. E., & Hitchcock, H. L. (1984). Effects of sorbate, benzoate, sulphur dioxide and temperature on growth and patulin production by *Byssosclamyces* in grape juices. *Journal of Food Protection*, 47, 237–241.
- Salomao, B. C. M., Aragao, G. M. F., Churey, J. J., & Worobo, R. W. (2008). Efficacy of sanitizing treatments against *Penicillium expansum* inoculated on six varieties of apples. *Journal of Food Protection*, 71, 643–647.
- Tikekar, R. V., Anantheswaran, R. C., & LaBorde, L. F. (2013). Patulin degradation in a model apple juice system and in apple juice during ultraviolet processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12047>.
- Wheeler, J. L., Harrison, M.A., & Koehler, P. E. (1987). Presence of patulin in pasteurized apple cider. *Journal of Food Science*, 52, 479–480.
- WHO (1995). World Health Organization, 44th Report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *Technical report series*, vol. 859. (pp. 36).
- Yazici, S., & Velioglu, S. (2002). Effect of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and calcium-D-pantothenate on the patulin content of apple juice concentrate. *Nahrung/Food*, 46, 256–257.
- Zegota, H., Zegota, A., & Bachmann, S. (1988). Effect of irradiation and storage on patulin disappearance and some chemical constituents of apple juice concentrate. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 187(4), 321–324.





# Modelling of UV absorption in a plane photoreactor for solutions with high-patulin concentration



A. Garvín\*, R. Ibarz, A. Ibarz

Food Technology Department, Xarta-UTPV, University of Lleida (Catalonia), Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 12 November 2014

Accepted 20 December 2014

Available online 27 December 2014

### Keywords:

Patulin

UV

Radiation profiles

Absorption

Photoreactor

Photo-degradation

Juice

Apple

### Chemical compounds studied in this article:

patulin (PubChem CID: 4696)

## ABSTRACT

In this paper, the spectral radiant power absorbed by a solution of patulin was calculated as a function of the concentration of the light absorbing substance when it was irradiated with a UV multi-wavelength lamp. Two equations are presented. The first one contains a simplification and, consequently, is only applicable for solutions with low light absorber concentrations. The second equation does not include the simplification, so its calculation is more difficult, but it is applicable in all cases. A comparison between the data obtained with both equations is presented, showing that both models coincide for patulin concentrations below 50 mg/L and diverge substantially for higher concentrations.

Both equations are obtained considering the linear spherical emission model and are calculated using the Simpson integration method. The incident spectral radiant power at the surface and the bottom of the reactor was also calculated.

The data obtained with the non-simplified equation reach an asymptote for high-patulin concentration values that coincides with the incident spectral radiant power at the surface of the reactor, meaning that for high concentration values, all the radiation that reaches the surface of the reactor is absorbed by the whole volume of the solution.

The ratio between the spectral radiant power absorbed and the incident spectral radiant power at the surface was evaluated as a function of the depth of the reactor and the absorbance coefficient, concluding that for a specific absorption coefficient, the absorbed radiation increases asymptotically with the depth of the reactor. The higher the absorption coefficient values, the faster the ratio values increase. The asymptotic value increases if the absorbance coefficient also does because the greater the absorption coefficient, the fewer the beams that exit the solution. For the known values of the absorbance coefficient for fruit juices, it was concluded that almost all the radiation entering the solution is absorbed for depths of much less than 1 mm.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Patulin (PAT) is a mycotoxin produced by fruit decay fungi (Bosco & Molle, 2012) that can be found mainly in apple and apple products (Moake, PadillaZakour, & Worobo, 2005; Sant'Ana, Rosenthal, & de Massaguer, 2008). Marín et al. (2011) showed an average of 47% of positive samples in apple juices and nectars.

As PAT was shown to be mutagenic and to cause neurotoxin, immunotoxic, genotoxic and gastrointestinal effects in rodents (Hopkins, 1993), the maximum tolerance limit in juices was established at 50 µg/L (WHO, 1995; European Commission, 2003; FDA, 2004).

PAT contamination of apple derivatives can be minimised by several ways (Ibarz et al., 2014), but most of these alternative methods cause great changes to the final juice or are unable to eliminate the total PAT content.

Ultraviolet irradiation has been studied for eliminating PAT at the exclusive germicidal wavelength of 254 nm (Dong et al., 2010; Assatarakul, Churey, Manns, & Worobo, 2012; Tikekar, Anantheswaran, & LaBorde, 2013) and at a range of wavelengths (Zhu, Koutchma, Warriner, & Zhou, 2014; Ibarz et al., 2014).

In a previous work, Ibarz et al. (2014) proposed a reaction mechanism for the photo-degradation of patulin consisting of three stages that matched with a first order kinetic model. They also calculated the spectral radiant power absorbed in a plane photoreactor as a function of the concentration of patulin. For this purpose, according to other authors (Esplugas, Ibarz, & Vicente, 1983; Alfano, Vicente, Esplugas, & Cassano, 1990; Rossetti, Albizzati, & Alfano, 2004), an equation was deduced that included the simplification of considering low concentration values of patulin, as was the case.

The main aim of this paper was to deduce an equation for calculating the spectral radiant power absorbed in a plane photoreactor that is applicable for all values of concentration of the light absorbing substance. In order to compare the results obtained with this non-simplified equation with those obtained with the simplified equation that is only

\* Corresponding author at: Food Technology Department, University of Lleida, 25198 Lleida (Catalonia), Spain.

E-mail address: [garvin@tecal.udl.cat](mailto:garvin@tecal.udl.cat) (A. Garvín).

**Nomenclature**

$A(\lambda)$	Absorbance of the solution at $\lambda$ wavelength
$A_{10}(\lambda)$	10-base logarithm
$A_e(\lambda)$	e-base logarithm
$A$	Reactor dimension on the $x$ axis
$B$	Reactor dimension on the $y$ axis
$C$	Reactor dimension on the $z$ axis
$C_A$	Concentration of the absorber substance present in the solution
$C_p$	PAT concentration
$D$	Radius of the sphere defined by both the emitting lamp point as the sphere's centre and the considered solution point.
$D_{i-1}$	Radius of the sphere defined by the considered emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection in the depth $z_{i-1}$ of the beam in his way from the lamp to the considered point $(x,y,z_i)$
$D_0$	Radius of the sphere defined by the considered emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection in the reactor's surface of the beam in his way from the lamp to the considered point $(x,y,z)$
$D_s$	Path length of light through the solution
$d_s$	Infinitesimal path between $(x,y,z)$ and $(x',y',z')$
$dz$	Infinitesimal change in $z$ value along $d_s$
$L$	Lamp length
$P_\lambda^0$	Emitted spectral radiant power at $\lambda$ wavelength from a specific point in the lamp
$P_\lambda$	Spectral radiant power at $\lambda$ wavelength transmitted by the solution
$P_\lambda(x,y,z)$	Spectral radiant power at $\lambda$ wavelength reaching the specific point $(x,y,z)$ in the solution from a specific point in the lamp
$P(x,y,z)$	Total spectral radiant power reaching the specific point $(x,y,z)$ in the solution from a specific point in the lamp for all the wavelength values
$P(z)$	Incident spectral radiant power for a specific depth of the reactor and the whole surface
$P(0)$	Incident spectral radiant power at the surface of the reactor
$P(C)$	Incident spectral radiant power at the bottom of the reactor
$P_{abs}$	Total spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp at all the wavelength values per volume unit
$V$	Reaction volume
$W_\lambda$	Total power emitted by the whole lamp at $\lambda$ wavelength
$x$	Position on the $x$ axis for the point inside the solution where the absorption radiation is considered
$x'$	Position on the $x$ axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x,y,z)$
$x_0$	Lamp position on the $x$ axis
$y$	Position on the $y$ axis for the point inside the solution where the absorption radiation is considered
$y'$	Position on the $y$ axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x,y,z)$
$y_0$	Lamp starting point position on the $y$ axis
$y_L$	Coordinate that defines each specific point of the lamp
$z$	Position on the $z$ axis for the point inside the solution where the absorption radiation is considered
$z'$	Position on the $z$ axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x,y,z)$
$z_0$	Lamp position on the $z$ axis
$z_i$	Position of the layer $i$ on the $z$ axis

$z_{i-1}$	Position of the layer $i-1$ on the $z$ axis
$\beta$	Angle defined by both the emitting point in the lamp and the solution point $(x,y,z)$ receiving the radiation

applicable at low concentrations, the case of patulin previously studied by Ibarz et al. (2014) was used with the same absorption spectrum, the same reactor dimensions and the same emission spectrum corresponding to the same mid-pressure emitting lamp (Philips HPM 12). A secondary objective was to use these equations to elucidate how the UV adsorption depends on both the absorption coefficient and the depth.

**2. Irradiation model**

When a solution is irradiated with an electromagnetic radiation, part of the energy is absorbed. The ability to absorb radiation can be known by defining the absorbance as the logarithm of the ratio between the incident ( $P_\lambda^0$ ) and the transmitted ( $P_\lambda$ ) spectral radiant power at wavelength  $\lambda$ . Taking into account the base of the logarithm, two definitions are possible:

$$A_{10}(\lambda) = \log_{10} \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda}; A_e = \ln \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda} \tag{1}$$

The spectrophotometers usually measure the absorbance as  $A_{10}$ , while the model equations use  $A_e$ . The relation between both terms is  $A_e = A_{10} \cdot \ln 10$ .

Lambert–Beer proposed a linear relation between the absorbance at a fixed wavelength and concentration of the absorber substance

$$A(\lambda) = \varepsilon_\lambda \cdot C_A \cdot D_s = \mu_\lambda \cdot D_s \tag{2}$$

where  $A(\lambda)$  is the absorbance at  $\lambda$  wavelength,  $\varepsilon_\lambda$  the molar absorption coefficient at the same wavelength,  $C_A$  the concentration of the absorber substance,  $D_s$  the path length of light through the solution and  $\mu_\lambda$  the absorption coefficient (which corresponds to the product of  $\varepsilon_\lambda$  and  $C_A$ ).

Considering Lambert–Beer's law, the e-base absorbance, a plane photoreactor with a cylindrical lamp (Fig. 1) and a linear spherical emission model (Falguera, Pagán, Garza, Garvín, & Ibarz, 2011), the next equations (each parameter is shown in Fig. 1 and/or defined in the nomenclature section) are obtained (Ibarz et al., 2014):

1. The spectral radiant power reaching a specific point inside the solution:

$$P(x,y,z) = \sum_{\lambda} P_\lambda(x,y,z) = \sum_{\lambda} \frac{W_\lambda/L}{4\pi D^2} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \exp\left(-\mu_\lambda \frac{z}{\sin\beta}\right) dy_L \tag{3}$$

$$\text{being } D^2 = (x-x_0)^2 + (y-y_L)^2 + (z+z_0)^2 \tag{4}$$

$$\text{and } \sin\beta = \frac{z_0+z}{D} \tag{5}$$

2. The incident spectral radiant power for a specific depth of the reactor is obtained by integrating Eq. (3) for all the  $x$  and  $y$  values for the specific  $z$  value:

$$P(z) = \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} P(x,y,z) dx dy = \sum_{\lambda} \frac{W_\lambda/L}{4\pi} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{e^{-\mu_\lambda \frac{z}{\sin\beta}}}{D^2} dy_L dy dx \tag{6}$$

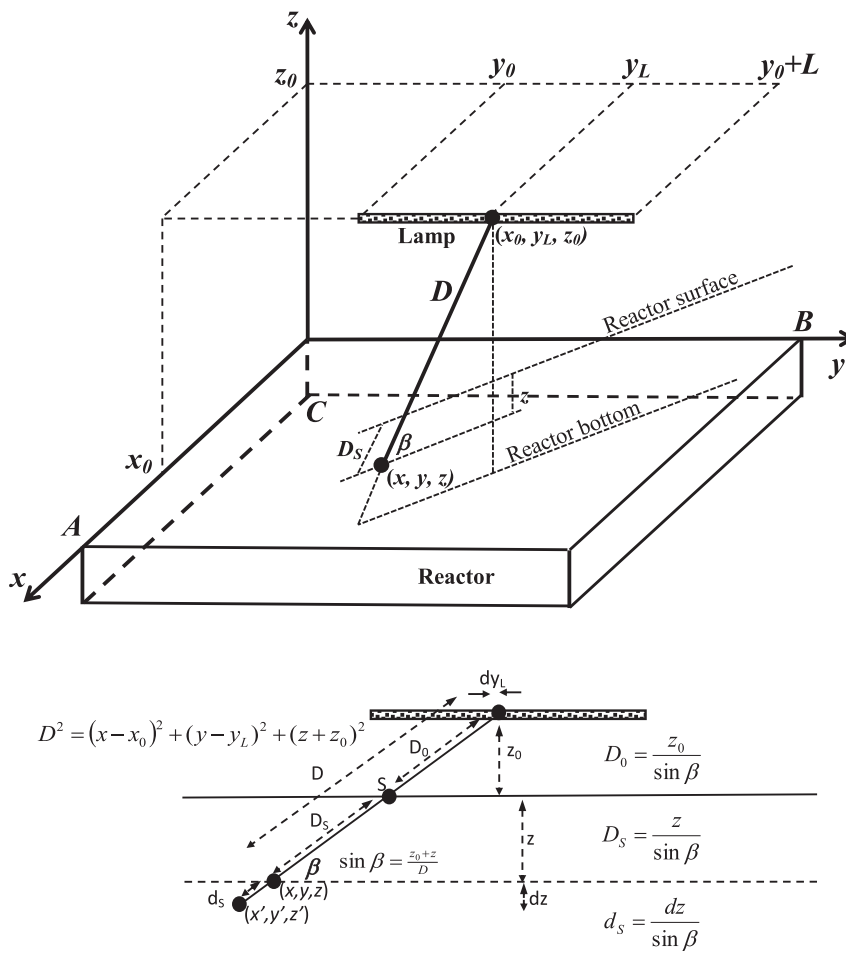


Fig. 1. Scheme of a plane photoreactor.

The values of  $P(z)$  for  $z = 0$  and  $z = C$  are the incident spectral radiant power on the surface and at the bottom of the reactor, respectively. Although the total radiation absorbed by the solution depends on the incident radiation reaching the surface of the reactor, only a fraction of this incident radiation will be absorbed. In fact, the incident radiation on the surface could not even be absorbed.

Considering a point  $(x', y', z')$  at an infinitesimal distance from  $(x, y, z)$ , the spectral radiant power reaching this point after going through this infinitesimal path ( $d_s$ ) is

$$P_\lambda(x', y', z') = P_\lambda(x, y, z) \exp(-\mu_\lambda d_s) \tag{7}$$

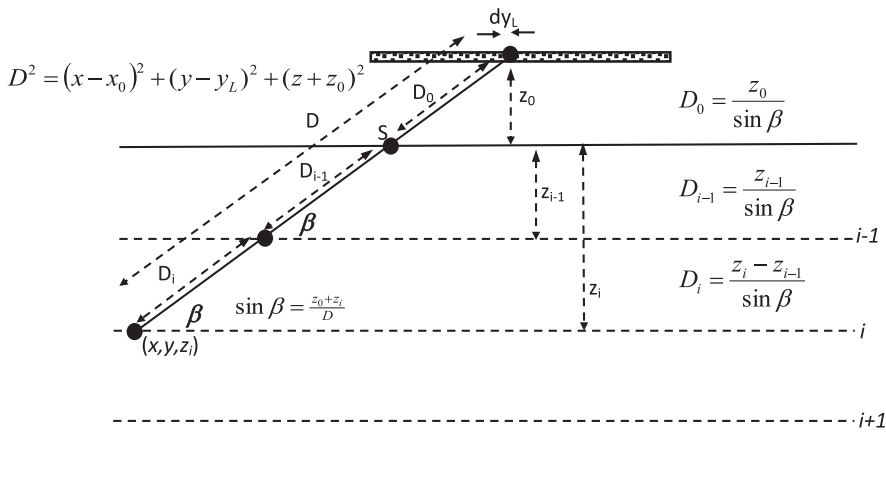


Fig. 2. Scheme of a plane photoreactor divided into layers.

being  $d_s = \frac{dz}{\sin \beta}$  (8)

2.1. Dilute solutions

In the case of diluted solutions, where the values of  $\mu_\lambda$  are low, Eq. (7) can be simplified as

$$P_\lambda(x', y', z') \approx P_\lambda(x, y, z)[1 - \mu_\lambda d_s] \quad (9)$$

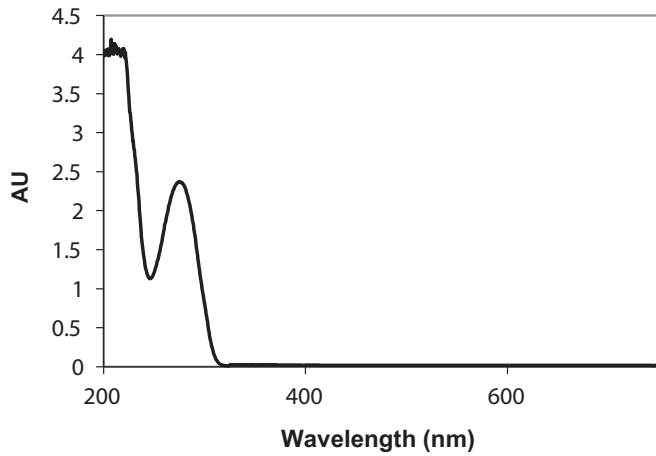
The infinitesimal spectral radiant power absorbed by the solution between the points separated at an infinitesimal distance is

$$dP_{abs,\lambda}(x, y, z) = P_\lambda(x, y, z) - P_\lambda(x', y', z') \approx P_\lambda(x, y, z)(\mu_\lambda d_s) \quad (10)$$

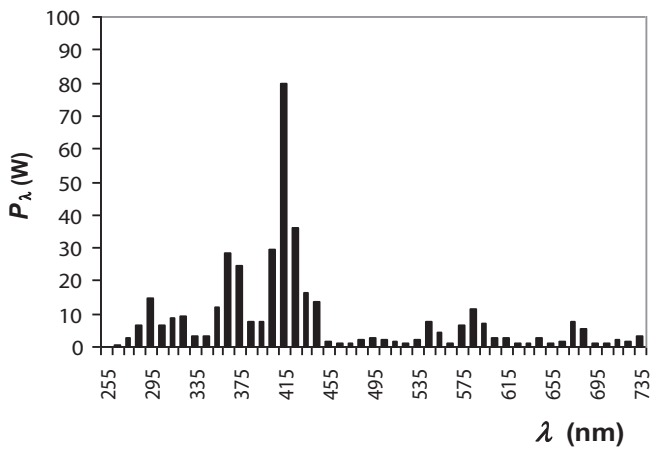
Thus, for low light absorber concentrations, the spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp per volume unit is

$$P_{abs} = \frac{1}{V} \sum_\lambda \int_{x=0}^x \int_{y=0}^y \int_{z=0}^z \int_{y_l=y_0}^{y_l=y_0+l} \frac{W_\lambda/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_\lambda \frac{z}{\sin \beta}\right) \mu_\lambda \frac{dz}{\sin \beta} dy_l dx dy dz \quad (11)$$

and needs to be calculated by numerical methods.



(a)



(b)

Fig. 3. (a) Absorption spectrum of an aqueous solution of patulin from 25 mg/L. (b) Emission spectrum of the HPM 12 Philips lamp.

Table 1

Molar extinction coefficients of PAT and absorption coefficients for PAT concentrations of 50 µg/L and 100 mg/L at different wavelengths.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ (L · mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\mu$ (C = 50 µg/L) cm <sup>-1</sup>	$\mu$ (C = 100 mg/L) cm <sup>-1</sup>
255	20,402.4	0.0066	13.24
265	29,478.7	0.0096	19.13
275	33,630.0	0.0109	21.82
285	29,725.0	0.0096	19.29
295	17,494.6	0.0057	11.35
305	5,648.9	0.0018	3.67
315	543.0	0.0002	0.35
325	376.2	0.0001	0.24
335	346.4	0.0001	0.22
345	340.7	0.0001	0.22
355	339.3	0.0001	0.22

2.2. Any concentration

For any concentration, particularly for high concentration values, it is not possible to use the simplification in Eq. (9), so the infinitesimal spectral radiant power absorbed by the solution between the points separated at an infinitesimal distance remains:

$$dP_{abs,\lambda}(x, y, z) = P_\lambda(x, y, z) - P_\lambda(x', y', z') = P_\lambda(x, y, z)(1 - \exp(-\mu_\lambda d_s)) \quad (12)$$

and the spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp per unit of volume is:

$$P_{abs} = \frac{1}{V} \sum_\lambda \int_{x=0}^x \int_{y=0}^y \int_{z=0}^z \int_{y_l=y_0}^{y_l=y_0+l} \frac{W_\lambda/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_\lambda \frac{z}{\sin \beta}\right) \left(1 - \exp\left(-\mu_\lambda \frac{dz}{\sin \beta}\right)\right) dy_l dx dy dz \quad (13)$$

This equation also needs to be calculated using numerical methods.

In order to calculate  $P_{abs}$ , the reactor was divided into a number of layers (Fig. 2), obtaining the following equations:

$$dP_\lambda(z_{i-1}) = \frac{W_\lambda/L \cdot dy_l}{(D_{i-1} + D_0)^2} \exp(-\mu_\lambda D_{i-1}) \quad (14)$$

$$dP_\lambda(z_i) = \frac{W_\lambda/L dy_l}{4\pi D^2} \exp(-\mu_\lambda (D - D_0)) \quad (15)$$

$$dP_{abs,\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) = \frac{dP_\lambda(z_{i-1}) 4\pi (D_{i-1} + D_0)^2 - dP_\lambda(z_i) 4\pi D^2}{4\pi D^2} \quad (16)$$

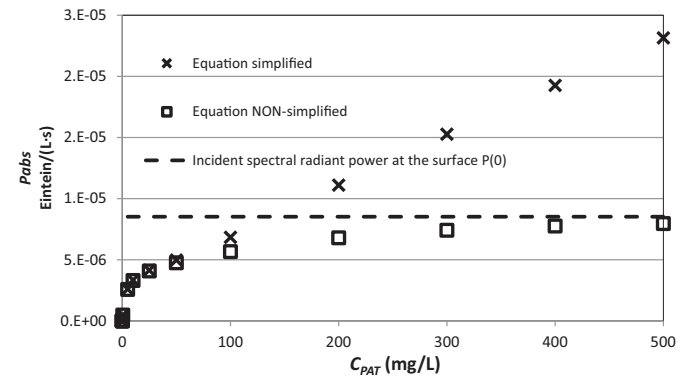


Fig. 4. Spectral radiant power absorbed as a function of concentration of PAT. (a) Simplified equation (Eq. (11)), (b) nonsimplified equation (Eq. (19)).

$$dP_{\text{abs},\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) = \frac{W_{\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L [\exp(-\mu_{\lambda} D_{i-1}) - \exp(-\mu_{\lambda}(D-D_0))] \quad (17)$$

Eqs. (11) and (19) need to be calculated for each concentration value using the Simpson numerical method, as was done in the previous work by Ibarz et al. (2014).

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \sum_{i(z)=1}^{i(z)=n} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} dP_{\text{abs},\lambda}(z_{i-1} \rightarrow z_i) dx dy \quad (18)$$

$$P_{\text{abs}} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \sum_{i(z)=1}^{i(z)=n} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{W_{\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L [e^{-\mu_{\lambda} D_{i-1}} - e^{-\mu_{\lambda}(D-D_0)}] dx dy \quad (19)$$

### 3. Results and discussion

The absorption spectrum (Fig. 3a) of an aqueous solution of PAT shows absorption between 200 and 355 nm. The emission spectrum of the lamp used (Fig. 3b) shows emissions between 255 and 355 nm. Therefore, a fraction of the energy emitted by the lamp in the wavelength range between 255 and 355 nm will be absorbed by the PAT.

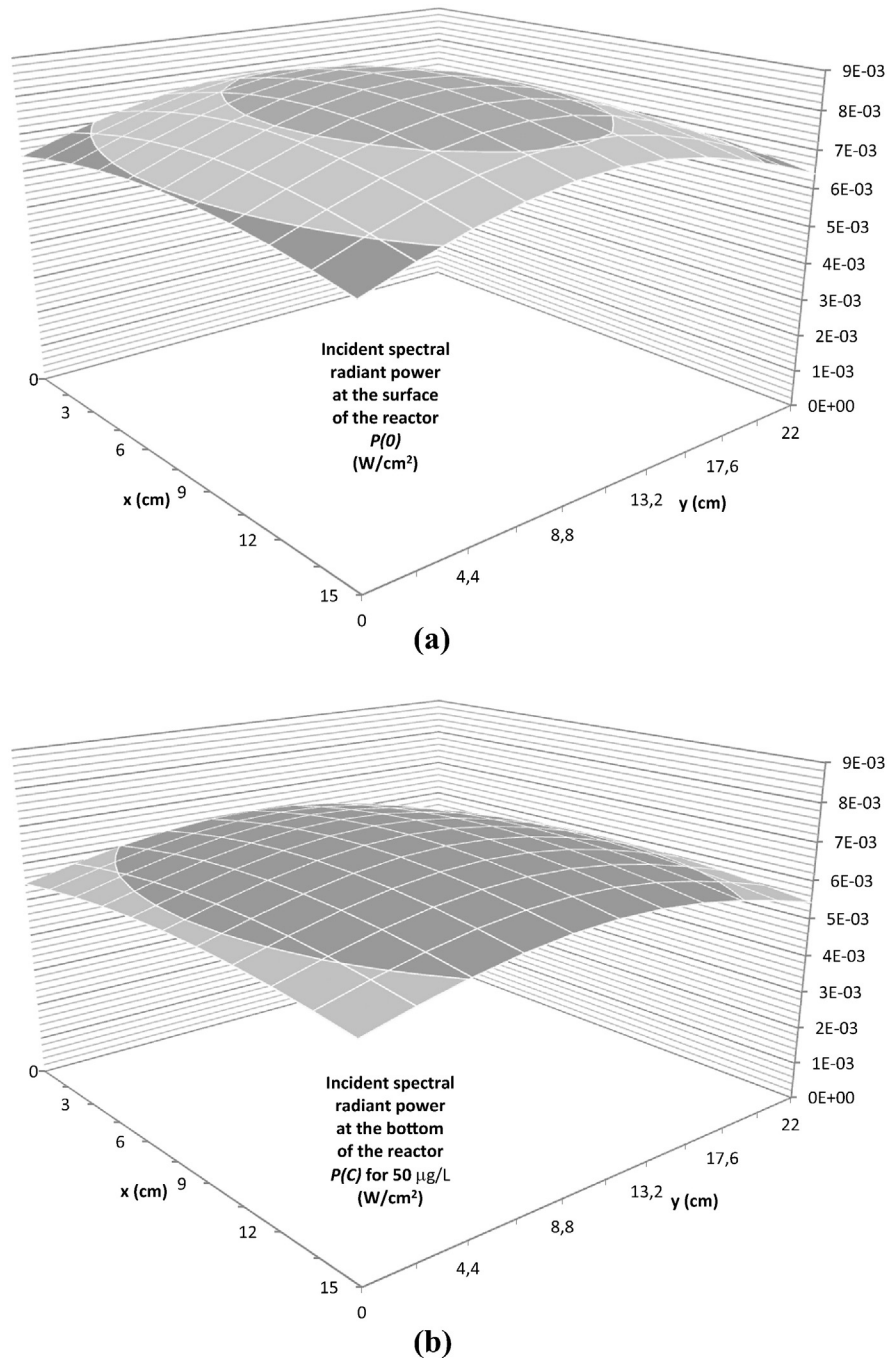


Fig. 5. Incident spectral radiant power. (a) On the surface of the reactor,  $P(0)$ . It does not depend on concentration. (b) At the bottom of the reactor,  $P(C)$  for a 50 µg/L PAT solution. (c) At the bottom of the reactor,  $P(C)$  for a 100 mg/L PAT solution.



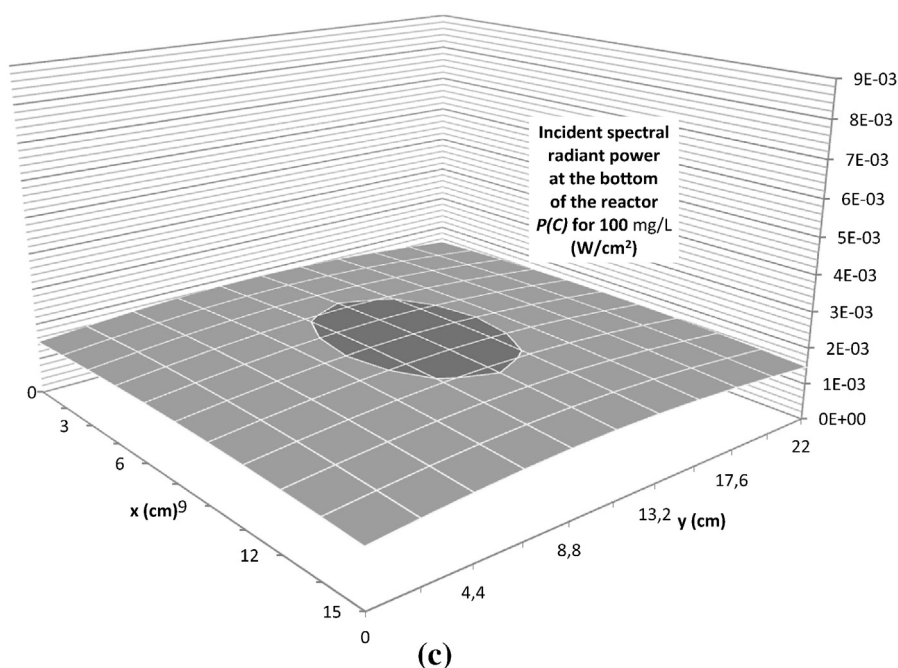


Fig. 5 (continued).

From Fig. 3a, it is possible to obtain the values of the molar extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) for different wavelengths and calculate the absorption coefficient for any concentration. Table 1 shows the molar extinction coefficients and absorption coefficients for solutions of 50  $\mu\text{g/L}$  and 100  $\text{mg/L}$  for wavelengths between 255 and 355 nm.

By means of a spreadsheet, the value of the spectral radiant power absorbed for each concentration of PAT and wavelength was calculated using the Simpson integration method to solve Eqs. (11) and (19). Fig. 4 shows the values calculated using both equations. It can be concluded that the results using the two equations coincide for patulin concentrations lower than 50  $\text{mg/L}$ . For higher concentrations, both equations diverge, so Eq. (11) is not applicable. The results obtained from Eq. (19) show an asymptote for high concentrations, and this asymptote coincides with the incident spectral radiant power at the surface of the reactor. For high concentration values, all the radiation that reaches the reactor is absorbed by the absorber substance, so a further increase in this concentration does not cause any increase in the radiation absorbed.

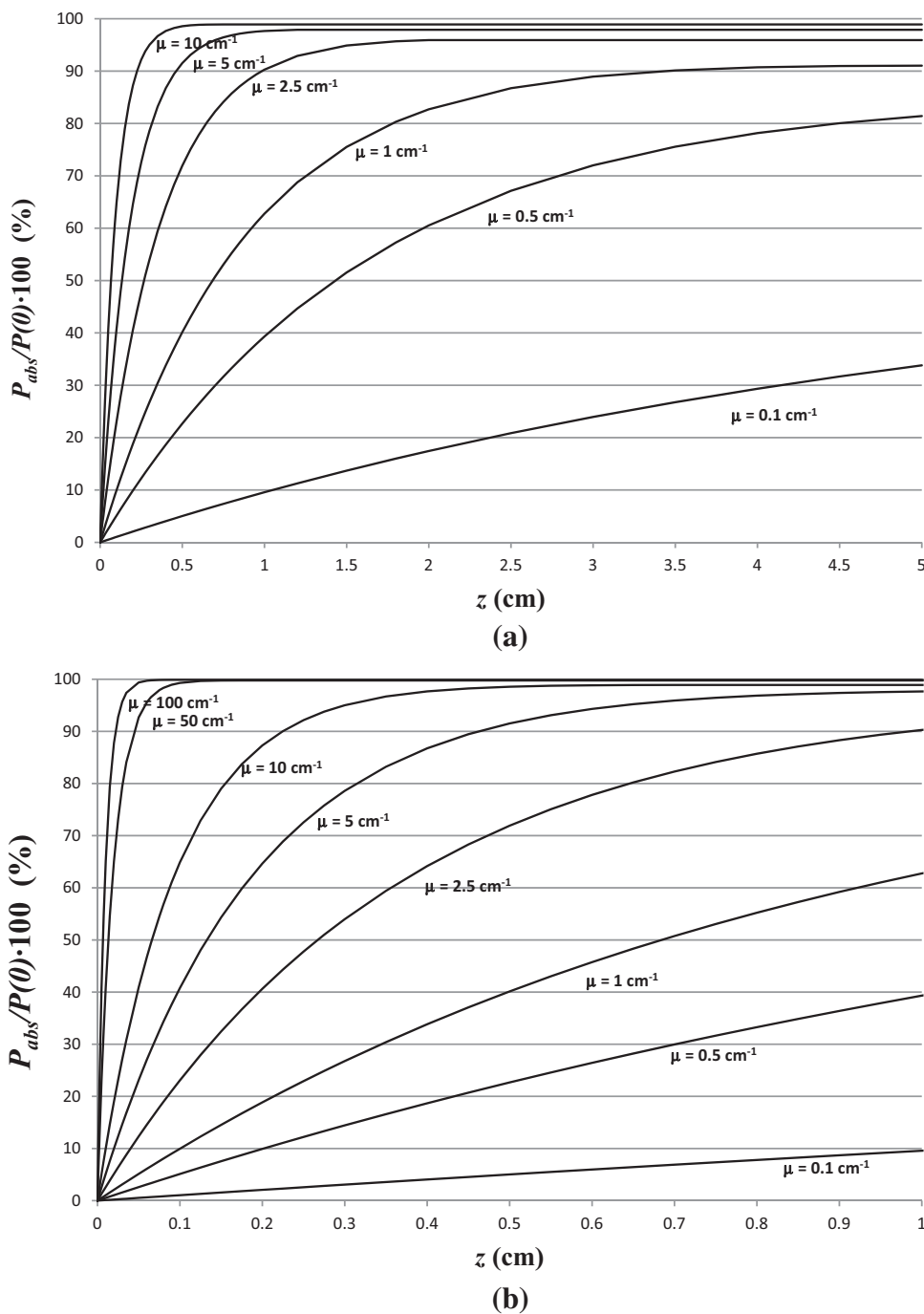
Fig. 5 shows both the incident spectral radiant power reaching every point at the surface of the reactor ( $P(x,y,z=0)$ ) and its bottom ( $P(x,y,z=C)$ ) obtained from Eq. (3) as a function of the other coordinates  $x$  and  $y$  for concentrations of patulin of 50  $\mu\text{g/L}$  and 100  $\text{mg/L}$ . It can be seen that less radiation reaches the bottom than the surface and the higher the concentration, the higher the difference. For the high value of the concentration of 100  $\text{mg/L}$ , the incident spectral radiant power at the bottom of the reactor is almost nil, which agrees with the conclusion that, for high enough concentrations, almost all the radiation reaching the reactor is absorbed. The integration of Eq. (3) for all the values of  $x$  and  $y$  axis (Eq. 6) enables the incident spectral radiant power reaching the total surface of the reactor ( $P(0)$ ) and its bottom ( $P(C)$ ) to be obtained.  $P(0)$  is always 2.55 W, and this value does not depend on either the concentration or the absorber substance because any absorbance has taken place yet.  $P(C)$  does depend on the absorber substance and its concentration, being 2.11 and 0.60 W for patulin concentrations of 50  $\mu\text{g/L}$  and 100  $\text{mg/L}$ , respectively.

To check the calculation procedure, the incident spectral radiant power on the specific point that coincided with the centre of the surface of the reactor at 255 nm was measured by placing a radiometer (UVP-J225, UVP LLC, Upland, CA). This value was calculated as a member

to be summed in the calculation proceeding to obtain  $P(0)$ . The measured value was  $2.93 \times 10^{-5} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ , and the calculated value on the same point was  $2.81 \times 10^{-5} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ . Taking into account that the real power emitted by the lamp was checked with an actinometry (Ibarz et al., 2014), the small difference could be due to the accuracy of the apparatus ( $\pm 5\%$ ) and the difficulty of placing the sensor in a specific point.

Finally, in order to clarify if the UV light can be totally absorbed by the solution and how deep it reaches inside the solution, the ratio between the spectral radiant power absorbed by the whole solution and the incident spectral radiant power at the surface of the reactor was evaluated. Fig. 6 shows how this ratio depends on the absorption coefficient and depth. The range of absorption coefficients considered was from 0.1 to 100  $\text{cm}^{-1}$ . Koutchma (2009) summarised values of absorption coefficients of fruit juices in 10-base logarithmic, that converted to e-base logarithmic become 34.5  $\text{cm}^{-1}$  for clear apple juice, 59.6  $\text{cm}^{-1}$  for apple juice, 54.3  $\text{cm}^{-1}$  for watermelon juice and 92  $\text{cm}^{-1}$  for apple cider. Fruit juices that contain particulates and pulpy materials showed higher absorption coefficients, such as orange juice with pulp, which showed a value of 110.2  $\text{cm}^{-1}$ . Other juices like carrot and pineapple showed values higher than 138  $\text{cm}^{-1}$ . Fig. 6 shows how this ratio increases asymptotically when the depth of the reactor is increased, reaching a value near 100% for high absorption coefficients. It can also be seen that, as was expected, the greater the absorption coefficient, the less depth is needed to absorb all the radiation that can be absorbed. For an absorption coefficient of 0.1  $\text{cm}^{-1}$ , barely 30% of the incident radiation at the surface of the reactor is absorbed in the first 4 cm, while for a value of 100  $\text{cm}^{-1}$ , 99% is absorbed in the first 0.05 cm. Table 2 shows the depth needed to absorb 50% and 90% of the incident radiation at the surface of the reactor. The normal values of the absorption coefficients for fruit juices being between 50 and 100  $\text{cm}^{-1}$ , the depth needed for most fruit juices is less than 1 mm, so the absorbed radiation will be almost the total incident radiation. However, although the fruit juices show the ability to absorb almost the total incident radiation, only the specific radiation absorbed by the patulin molecules will be able to produce the desired reaction and the radiation absorbed by other species will have no effect on this reaction.

The asymptotic value observed in Fig. 6 is the maximum fraction of the incident radiation that can be absorbed if the reactor is deep enough



**Fig. 6.** Dependence of the ratio spectral radiant power absorbed/incident spectral radiant power on the surface of the reactor on the absorption coefficient and the depth. (a) First 5 cm of depth and values of absorption coefficient from 0.1 to 10 cm<sup>-1</sup>. (b) First 1 cm of depth and values of absorption coefficient from 0.1 to 100 cm<sup>-1</sup>.

and depends on the absorption coefficient. Once the reactor is deep enough for a specific absorption coefficient, a further increase in its depth will not lead to any increase in the absorbed radiation. All the trajectories of the beams emitted by the lamp that enter the reactor also exit it, some through the bottom and some through the lateral surfaces. The shorter paths through the solution are the ones that enter the reactor near the edge and exit it by the upper area of the lateral surfaces. The beams that follow these shorter paths will only be totally absorbed before exiting the reactor if the absorption coefficient is high enough. The greater the absorption coefficient, the fewer the beams that will exit the reactor without being totally absorbed. Therefore, for a specific depth of the reactor and a specific absorption coefficient, being both high enough to ensure that any beam exits the reactor through the

bottom, a further increase in the absorption coefficient will increase the fraction of the incident radiation that will be absorbed. If the absorption coefficient is high enough, this limit is almost 100%. Table 2 also shows the dependence of this asymptotic value on the absorption coefficient.

#### 4. Conclusions

Both the absorption and emission spectra match at wavelengths from 255 to 355 nm.

The spectral radiant power absorbed obtained from both the simplified equation (Eq. (11)) and the nonsimplified equation (Eq. (19)) coincides for patulin concentrations lower than 50 mg/L. For higher

**Table 2**

Asymptote values and depth needed to achieve an absorbed radiation of 50% and 90% of the incident radiation at the surface of the reactor, for absorption coefficients between 0.1 and 100 cm<sup>-1</sup>.

$\mu$ cm <sup>-1</sup>	Asymptote (%)	z (50%) cm	z (90%) cm
0.1	54.6	11	235
0.5	84.1	1.5	25
1.0	91.0	0.7	3
2.5	95.9	0.27	1
5.0	97.9	0.13	0.5
10	98.9	0.066	0.22
50	99.8	0.014	0.047
100	99.9	0.0072	0.021

concentrations, both equations diverge, so Eq. (11) is not applicable. The spectral radiant power absorbed rises when the PAT concentration also does, achieving an asymptote that coincides with the incident spectral radiant power at the surface of the reactor.

The incident radiation at the surface does not depend on either the absorber substance or its concentration. This value (2.55 W) always being higher than the radiation that reaches the bottom of the reactor. The higher the absorber substance concentration, the bigger the difference between them. The radiation that reaches the bottom of the reactor does depend on the absorber substance and its concentration, being 2.11 and 0.60 W for patulin concentrations of 50 µg/L and 100 mg/L, respectively.

The ratio between the spectral radiant power absorbed and the incident spectral radiant power at the surface increases asymptotically when the depth of the reactor is increased. The greater the absorption coefficient, the less depth is needed to absorb all the radiation that reaches the surface of the reactor. The normal values of the absorption coefficients for fruit juices being between 50 and 100 cm<sup>-1</sup>, the depth needed to absorb the total radiation reaching the surface of the reactor for most fruit juices is much less than 1 mm, so the absorbed radiation will be almost the total incident radiation at the surface of the reactor in all cases, regardless of the shape of the reactor. The asymptotic value is the maximum fraction of the incident radiation that can be absorbed if the reactor is deep enough. If the absorption coefficient is higher than 5 cm<sup>-1</sup>, the asymptote is almost 100%, because almost all the beams that reach the surface of the reactor are absorbed before their trajectories exit the reactor.

## Acknowledgments

The authors kindly thank the *Ministerio de Ciencia e Innovación of the Spanish Government* for the funding received in the project CTQ2011-26569.

## References

- Alfano, O.M., Vicente, M., Esplugas, S., & Cassano, A.E. (1990). Radiation field inside a tubular multilamp reactor for water and wastewater treatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 29(7), 1270–1278.
- Assatarakul, K., Churey, J.J., Manns, D.C., & Worobo, R.W. (2012). Patulin reduction in apple juice from concentrate by UV radiation and comparison of kinetic degradation models between apple juice and apple cider. *Journal of Food Protection*, 75(4), 717–724.
- Bosco, F., & Mollea, C. (2012). Mycotoxins in food, food industrial processes—Methods and equipment. In Benjamin Valdez (Ed.), *InTech978-953-307-905-9*. <http://dx.doi.org/10.5772/33061> (Available from: <http://www.intechopen.com/books/food-industrial-processes-methods-and-equipment/mycotoxins-in-food>).
- Dong, Q., Manns, D.C., Feng, G., Yue, T., Churey, J.J., & Worobo, R.W. (2010). Reduction of patulin in apple cider by UV radiation. *Journal of Food Protection*, 73(1), 69–74.
- Esplugas, S., Ibarz, A., & Vicente, M. (1983). Influence of lamp position on the performance of the annular photoreactor. *Chemical Engineering Journal*, 27, 107–111.
- European Commission (2003). Commission Regulation (EC) No. 1425/2003 of 11 August 2003 amending Regulation (EC) No. 466/2001 as regards patulin. *Official Journal of the European Union*, L 230, 1–3 (12th August 2003).
- Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011). Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 1: Fundamental engineering aspects. *Food Research International*, 44, 1571–1579.
- FDA-U.S. Food and Drug Administration (2004). *Apple juice, apple juice concentrates, and apple juice products—adulteration with patulin*. Compliance policy guidance for FDA staff. Sec. 510.150 ([http://www.fda.gov/ora/compliance\\_ref/cpg/cpg510-150.htm](http://www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpg/cpg510-150.htm)).
- Hopkins, J. (1993). The toxicological hazards of patulin. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 455–456.
- Ibarz, R., Garvín, A., Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., & Ibarz, A. (2014). Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *Food Research International*, 66, 158–166.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138–155.
- Marín, S., Mateo, E.M., Sanchis, V., Valle-Algarra, F.M., Ramos, A.J., & Jiménez, M. (2011). Patulin contamination in fruit derivatives, including baby food, from the Spanish market. *Food Chemistry*, 124(2), 563–568.
- Moake, M.M., PadillaZakour, O.I., & Worobo, R.W. (2005). Comprehensive review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(1), 8–21.
- Rossetti, G.H., Albizzati, E.D., & Alfano, O.M. (2004). Modeling of a flat-plate solar reactor. Degradation of formic acid by the photo-Fenton reaction. *Solar Energy*, 77, 461–470.
- Sant'Ana, A., Rosenthal, A., & de Massaguer, P. (2008). The fate of patulin in apple juice processing: A review. *Food Research International*, 41, 441–453.
- Tikekar, R.V., Ananthaswaran, R.C., & LaBorde, L.F. (2013). Patulin degradation in a model apple juice system and in apple juice during ultraviolet processing. *Journal of Food Processing and Preservation*. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12047> (URL: <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12047>).
- WHO (1995). World Health Organization, 44th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *the Technical report series*, Vol. 859. (pp. 36).
- Zhu, Y., Koutchma, T., Warriner, K., & Zhou, T. (2014). Reduction of patulin in apple juice products by UV light of different wavelengths in the UVC range. *Journal of Food Protection*, 77(6), 963–971.



## Modelling of ochratoxin A photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp



Raquel Ibarz <sup>a</sup>, Alfonso Garvín <sup>a,\*</sup>, Ebner Azuara <sup>b</sup>, Albert Ibarz <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Food Technology Department, XaRTA-UTPV, Agrotecnio Center, University of Lleida, Av. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida, Catalonia, Spain

<sup>b</sup> Food Science and Technology Department, Institute of Basic Sciences, University of Veracruz, Dr. Luis Castelazo Ayala Av., Xalapa, Veracruz 91190, Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 28 July 2014

Received in revised form

28 November 2014

Accepted 2 December 2014

Available online 8 December 2014

#### Keywords:

Ochratoxin A

UV

Radiation

Photo-degradation

Must

### ABSTRACT

The aim of this work is to study the degradation of ochratoxin A using UV radiation from a mid-pressure lamp with emission wavelengths between 250 and 740 nm and to propose a mechanism that describes the degradation as three stages: excitation of the ochratoxin A molecules which can desorb the energy to its fundamental state or degrade to photo-products. It is shown that this mechanism is in line with a first-order kinetic that best describes the process.

Considering the linear spherical emission model and using the Simpson integration method, the spectral radiant power absorbed by the whole solution is evaluated, with its dependence on the ochratoxin A concentration and the incident spectral radiant power at different depths.

The first-order kinetic constants for aqueous solutions of 100 µg/L of ochratoxin at pH = 4 and pH = 7 and temperatures of 15, 25, 35, and 45 °C were obtained. In order to know the effect of the must on the photodegradation process, the kinetic constants for clarified 12°Brix must containing 100 µg/L of ochratoxin were obtained at the same pH and temperature values. The photo-degradation in must showed lower kinetic constants probably due to the global photo-protector effect of the other substances present.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin produced mainly by *Penicillium verrucosum* and other species of *Aspergillus* sp. OTA producer fungi infect a wide range of plants, so this toxin can be found in food due to contamination at any production step, such as plant growth, animal feed, food processing and even in food preservation. High OTA levels were found in coffee, cereals, grapes and even meat, due to contamination of animal feed. One of the foods most contaminated by OTA is grapes, including derivatives like wine and raisins (*Aspergillus carbonarius*). Given that wine is considered the second main source of OTA intake in the human diet after cereals, some countries have established maximum levels of OTA in some foods (Covarelli, Beccari, Marini, & Tosi, 2012). As it is suspected to be carcinogenic, hepatotoxic, immunosuppressor and nephrotoxic (Wafa et al., 1998), it has been one of the first mycotoxins classified as harmful for animals and humans.

The European Commission imposed OTA limits in food (CE 123 205) and has established some rules to avoid high OTA levels, with the maximum permitted level of OTA in beverages produced from must being 2 µg/kg (Regulation 1881/2006). Lasram et al. (2012) showed that 4 out of 39 samples had higher levels.

OTA is highly resistant to conventional treatment processes (Bullerman and Bianchini, 2007; Kaba, 2009), like thermal sterilization or fermentation, so it is necessary to find alternative treatment processes to destroy this mycotoxin. One of these alternatives is UV irradiation (Falguera, Pagán, & Ibarz, 2011a; Falguera, Pagán, Garza, Garvín, & Ibarz, 2011d). In order to be able to break some chemical bonds, it is indispensable to ensure that the incident energy has the same wavelengths that the substance to be destroyed is able to absorb.

The main aim of this work was to study the degradation of OTA in an aqueous solution using UV radiation from a mid-pressure lamp with emission wavelengths between 250 and 740 nm. A reaction mechanism was proposed that matches the kinetics obtained at different pH and temperatures. So, it was necessary to calculate the spectral radiant power absorbed by the whole solution, its dependence on the OTA concentration and the incident

\* Corresponding author. Tel.: +34 973 702907; fax: +34 973 702596.  
E-mail address: [garvin@tecal.udl.cat](mailto:garvin@tecal.udl.cat) (A. Garvín).

spectral radiant power at different depths. It is also interesting to know whether the time needed for germicidal reduction at the 255 nm wavelength is higher than the time needed for OTA reduction at all the wavelengths emitted by the lamp in the range where OTA absorbs energy. If so, a microbial treatment would have a second consequence of eliminating OTA. For this purpose, it is necessary to compare the emitting and absorption spectra.

Depending on the variety and ripeness of the grapes, the must has a pH close to 4, while the washing water pH is close to neutrality. Therefore, aqueous solutions of OTA at pH 4 and 7 were irradiated. The photo-degradation of OTA added to a must is also studied.

2. Material and methods

2.1. Irradiation model

When a solution is irradiated with electromagnetic radiation, part of the energy is absorbed. The ability to absorb radiation can be known by defining the absorbance as the logarithm of the ratio between the incident ( $P_\lambda^0$ ) and transmitted ( $P_\lambda$ ) spectral radiant power at wavelength  $\lambda$ . Taking into account the base of the logarithm, two definitions are possible:

$$A_{10}(\lambda) = \log \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda}; A_e = \ln \frac{P_\lambda^0}{P_\lambda} \tag{1}$$

The spectrophotometers usually measure the absorbance as  $A_{10}$ , while the model equations use  $A_e$ . The relation between both terms is  $A_e = A_{10} \cdot \ln 10$ .

Lambert–Beer proposed a linear relation between the absorbance at a fixed wavelength and the concentration of the absorber substance.

$$A(\lambda) = \epsilon_\lambda \cdot C_A \cdot D_S = \mu_\lambda \cdot D_S \tag{2}$$

where  $A(\lambda)$  is the absorbance at wavelength  $\lambda$ ,  $\epsilon_\lambda$  the molar absorption coefficient at the same wavelength,  $C_A$  the concentration of the absorber substance,  $D_S$  the path length of light through the solution and  $\mu_\lambda$  the absorption coefficient at wavelength  $\lambda$ .

Considering Lambert–Beer's law, the e-base absorbance, a plane photo-reactor with a cylindrical lamp (Fig. 1) and a linear spherical emission model (Falguera, Pagán, Garza, Garvín, & Ibarz, 2011c), the spectral radiant power reaching ( $P_\lambda$ ) a specific point  $(x, y, z)$  inside the solution at each wavelength, from the spectral radiant power emitted at the same wavelength by a specific point of the lamp, can be obtained as:

$$A_\lambda = \ln \frac{P_\lambda(S)}{P_\lambda(x, y, z)} \cdot 4\pi D_0^2 = \epsilon_\lambda C_A D_S = \mu_\lambda D_S \tag{3}$$

$$P_\lambda(x, y, z) = P_\lambda(S) \frac{D_0^2}{D^2} \exp(-\mu_\lambda D_S) = P_\lambda(S) \frac{D_0^2}{D^2} \exp\left(-\mu_\lambda \frac{z}{\sin \beta}\right) \tag{4}$$

where  $P_\lambda(S)$  is the incident spectral radiant power at the same wavelength  $\lambda$  at the reactor's surface from the specific point considered in the emitting lamp, being obtained as:

$$P_\lambda(S) = \frac{W_\lambda/L}{4\pi D_0^2} dy_L \tag{5}$$

where  $W_\lambda$  is the total energy emitted by the whole lamp at wavelength  $\lambda$ ,  $L$  is the lamp length,  $y_L$  is the coordinate that defines each specific point of the lamp and  $D_0$  is the radius of the sphere defined

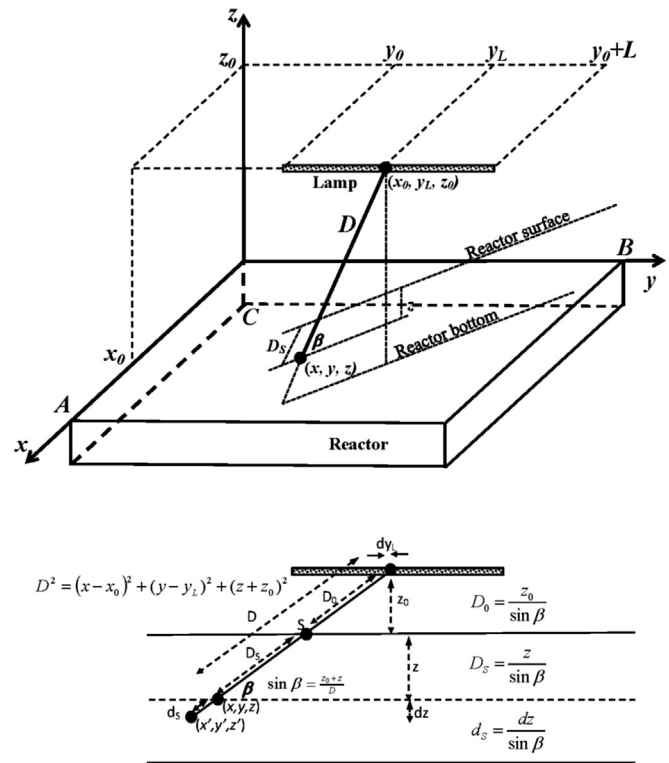


Fig. 1. Scheme of a plane photo-reactor.

by the emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection in the reactor's surface of the beam in its path to the point considered  $(x, y, z)$ .

$D_0$  and  $D_S$  can be obtained from the following equations:

$$D_0 = \frac{z_0}{\sin \beta} \tag{6}$$

$$\sin \beta = \frac{z_0 + z}{D} \tag{7}$$

$$D^2 = (x - x_0)^2 + (y - y_L)^2 + (z + z_0)^2 \tag{8}$$

$$D_S = \frac{z}{\sin \beta} \tag{9}$$

The incident spectral radiant power for a specific depth of the reactor can be obtained by integrating Equation (4) for the whole length of the lamp, and all the  $x$  and  $y$  values for the specific  $z$  value:

$$P(z) = \sum_\lambda \frac{W_\lambda/L}{4\pi} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{\exp\left(-\epsilon_\lambda C \frac{z}{\sin \beta}\right)}{D^2} dy_L dy dx \tag{10}$$

where  $A$  and  $B$  are the reactor's dimensions on the  $x$  and  $y$  axes.

The values of  $P(z)$  for  $z = 0$  ( $P(0)$ ) and  $z = C$  ( $P(C)$ ) are the incident spectral radiant power on the surface and at the bottom of the reactor, respectively.  $P(0)$  does not depend on either the concentration or the absorber substance, because no absorbance has yet taken place.  $P(C)$  does depend on the absorber substance and its concentration.

The value related to the reaction is the spectral radiant power absorbed by the solution ( $P_{abs}$ ). Although this value is related to the incident spectral radiant power on the surface ( $P(0)$ ), only a fraction of this incident radiation is absorbed. In fact, for a high value of  $P(0)$ ,  $P_{abs}$  could be nil.

In order to calculate the spectral radiant power absorbed by the solution ( $P_{abs}$ ), a point ( $x', y', z'$ ) is considered at an infinitesimal distance from ( $x, y, z$ ). The transmitted spectral radiant power through this infinitesimal path ( $dS$ ) is:

$$P_{\lambda}(x', y', z') = P_{\lambda}(x, y, z) \exp(-\mu_{\lambda} dS) \quad (11)$$

being

$$dS = \frac{dz}{\sin \beta} \quad (12)$$

In the case of dilute solutions, where the values of the absorption coefficient ( $\mu_{\lambda}$ ) are low, this equation can be simplified as:

$$P_{\lambda}(x', y', z') \approx P_{\lambda}(x, y, z) [1 - \mu_{\lambda} dS] \quad (13)$$

The infinitesimal spectral radiant power absorbed by the solution between the points separated at an infinitesimal distance is:

$$dP_{abs, \lambda}(x, y, z) = P_{\lambda}(x, y, z) - P_{\lambda}(x', y', z') \approx P_{\lambda}(x, y, z) (\mu_{\lambda} dS) \quad (14)$$

$$dP_{abs, \lambda}(x, y, z) = \frac{W_{\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} \quad (15)$$

Thus, the spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp is:

$$P_{abs}(V) = \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{W_{\lambda}/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} dy_L dx dy dz \quad (16)$$

$P_{abs}(V)$  considers all the wavelength values for which there is both emission from the lamp and solution absorption exist and needs to be calculated by numerical methods.

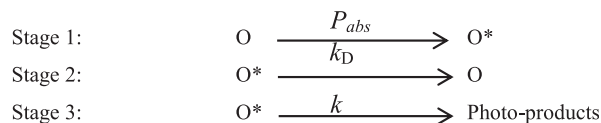
Dividing by the volume, the total absorbed spectral radiant power per volume unit is obtained:

$$P_{abs} = \frac{P_{abs}(V)}{V} \quad (17)$$

$$P_{abs} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{W_{\lambda}/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} dy_L dx dy dz \quad (18)$$

## 2.2. Photo-degradation kinetics

The present work aims to propose a reaction mechanism that matches the kinetic model described by the photo-degradation of OTA. A three-stage degradation mechanism is proposed. In the first stage, the OTA molecule absorbs energy from a ground state (O) into an excited one (O\*). The excited molecule can decline to its fundamental state or degrade to form photo-products. Thus, this mechanism can be expressed as:



where  $P_{abs}$  is the total spectral radiant power absorbed by the OTA solution per volume unit. Their units have to be Einsteins (mol of photons) per volume unit and per time unit, and can be calculated according to the previous irradiation model section.  $k_D$  is the kinetic constant of the declination stage and  $k$  is the kinetic constant of the effective stage 3.

Assuming a pseudo steady state for the excited intermediate O\*, the reaction rate can be expressed as:

$$r_O = K_O P_{abs} \quad (19)$$

where  $r_O$  is the intensive reaction rate for OTA photo-degradation and  $K_O$  is a dimensionless constant that depends on  $k_D$  and  $k$ , so that:

$$K_O = \frac{k}{k + k_D} \quad (20)$$

According to the mechanism proposed, the  $K_O$  constant represents the quantum yield of the overall photo-degradation as degraded moles of OTA per absorbed photon moles (Einstein).

The irradiation processes were performed in a perfectly stirred reactor of volume  $V$ , working on batch process. If a mass balance for OTA is combined with the intensive reaction rate ( $r_O$ ), the next equation is obtained:

$$\frac{dC_O}{dt} = -K_O P_{abs} \quad (21)$$

It is necessary to know the relation between  $P_{abs}$  and the OTA concentration ( $C_O$ ). As  $P_{abs}$  is calculated from Equation (16), its expected relationship to the OTA concentration is not a straight line. Nevertheless, for a narrow range of concentrations and especially for low values of concentration, the relationship could be considered a straight line (Falguera, Esplugas, Vicente, & Ibarz, 2011b):

$$P_{abs} = k_R C_O \quad (22)$$

where  $k_R$  is the constant of proportionality.

Considering the proposed linear relationship in Equation (22) and integrating Equation (21), the dependence between the OTA concentration and time is obtained:

$$C_O = C_O^0 \exp(-m_O t) \quad (23)$$

where:

$$m_O = K_O k_R \quad (24)$$

Therefore, the proposed reaction mechanism matches a first-order kinetic model with a global constant photo-degradation  $m_O$ .

## 2.3. Preparation of samples

Aqueous solutions of OTA were prepared at a concentration of 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  at pH 4 and 7. The pH of each solution was obtained by the buffer phosphate/citric acid (McIlvaine, Germany).

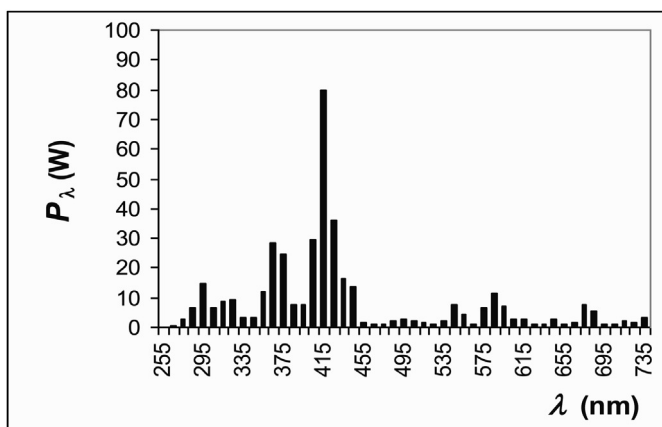
A 12°Brix commercial must was obtained from a local supermarket in Lleida and analysed to confirm the absence of OTA. Then OTA (Sigma, Germany) was added to the juice in order to obtain an initial toxin content of 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

## 2.4. Irradiation of samples

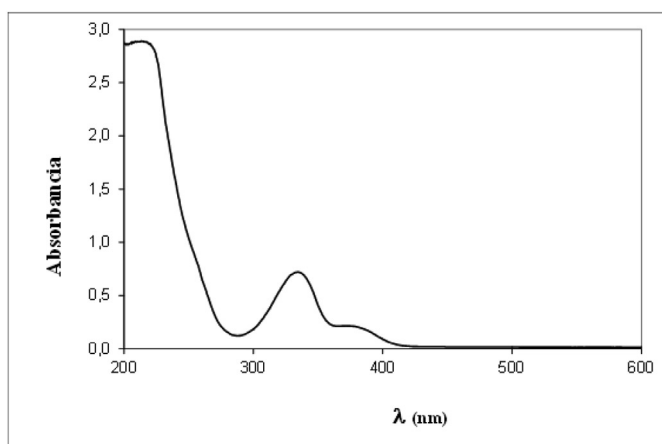
The irradiation of samples was performed in an installation consisting of a black chamber containing the reactor and the lamp. Eight hundred mL of the samples were placed in the  $22 \times 15 \times 10$  cm reactor made of methacrylate, so that the surface of the sample was 22.5 cm from the lamp and the solution height was 2.4 cm. A refrigerant coil was used to maintain a constant temperature in the sample contained in the reactor. This allowed the working temperatures (15, 25, 35, and 45 °C) to be set with a variation of  $\pm 1$  °C. A magnetic stirrer was used to ensure the homogeneity of the solution. The lamp used was a mid-pressure 400 W nominal power mercury Philips HPM 12 (Philips, The Netherlands) emitting on the 250–740 nm wavelength range. Fig. 2a shows the emission spectrum. In order to keep the constancy of the lamp emission, it was turned on 10 min before placing the samples to be radiated. At certain intervals, 2 mL-aliquots were taken in order to analyse the OTA content.

## 2.5. Actinometry

Actinometry was carried out to establish the real power of the lamp, using the photo-chemical decomposition of oxalic acid in the presence of uranyl cation (Calvert and Pitts, 1967; Falguera et al., 2011b; Koutchma, Forney, & Moraru, 2009; Rabek, 1982).



(a)



(b)

Fig. 2. (a) Absorption spectrum of an aqueous solution of OTA from 50 mg L<sup>-1</sup>(b) Emission spectrum of the HPM 12 lamp.

## 2.6. Incident spectral radiant power measurement

The incident spectral radiant power ( $P(0)$ ) at 255 nm was measured by placing a radiometer (UVP-J225, UVP LLC, Upland, CA) on the specific point that coincided with the centre of the surface of the reactor.

## 2.7. Determination of OTA by HPLC chromatography

The OTA content was measured with a 1260 Infinity HPLC chromatograph (Agilent Technologies, Germany). The analytical column used was a ZORBAX Eclipse Plus C18  $4.6 \times 100$  mm, 3.5  $\mu$ m (Agilent Technologies, Germany). The detection was by fluorescence (Agilent Technologies, Germany) at wavelengths of 333 and 460 nm for excitation and emission, respectively. The mobile phase was water/acetonitrile/acetic acid with a ratio of 49/50/1 with a flow of 1.2 mL/min 100  $\mu$ L of aqueous solution of OTA was injected into it. This solution was filtered prior to injection with a 0.45  $\mu$ m filter Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Germany).

In the case of the must juice samples, the OTA had to be extracted from the must samples prior to injection (Lee, Saad, Ng, & Salleh, 2012). AFFINIMIP cartridges (Polyintell, France) were used in the extraction of OTA following the methodology described by the manufacturer. The cartridge was activated with 4 mL of acetonitrile, followed by 4 mL of de-ionized water. Then, 5 mL of clarified juice were eluted. In order to wash out possible interferences, the cartridge was washed with 7 mL 60/40 HCl solution pH = 1, 0.1 M/ acetonitrile (v/v). The adsorbed OTA was dissolved by eluting 2 mL 2/98 acetic acid/methanol (v/v), which was collected in a conical bottom tube and then dried under a nitrogen stream. Finally, the residue was dissolved with 0.5 mL of the mobile phase for further analysis. 100- $\mu$ L aliquots of this final solution were injected into the column to quantify the OTA content.

## 2.8. Absorption spectrum

The absorption spectrum for an OTA solution of 50 mg L<sup>-1</sup> was obtained from 200 to 750 nm using a Helios Gamma spectrophotometer (Termo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA).

## 2.9. pH

pH values were measured using a pH-meter Crison micropH 2000 (Crison Instruments, S.A., Alella, Spain).

## 2.10. Statistical analysis

The experimental results obtained in this study were fitted to different kinetic and mathematical models using the Statgraphics (STSC Inc. Rockville, Md, USA, Plus 5.1 version) statistic data processing software. The fit and estimates were calculated at a 95% significant level.

Both the UV radiation treatments and the sample analysis were carried out in duplicate.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Actinometry

Using actinometry, it was established that the lamp emitted a real power of  $1.38 \cdot 10^{-3}$  E/s.

### 3.2. Incident spectral radiant power

The measured value for the incident spectral radiant power ( $P(0)$ ) at 255 nm on the centre of the surface of the reactor was  $2.93 \cdot 10^{-5} \text{ W cm}^{-2}$ , the calculated value at this specific wavelength on the same point being  $2.81 \cdot 10^{-5} \text{ W cm}^{-2}$ . Taking into account that the real power emitted by the lamp was checked with an actinometry, the small difference could be due to the accuracy of the apparatus ( $\pm 5\%$ ) and the difficulty of placing the sensor in a specific point.

### 3.3. Calculation of $k_R$

Fig. 2-b shows the absorption spectrum of an aqueous solution of OTA where it can be seen that this compound absorbs between 200 and 450 nm. If the emission spectrum of the lamp used in the present study is observed (Fig. 2-a), this emits between 255 and 450 nm that match the absorption range of OTA. Therefore, it is expected that a fraction of the energy emitted by the lamp in this wavelength range will be absorbed by the OTA and that is why it may cause the photo-chemical degradation of this compound. From the absorption spectrum, it is possible to obtain the values of the molar extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) for different wavelengths (Table 1). From the values obtained for the absorption coefficient ( $\mu_\lambda$ ) for a solution of  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , it can be concluded that the simplification used in Equation (13) is correct and that the radiation can penetrate the reactant solution (Falguera et al., 2011b).

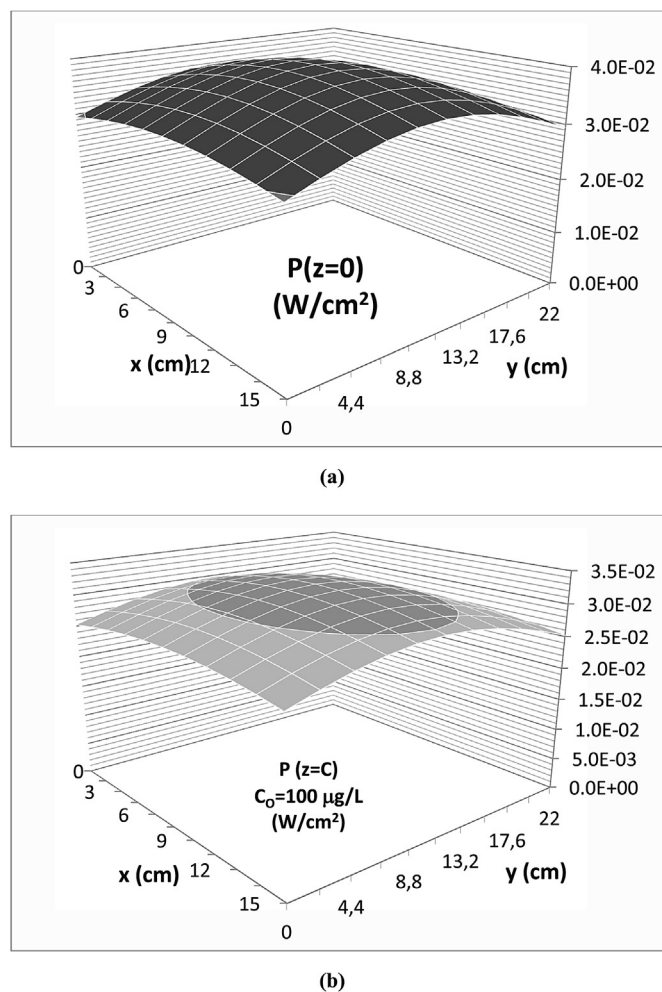
By means of a spreadsheet, the value of  $P_{abs}$  for each concentration of OTA and wavelength was calculated using the Simpson integration method to solve Equation (16). With this same sheet, both  $P(0)$  and  $P(C)$  were obtained, depending on the other coordinates (Fig. 3). It can be seen that less radiation reaches the bottom than the surface. However, the latter is enough to cause degradation of the photo-sensitive components. Integrating Equation (16), a value of  $11.78 \text{ W}$  ( $3.57 \cdot 10^{-2} \text{ W cm}^{-2}$ ) was obtained at the surface of the reactor, while for the bottom, this value depended on the concentration of the OTA solution. For a concentration of  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , this value at the reactor bottom was  $9.78 \text{ W}$

**Table 1**  
Energy emitted by lamp, molar extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) of OTA and absorption coefficients of aqueous solutions of OTA for  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , at different wavelengths.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ ( $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )	$\mu_\lambda \cdot 10^3$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$W_{L,\lambda}$ (W)
205	53,328	13.21	
215	53,758	13.31	
225	51,011	12.63	
235	35,725	8.85	
245	23,427	5.80	
255	16,078	3.98	0.179
265	9,086	2.25	0.358
275	3,968	0.98	2.058
285	2,360	0.58	5.190
295	2,721	0.67	12.170
305	4,612	1.14	5.369
315	8,022	1.99	7.158
325	11,796	2.92	7.606
335	13,412	3.32	2.505
345	10,540	2.61	2.505
355	5,339	1.32	9.843
365	3,968	0.98	23.087
375	4,002	0.99	20.224
385	3,502	0.87	6.084
395	2,334	0.58	6.443
405	1,142	0.28	23.981
415	582	0.14	65.144
425	409	0.10	28.813
435	372	0.09	13.154
445	363	0.09	11.186

( $2.96 \cdot 10^{-2} \text{ W cm}^{-2}$ ), which represented 83.0% of the radiation at the surface. The  $P_{abs}$  value for a  $100\text{-}\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  aqueous OTA solution in the entire reaction volume for all wavelengths is  $1.7 \cdot 10^{-2} \text{ W}$  ( $6.27 \cdot 10^{-8} \text{ E s}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ).

The emission spectrum of the lamp includes a wavelength of 255 nm, widely known for its germicidal effect. Exclusively for this wavelength and the entire reaction volume, the  $P_{abs}$  value for a  $100\text{-}\mu\text{g L}^{-1}$  aqueous OTA solution is  $7.6 \cdot 10^{-5} \text{ W}$  ( $2.3 \cdot 10^{-7} \text{ W cm}^{-2}$ ) and  $P(0)$  is  $2.53 \cdot 10^{-5} \text{ W cm}^{-2}$ . As Guerrero-Beltrán and Barbosa-Cánovas (2004) reported, depending on the type of microorganism to be eliminated, different radiation energy doses are required to reach the surface of the solution at the exclusive wavelength of 255 nm. As  $P(0)$  is the power calculated as reaching the surface of the reactor, the time needed to achieve the inactivation of any microorganism can be estimated from the quotient between both parameters. Thus, for the case of vegetative bacteria, the one that requires the smallest radiation energy dose of radiation is *Bacillus megatherium* with  $2.5 \cdot 10^{-3} \text{ J cm}^{-2}$ , while *Sarcina lutea* requires the highest radiation energy dose,  $26.4 \cdot 10^{-3} \text{ J cm}^{-2}$ . With the lamp used in the present work, with irradiation times between 1.6 and 17.4 min, all these vegetative bacteria would have been inactivated. In the case of sporulated bacteria, the required energy doses are within the range of  $22.0 \cdot 10^{-3}$  up to  $46.2 \cdot 10^{-3} \text{ J cm}^{-2}$ , these belonging to *Bacillus subtilis* and *Bacillus anthracis* respectively,



**Fig. 3.** Incident spectral radiant power. (a) on the surface of the photo-reactor ( $P(0)$ ). (b) at the bottom of the photo-reactor ( $P(C)$ ). (b) was obtained for  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  OTA solution.



which means that the irradiation times needed are between 14.5 and 30.4 min. For yeasts, the minimum and maximum required radiation energy doses are those of Brewer's Yeast and *Saccharomyces* sp. ( $11.6 \cdot 10^{-3}$  and  $17.6 \cdot 10^{-3}$  J cm $^{-2}$ , respectively), corresponding to required irradiation times of between 7.6 and 11.6 min.

From the obtained values of  $P_{abs}$ , the proportionality constant ( $k_R$ ) can be calculated using Equation (22). Fig. 4 shows the relation between  $P_{abs}$  and the OTA concentration ( $C_0$ ) in the range of 0.5 up to 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  including the linear fit from which a value of 0.253 E/(mol s) as  $k_R$  ( $R^2 = 0.9999$ ) was obtained. Fig. 4 also enables the linear relationship proposed in Equation (22) to be confirmed.

#### 3.4. Photo-degradation of OTA in aqueous solution

Fig. 5 shows the evolution of the relative concentration of OTA ( $C/C_0$ ) in the aqueous solution with irradiation time for the treatment temperatures studied at pH = 4 (a) and pH = 7 (b). For pH = 7, a degradation of about 83% is obtained after 12 min of irradiation at 15 °C. As was expected, the higher the temperature the faster the photo-degradation, the time needed for a total photo-degradation being 10, 9 and 6.5 min, for 25, 35 and 45 °C, respectively.

For pH = 4, the photo-degradation is considerably slower, and also the sensitivity to temperature. At temperatures of 15, 25 and 35 °C, approximately 70 min is needed for total photo-degradation at temperatures between 15 and 35 °C. Nevertheless, if the temperature was increased to 45 °C, total degradation of OTA only took 40 min.

In the previous section, the times needed to eliminate the microorganisms at the germicidal wavelength of 255 nm were calculated. The times needed for the photo-degradation are similar to those needed to inactivate microorganisms, depending on the pH and the specific microorganism. Therefore, while the process degrades OTA, some microorganism present in the solution would also be inactivated.

In all cases, the evolution of the OTA concentration decreases exponentially, according to a first-order kinetics (Equation (23)). Table 2 contains the parameters obtained by fitting the experimental data to Equation (23), whose coefficients of determination ( $R^2$ ) show values between 0.9901 and 0.9999, which is an indication of the reliability of the model. It can be observed that the overall kinetic constant values increased with the treatment temperature, so the higher the temperature, the more photo-degradation was produced, which coincides with what is observed in Fig. 5. It was also observed that the values of the global constants were higher at pH = 7, thus indicating that the photo-

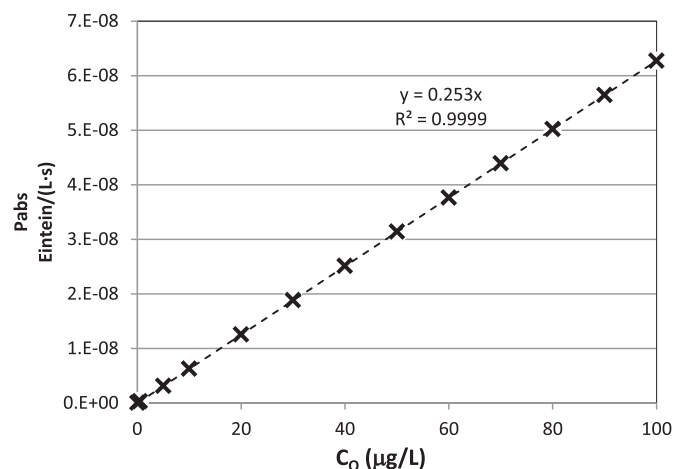
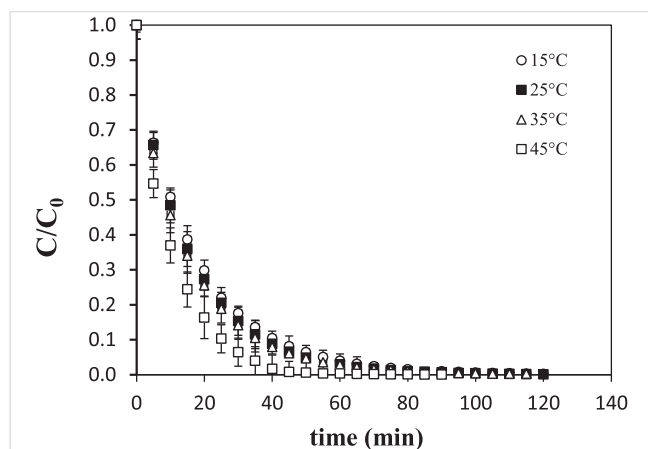
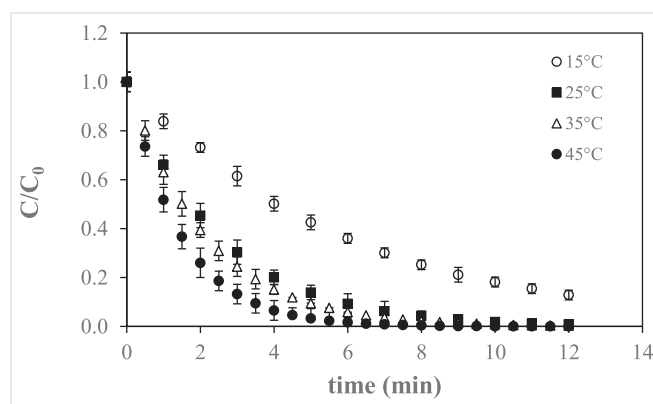


Fig. 4. Effect of OTA concentration on spectral radiant power absorbed ( $P_{abs}$ ).



(a)



(b)

Fig. 5. Evolution of the relative OTA concentration with irradiation time, at different temperatures, for aqueous solutions at (a) pH = 4, and (b) pH = 7.

Table 2

Parameters from the first-order kinetic fittings for the OTA photodegradation in aqueous solution at pH = 4 and pH = 7, at different temperatures.

pH	T (°C)	Intercept ( $\mu\text{g/L}$ )	$m_0 \times 10^2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_0 \times 10^3$ (mol/Einstein)	$k_D/k$	$R^2$
4.0	15	$0.898 \pm 0.018$	$4.96 \pm 0.04$	3.26	305.37	0.9988
4.0	25	$0.958 \pm 0.017$	$5.43 \pm 0.06$	3.57	278.85	0.9974
4.0	35	$0.889 \pm 0.019$	$5.47 \pm 0.05$	3.60	276.81	0.9984
4.0	45	$0.990 \pm 0.023$	$9.52 \pm 0.09$	6.26	158.62	0.9901
7.0	15	$1.008 \pm 0.003$	$17.16 \pm 0.02$	11.31	87.40	0.9996
7.0	25	$1.002 \pm 0.002$	$39.78 \pm 0.01$	26.18	37.20	0.9999
7.0	35	$1.047 \pm 0.009$	$48.48 \pm 0.02$	31.90	30.35	0.9996
7.0	45	$1.123 \pm 0.018$	$81.78 \pm 0.03$	53.82	17.58	0.9966

degradation was higher in neutral solutions than in acid solutions, also corroborating the values observed in Fig. 5.

From the values of the photo-degradation constant ( $m_0$ ) and the value of the  $k_R$  constant, the value of the constant  $K_0$  can be obtained with Equation (24). In Table 2, the values are shown for this constant for the irradiated solutions at different pH and at different temperatures tested. As expected, this value followed the same trend as the constant  $m_0$ , i.e., for a given pH its value increased with increasing temperature, while at the same temperature, its value was higher at a more neutral pH. As the  $K_0$  value represents the quantum yield of the overall photo-degradation reaction, it can be concluded that the higher the working temperature and the more

neutral the reaction medium is, the more efficient the absorption of radiation is.

Furthermore, the ratio  $k_D/k$  can be calculated with the value of  $K_0$  using Equation (20). The values of this ratio are also shown in Table 2, where it can be observed that the values were greater than 1, meaning that in the assumed reaction mechanism the declining step was greater than the product formation. However, an increase in temperature made the  $k_D/k$  ratio decrease, so that the photo-product formation step became more important than the inactivation of the excited OTA.

### 3.5. Extraction of OTA from apple juice

The extraction process was checked by adding  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  of OTA to three OTA-free must samples. After the extraction process, the concentration obtained was always higher than  $98 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 3.6. Photo-degradation of OTA in must

OTA was added to OTA-free must samples to achieve  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  of OTA. Then, this was irradiated for 90 min. Fig. 6 shows the evolution of the OTA content at the same experimental temperatures as the aqueous solution. This figure shows that as the temperature increased, a greater reduction of the OTA content in the juice was achieved, i.e., after 90 min of irradiation, the degradation achieved for the OTA was around 45% and 67% for 15 and 65 °C, respectively.

Comparing Figs. 5 and 6, it can be observed that the degree of photo-degradation in the must is considerably lower than in the aqueous solution. It could be due to the fact the must contains pigments that absorb part of the incident radiation, producing a photo-protector effect. This global photo-protective effect is the outcome of the greater photo-protective effect of substances like ascorbic acid (Fan and Geveke, 2007) or melanoidins (Falguera, Folch, Garvín, & Ibarz, 2013) than the photo-degradative effect of other substances like fructose (Elsinghorst and Tikekar, 2014).

As in the case of the photo-degradation of the OTA in the aqueous solution, the variation of the OTA content in the must fell exponentially with the irradiation time. In order to obtain the overall kinetic constants of degradation, the experimental data shown in Fig. 6 were fitted to Equation (23). Table 3 shows the data obtained in these fittings, where the coefficients of determination ( $R^2$ ) show values between 0.8746 and 0.9800. It was observed that the values of the overall kinetic constants increased with the rise in the experimental temperature. If the data shown in Tables 2 and 3 are compared, it is observed that the values of the overall kinetic

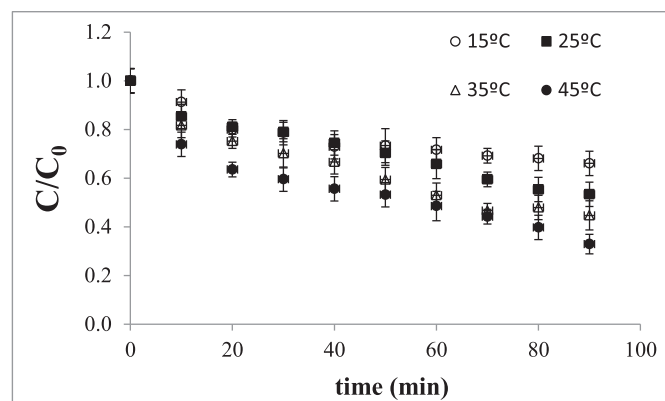


Fig. 6. Evolution of the OTA content in must, with the irradiation time at different temperatures.

Table 3

Parameters from the first-order kinetic fittings for the OTA photodegradation in must, at different temperatures.

T (°C)	Intercept	$m_0 \times 10^2$ (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
15	0.920 ± 0.015	0.41 ± 0.12	0.8746
25	0.955 ± 0.009	0.66 ± 0.05	0.9800
35	0.923 ± 0.011	0.87 ± 0.07	0.9675
45	0.862 ± 0.013	1.02 ± 0.09	0.9470

constants of photo-degradation were much lower in the samples of juice, which corroborates what was described above.

## 4. Conclusions

OTA absorbs radiation between 255 and 455 nm, so a mid-pressure lamp can be useful for the dual purpose of reducing the microbial burden at 255 nm and OTA at all the wavelengths from 255 to 455 nm. According to the calculated values of the incident radiation power on the surface of the reactor exclusively for the germicide wavelength of 255 nm, the time needed to reach the required germicide energy dosage is lower than the time needed for the photo-degradation of the OTA, so that, as a collateral effect, any microorganism in the solution would be inactivated.

The values of the total spectral radiant power absorbed by the aqueous solution of OTA follow a linear dependence with the OTA concentration for concentrations lower than  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .

OTA can be degraded by treatment with UV irradiation, following first-order kinetics. The pH of the aqueous solutions influenced the degree of photo-degradation of the OTA and greater degradation was observed at pH 7 than at pH 4. The case of OTA in must shows that it is degraded by UV radiation, although according to first-order kinetics, the global constant of photo-degradation is lower than in the case of the aqueous solutions. The reason for this decline in the constant could be due to the fact that the must contains other substances that exert a global photo-protector effect, preventing further destruction of OTA.

## Acknowledgements

The authors kindly thank the *Ministerio de Ciencia e Innovación* of the Spanish Government for the funding received in the project CTQ2011-26569. Ebner Azuara thanks CONACYT-México for his grant (project 203997).

## Nomenclature

$A(\lambda)$	Absorbance of the solution at wavelength $\lambda$
$A_{10}(\lambda)$	10-base logarithm absorbance at wavelength $\lambda$
$A_e(\lambda)$	e-base logarithm absorbance at wavelength $\lambda$
$A$	Reactor dimension on the x axis
$B$	Reactor dimension on the y axis
$C$	Reactor dimension on the z axis
$C_A$	Concentration of the absorber substance present in the solution
$C_0$	OTA concentration
$C_0^0$	Initial OTA concentration
$D$	Radius of the sphere defined by both the emitting lamp point as the sphere's centre and the considered solution point.
$D_0$	Radius of the sphere defined by the considered emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection with the reactor surface of the beam in its way from the lamp to the considered point ( $x, y, z$ )

$D_S$	Path length of light through the solution	$z'$	Position on the z axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x, y, z)$
$d_S$	Infinitesimal path between $(x, y, z)$ and $(x', y', z')$	$z_0$	Lamp position on the z axis
$k_D$	Kinetic constant for the declining step	$\beta$	Angle defined by both the emitting point in the lamp and the solution point receiving the radiation
$K$	Kinetic constant for the photo-product formation step	$\varepsilon_\lambda$	Molar extinction coefficient at wavelength $\lambda$
$K_O$	Kinetic constant for the global photo-degradation reaction	$\mu_\lambda$	Absorption coefficient at wavelength $\lambda$
$k_R$	Constant of proportionality between $P_{abs}$ and $C_O$		
$L$	Lamp length		
$m_O$	Constant of the exponential evolution of $C_O$		
$O$	OTA molecule		
$O^*$	Excited OTA molecule		
$P_\lambda^0$	Emitted spectral radiant power at wavelength $\lambda$ from a specific point in the lamp		
$P_\lambda$	Spectral radiant power at wavelength $\lambda$ transmitted by the solution		
$P_\lambda(x, y, z)$	Spectral radiant power at wavelength $\lambda$ reaching the specific point $(x, y, z)$ in the solution from a specific point in the lamp		
$P_\lambda(S)$	Incident spectral radiant power at wavelength $\lambda$ at the reactor's surface from the specific point considered in the emitting lamp.		
$P(z)$	Incident spectral radiant power for a specific depth of the reactor for this whole surface		
$P(O)$	Incident spectral radiant power on the surface of the reactor for this whole surface		
$P(C)$	Incident spectral radiant power at the bottom of the reactor for this whole surface		
$P_{abs}(V)$	Spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp at all the wavelength values		
$P_{abs}$	Total spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp per volume unit		
$r_0$	Reaction rate for OTA degradation		
$V$	Reaction volume		
$W_\lambda$	Total energy emitted by the whole lamp at wavelength $\lambda$		
$x$	Position on the x axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered		
$x'$	Position on the x axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x, y, z)$		
$x_0$	Lamp position on the x axis		
$y$	Position on the y axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered		
$y'$	Position on the y axis for the point located at an infinitesimal distance from $(x, y, z)$		
$y_0$	Lamp's starting point position on the y axis		
$y_L$	Coordinate that defines each specific point of the lamp		
$z$	Position on the z axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered		

## References

- Bullerman, L. B., & Bianchini, A. (2007). Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 140–146.
- Calvert, J. G., & Pitts, J. N., Jr. (1967). *Photochemistry*. New York: Wiley.
- Covarelli, L., Beccari, G., Marini, A., & Tosi, L. (2012). A review on the occurrence and control of ochratoxigenic species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non-fortified dessert wines and dried vine fruit in the Mediterranean area. *Food Control*, 26, 347–356.
- Elsinghorst, A., & Tikekar, R. V. (2014). Generation of oxidative species from ultraviolet light induced photolysis of fructose. *Food Chemistry*, 154, 276–281.
- Falguera, V., Esplugas, S., Vicente, M., & Ibarz, A. (2011b). Modeling of absorbed radiation profiles in a system composed by a plane photoreactor and a single lamp. *Food Research International*, 44, 3111–3114.
- Falguera, V., Folch, A., Garvín, A., & Ibarz, A. (2013). Protective effect of melanoidins from fructose–glutamic acid on polyphenol oxidase inactivation by Ultraviolet–visible irradiation. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3290–3294.
- Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011c). Ultraviolet processing of liquid food: a review. Part 1: fundamental engineering aspects. *Food Research International*, 44(6), 1571–1579.
- Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011d). Ultraviolet processing of liquid food: a review. Part 2: effects on microorganisms and on food components and properties. *Food Research International*, 44(6), 1580–1588.
- Falguera, V., Pagán, J., & Ibarz, A. (2011a). Effect of UV radiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 115–119.
- Fan, X., & Geveke, D. J. (2007). Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7816–7821.
- Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Review: Advantages and limitations on processing foods by UV-light. *Food Science and Technology International*, 10(3), 137–147.
- Kaba, K. B. (2009). The fate of mycotoxins during thermal food processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 549–554.
- Koutchma, T. N., Forney, L. J., & Moraru, C. I. (2009). *Ultraviolet light in food technology. Principles and applications*. Boca Raton: CRC Press.
- Lasram, S., Oueslati, S., Mliki, A., Ghorbel, A., Silar, P., & Chebil, S. (2012). Ochratoxin A and ochratoxigenic black *Aspergillus* species in Tunisian grapes cultivated in different geographic areas. *Food Control*, 25, 75–80.
- Lee, T., Saad, B., Ng, E., & Salleh, B. (2012). Zeolite Linde type L as micro-solid phase extraction sorben for the high performance liquid chromatography determination of ochratoxin A in coffee and cereal. *Journal of Chromatography A*, 1237, 46–54.
- Rabek, J. (1982). *Experimental methods in photochemistry and photophysics*. New York: Wiley.
- Wafa, E. W., Yahya, R. S., Sobh, M. A., Eraky, I., El-Baz, M., El-Gayar, H. A. M., et al. (1998). Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: a preliminary study. *Human & Experimental Toxicology*, 17, 124–129.



# Kinetic study and modelling of the UV photo-degradation of thiabendazole



Raquel Ibarz, Alfonso Garvín \*, Karla Aguilar, Albert Ibarz

Food Engineering Unit, Food Technology Department, University of Lleida, Av. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida, Catalonia, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 21 October 2015

Received in revised form 14 December 2015

Accepted 20 December 2015

Available online 23 December 2015

### Keywords:

Thiabendazole

Photo-degradation

Pesticide

UV

Radiation

Treatment

## ABSTRACT

A consequence of the massive use of pesticides in fruit harvesting is that many fruit juices contain pesticide traces that can be hazardous to the health of consumers. The wastewater generated in the fruit process after cleaning the fruit also contains pesticides in concentrations that cannot be dumped into the environment so these substances have to be previously eliminated. As thermal and the biological treatments do not degrade most pesticides used, an alternative treatment has to be applied to eliminate these toxic compounds both in fruit juices and wastewater. In the present work, a photochemical treatment with UV radiation was applied to eliminate thiabendazole from aqueous solutions at different pH and temperatures, using a medium-pressure mercury lamp that emitted in the range of wavelengths between 255 and 750 nm. The absorbed radiation was calculated as a function of the concentration of thiabendazole. A reaction mechanism was proposed, so combining it with the mathematical relation found between the absorbed radiation and thiabendazole concentration suggests a pseudo-first-order kinetic model that, for the range of concentrations studied, can be simplified to a zero-order kinetic model, both of which fit the experimental data obtained well.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Thiabendazole (2-(4-Thiazolyl)-1 H-benzimidazole) (TBZ) is a broad-spectrum systemic fungicide used for controlling some plagues, e.g. mold, rot, blight and stain in all kinds of crops, especially fruit and vegetables, both pre and post-harvesting (Farrow, Hoodless, Sargent, & Sidwell, 1977; Mestres, Tourte, & Campo, 1972; Norman, Fouse, & Craft, 1972; Papadopoulou-Mourkidou, 1991).

Although TBZ does not have a high risk of toxicity for human and animals (Zbozinek, 1984), its accumulation in the environment causes increasing resistance in some microorganisms (Roca-Jalil, Baschini, Rodríguez-Castellón, Infantes-Molina, & Sapag, 2014).

Many fruits are treated with TBZ solutions both in the orchards and prior to refrigerated storage to prevent further fungi growth. As a consequence, when the fruit is processed to produce juices and their derivatives, the pieces of fruit are impregnated with TBZ. The persistence of TBZ being high, this product can pollute the final juice. In fact, 21 different pesticides were found in 655 orange juice samples from different places in United States, the most frequent being benomyl, carbendazim, imazalil and thiabendazole (EFSA, 2011). In the case of fruit juices with pulp, the pesticide content was found to be significantly higher due to the addition of pulp previously obtained by concentrating the pulp fraction of the juice (Bedendo,

Jardim, & Carasek, 2012). This presence can be minimized by increasing the intensity of the washing stage of the fruit.

However, washing fruit prior to be processed leads to the presence of pesticides in the wastewater stream generated in food processes. TBZ was the most frequently detected pesticide and at the highest concentration in this kind of wastewater (Sánchez-Pérez, Carra, Sirtori, Agüera, & Esteban, 2014). Due to its toxicity, environmental persistence and bioaccumulation, pesticides are an important source of pollution in water (EPA, 2002 & 2015; Montforts, 2006).

As TBZ can be found in fruit juices and wastewater from food processes, a treatment able to degrade TBZ needs to be found. In order to eliminate TBZ from aqueous solution, many natural adsorbents have been used (Roca-Jalil et al., 2014). Natural clay minerals have showed optimal adsorption capabilities due to their surface area and their cation-exchange capacity (Crini, 2006). Conventional biological treatments have been shown to be unable to remove TBZ (Bolong, Ismail, Salim, & Matsuura, 2009). The combination of a membrane bioreactor with an advanced oxidation process consisting of either the Fenton reaction or the Solar-Photo-Fenton reaction has also been studied (Sánchez-Pérez et al., 2014). In this case, TBZ showed resistance to the biological treatment but was totally eliminated when Fenton and solar photo-Fenton were applied as a tertiary treatment. As Fenton treatments suppose the addition of hydrogen peroxide and iron, they cannot be used to degrade TBZ when it is in either fruit juice or its derivatives, because it would affect its sensory and nutritional characteristics.

UV radiation has been shown to be effective at degrading other toxic pollutants in fruit juices and aqueous solutions (Ibarz et al., 2014 and

\* Corresponding author.

E-mail address: [garvin@tecal.udl.cat](mailto:garvin@tecal.udl.cat) (A. Garvín).

2015) without significant changes in their physicochemical properties (Aguilar, Ibarz, Garvín, & Ibarz, 2016; Falguera, Pagán, & Ibarz, 2011). Thus, this work aims the study of the degradation of TBZ by UV radiation, in order to know if the photo-degradation takes place and obtain the reaction kinetics. Taking into account the pH values of most fruit juices (Falguera et al., 2012; Koutchma, 2009), the pH range studied was set between 3 and 5.

## 2. Material and methods

### 2.1. Irradiation model

When a solution is irradiated with an electromagnetic radiation, part of the power emitted by the lamp reaches the surface of the solution and only a part of this can be absorbed. Only a fraction of the absorbed radiation can cause any reaction. This fraction being the quantum yield of the total absorbed radiation, as the ratio between the number of molecules reacted over the number of photons absorbed. In fact, if the emission and absorption spectra did not match for any wavelength, the incident radiation on the surface of the solution would not be absorbed at all. Even in the case when some radiation were absorbed, no reaction would take place if the quantum yield of the specific reaction were nil. Thus, the incident radiation is not related to the reaction and therefore, in order to be able to estimate the quantum yield of the reaction, the absorbed radiation must be considered instead of the incident one.

Considering the Lambert–Beer's law, the  $e$ -base absorbance, a plane photo-reactor with a cylindrical lamp (Fig. 1) and a linear spherical emission model, Ibarz et al. (2014) and Garvín, Ibarz, and Ibarz (2015) obtained the following equations (each parameter is shown in Figs. 1–2 and/or defined below in the nomenclature section):

- a.- The incident spectral radiant power reaching a specific point inside the solution:

$$P(x, y, z) = \sum_{\lambda} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{emit,\lambda}/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) dy_L \quad (1)$$

- b.- The incident spectral radiant power for a specific depth ( $z$ ) of the reactor is obtained by integrating Eq. (1) for all the  $x$  and  $y$  values for the specific  $z$  value:

$$P(z) = \sum_{\lambda} \frac{P_{emit,\lambda}/L}{4\pi} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{e^{-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}}}{D^2} dy_L dy dx \quad (2)$$

The values of  $P(z)$  for  $z = 0$  and  $z = C$  are the incident radiation power on the surface ( $P(0)$ ) and at the bottom of the reactor ( $P(C)$ ), respectively.

- c.- Spectral radiant power absorbed

- c1.- In the case of diluted solutions, when the values of  $\mu_{\lambda}$  are low ( $\mu_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot C$ ), the spectral radiant power absorbed per volume unit can be calculated using the following simplified equation:

$$P_{abs} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{emit,\lambda}/L}{4\pi D^2} \exp\left(-\mu_{\lambda} \frac{z}{\sin \beta}\right) \mu_{\lambda} \frac{dz}{\sin \beta} dy_L dx dy dz \quad (3)$$

- c2.- For any concentration, particularly for high concentration values, when the values of  $\mu_{\lambda}$  are high, the spectral radiant power absorbed per volume unit has to be evaluated without any simplification. According to Garvín et al. (2015), in order to facilitate the solution, it is useful to divide the reactor into a number of layers  $n$  (Fig. 2):

$$P_{abs} = \frac{1}{V} \sum_{\lambda} \sum_{i(z)=1}^{i(z)=n} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_{emit,\lambda}/L}{4\pi D^2} dy_L \left[ e^{-\mu_{\lambda} D_{i-1}} - e^{-\mu_{\lambda} (D-D_0)} \right] dx dy \quad (4)$$

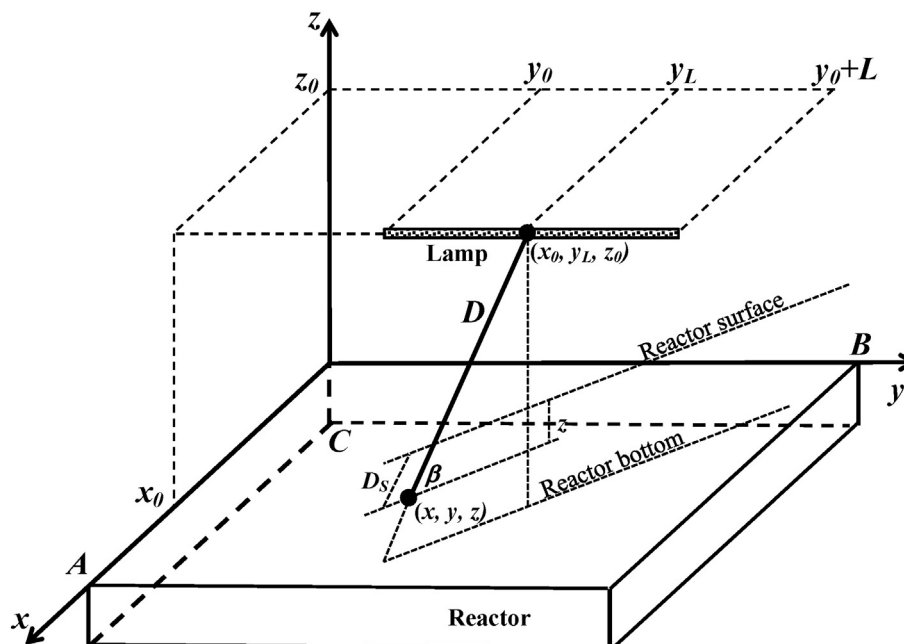


Fig. 1. Plane photoreactor scheme.

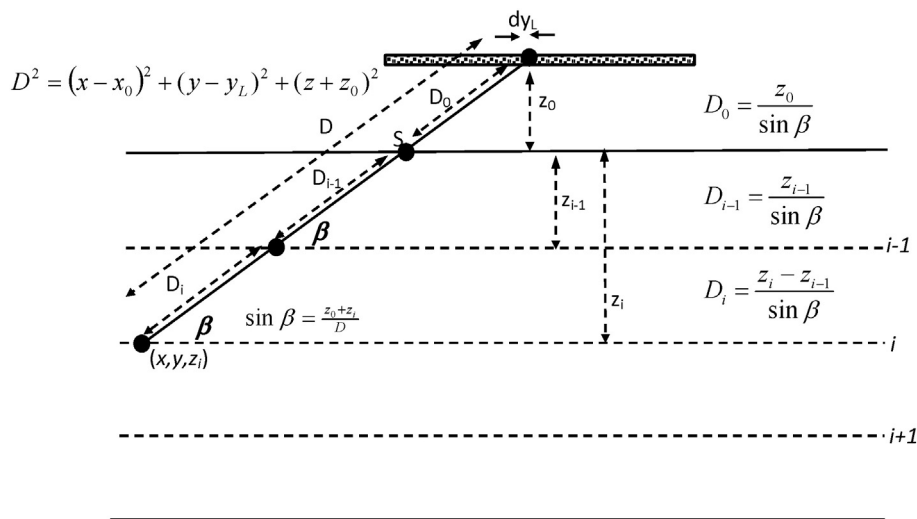


Fig. 2. Scheme of a plane photoreactor divided into layers.

Eqs. (1) to (4) need to be calculated for each concentration value (or absorption coefficient,  $\mu_\lambda$ ) using numerical methods. In this case, the Simpson method was used.

### 2.2. Thiabendazole photo-degradation kinetics

In order to obtain kinetic models describing the variation of TBZ with the irradiation time, the following three-stage mechanism of degradation is proposed (Ibarz et al., 2014 & 2015):



The degradation mechanism proposed consists of the formation of an excited intermediate TBZ molecule ( $TBZ^*$ ) that can decay to its previous fundamental state or can react toward the photo-products.  $P_{abs}$  is the total spectral radiant power absorbed by the TBZ solution per volume unit, the units being Einsteins (mols of photons) per unit of volume and time.

Considering a pseudo steady state for the excited intermediate  $TBZ^*$ , the intensive reaction rate can be expressed as:

$$r_{TBZ} = -K_{TBZ} \cdot P_{abs} \tag{5}$$

$K_{TBZ}$  being:

$$K_{TBZ} = \frac{k}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \tag{6}$$

From Eq. (6) and taking into account that  $k_D$  is the kinetic constant of the decay of the excited molecule to its fundamental stage and  $k$  is the kinetic constant of the degradation of the excited molecule to photo-products, the  $K_{TBZ}$  constant represents the quantum yield of the absorbed radiation.

If the irradiation process is performed in a stirred reactor of volume  $V$ , working on a batch process, by combining the mass balance for TBZ and Eq. (5), the next equation is obtained:

$$\frac{dC_{TBZ}}{dt} = -K_{TBZ} P_{abs} \tag{7}$$

In order to solve Eq. (7), the relation between  $P_{abs}$  and TBZ concentration needs to be known. If  $P_{abs}$  depended linearly on the concentration of the absorbing substance, a first-order kinetics would be obtained:

$$P_{abs} = k_R C_{TBZ} \tag{8}$$

$$C_{TBZ} = C_{TBZ}^0 \cdot \exp(-m_{TBZ} \cdot t); \quad m_{TBZ} = K_{TBZ} \cdot k_R \tag{9}$$

This linear relation can be expected for low concentration values (and thus low absorption coefficients) (Garvín et al., 2015), when the radiation that enters the solution is not totally absorbed because of the low presence of absorber molecules.

If  $P_{abs}$  did not depend on the absorber substance concentration,  $P_{abs}$  would be constant and a zero-order kinetics would be obtained:

$$P_{abs} = k_R \tag{10}$$

$$C_{TBZ} = C_{TBZ}^0 - m_{TBZ} \cdot t \quad ; \quad m_{TBZ} = K_{TBZ} \cdot k_R \tag{11}$$

This constant behaviour can be expected for high concentration values (and thus high absorption coefficients) (Garvín et al., 2015), when all the radiation that reaches the surface of the reactor is totally absorbed. In this case,  $P_{abs}$  coincides with the incident radiant power on the surface of the reactor ( $P(0)$ ). The concentration value that can be considered high enough depends on the emitting lamp, the geometry of the reactor and the absorption spectrum of the specific absorber substance.

For concentration ranges between the limits considered above, a curve relationship is expected. For narrow ranges, the curve could be approximated to a straight line with a non-zero origin ordinate, leading to a pseudo-first-order kinetics.

$$P_{abs} = a + b C_{TBZ} \tag{12}$$

$$\ln\left(\frac{a+b \cdot C_{\text{TBZ}}^0}{a+b \cdot C_{\text{TBZ}}}\right) = b \cdot K_{\text{TBZ}} \cdot t; \quad C_{\text{TBZ}}$$

$$= -\frac{a}{b} + \left(\frac{a}{b} + C_{\text{TBZ}}^0\right) \exp(-bK_{\text{TBZ}} \cdot t). \quad (13)$$

For these intermediate concentrations, if the origin ordinate  $a$  were much higher than the slope  $b$ ,  $P_{\text{abs}}$  would be almost constant and a zero-order kinetics could also show good regression coefficients.

All values of  $k_R$  in Eqs. (8) and (10) and the couple values  $a$  and  $b$  in Eq. (12) have to be constant within each range of concentrations studied.

### 2.3. Preparation of samples

Aqueous solutions of TBZ (Sigma Aldrich, China) were prepared at concentrations of 10 mg/L and different pH values: 3, 4 and 5. TBZ was dissolved previously in 25 mL of methanol and then diluted to 1 L with the corresponding phosphate/citric acid buffer solution (McIlvaine).

### 2.4. Irradiation of samples

The irradiation of each 10-mg/L TBZ solution was performed in an installation consisting of a black chamber containing the reactor and the lamp. The solution inside the reactor was mixed using a magnetic stirrer. The working temperatures (8, 15, 25, 35 and 45 °C ± 1 °C) were maintained in the reactor with a refrigerant coil. A mid-pressure mercury lamp Philips HPM 12 (Philips, The Netherlands) with a 460-W nominal power was used, emitting in a wavelength range of 255–735 nm (Fig. 3). In order to ensure a constant UV emission, the lamp was turned on 10 min before placing the samples to be irradiated. Eight hundred milliliter of the solution to be irradiated were placed in a 12.5 × 10.5 × 10 cm methacrylate reactor, achieving a depth of 6.1 cm. The lamp was centred 23.9 cm above the surface of the reactor.

### 2.5. Actinometry

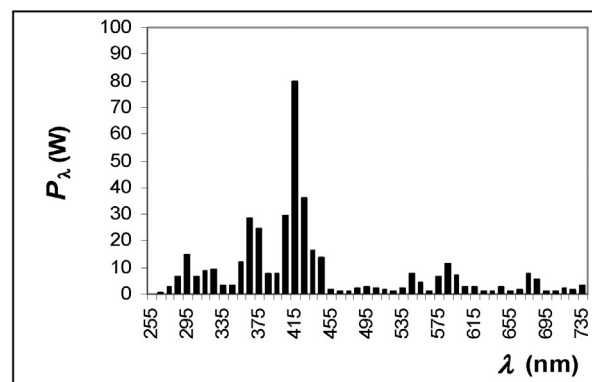
The radiation emitted by the lamp is usually significantly lower than the nominal rating from the supplier. Moreover this value tends to fall the longer the lamp is used. The real power emitted by the lamp can be obtained by actinometry (Burrows & Kemp, 1974). This consists of monitoring a well-known photo-chemical reaction, in this case, the photo-decomposition of oxalic acid in the presence of uranyl cation was used. Oxalic acid 2-hydrate, uranyl nitrate and potassium permanganate (Panreac, Spain) were used. 800 mL of the oxalic acid 0.05 M/uranyl nitrate 0.001 M were irradiated for 15 min at 25 °C in the installation described above. The oxalic acid content was quantified by titrating with KMnO<sub>4</sub> 0.05M. The oxalic acid conversion in function of time was fitted to a straight line and the slope value was used to calculate the real power of the lamp according to Ibarz and Pagán (1986).

### 2.6. Absorption spectra

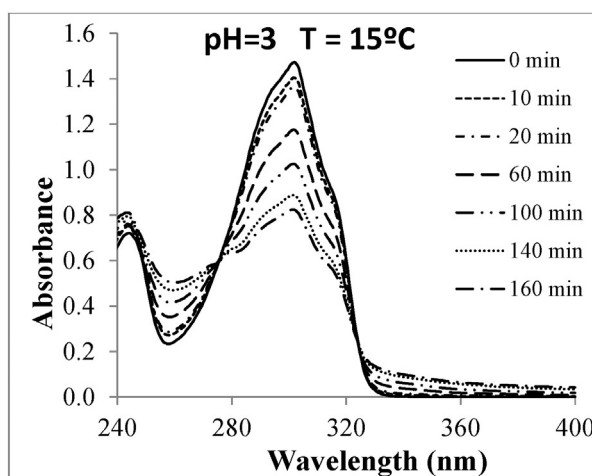
The absorption spectra were obtained for 10-mg/L TBZ solutions in a Helios Omega (Termo Fisher Scientific, Waltham, USA) spectrophotometer, using a 1-cm wide quartz cell and scanning all the wavelengths from 200 to 600 nm.

### 2.7. Determination of TBZ by HPLC chromatography

The TBZ content was determined by HPLC (Boeris, Arancibia, & Olivieri, 2014; Veneziano, Vacca, Arana, De Simone, & Rastrelli, 2004) using a 1260 Infinity HPLC chromatograph, a DAD detector at 301 nm and a Zorbax Eclipse Plus C18 4.6 × 100 mm 3.5 μm column (Agilent Technologies, USA). The mobile phase was ultrapure water and acetonitrile (Applichem, Germany) 80/20 mix with a flow rate of 1.5 mL · min<sup>-1</sup>. Three-microliter samples were injected after being filtered with a 0.45 μm filter Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Germany).



(a)



(b)

Fig. 3. (a) Emission spectrum for HPM 12 mercury lamp. (b) Evolution of thiabendazole absorption spectrum with irradiation time, at pH = 3 and 15 °C.

### 2.8. pH

pH values were obtained using a pH-meter Crison micropH 2000 (Crison Instruments, S.A., Alella, Spain).

### 2.9. Statistical analysis

All the UV radiation treatments and the sample analysis were carried out in duplicate. The experimental results were fitted to different kinetic (zero-, first- and pseudo-first-order) and mathematical models (Eqs. 8, 10 and 12) by linear regressions with a 95% significance level, using the Microsoft Office Excel (Microsoft, Co., USA, v. 2010) statistic data processing software.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Absorption spectrum

Fig. 3a shows the emission spectrum of the lamp used and Fig. 3b shows the evolution of the absorption spectra of a solution with an initial TBZ concentration of 10 mg/L. All these absorption spectra were obtained at pH 3 and 15 °C and showed absorption in the range of wavelengths between 240 and 340 nm, with a maximum absorption peak around 301 nm. The absorption spectra for the initial TBZ concentration of 10 mg/L were also obtained for pH 4 and 5, matching the absorption

**Table 1**

Energy emitted by lamp, molar extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) of TBZ and absorption coefficients of aqueous solutions of TBZ for 10 mg·L<sup>-1</sup>, at different wavelengths.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ (L·mol <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	$\mu_\lambda$ (cm <sup>-1</sup> )	$P_{emit,\lambda}$ (W)
255	11014.5	0.547	0.179
265	12682.7	0.630	0.358
275	21679.4	1.077	2.058
285	36965.7	1.837	5.190
295	49752.9	2.472	12.170
305	47820.1	2.376	5.369
315	30559.3	1.518	7.158
325	5751.0	0.286	7.606
335	243.4	0.012	2.505

spectrum for pH 3. Therefore, the UV absorption does not depend on the pH value in the range 3–5.

Comparing the emission and absorption spectra, it can be seen that within a range between 255 and 335 nm the radiation emitted by the lamp can be absorbed by TBZ.

Table 1 shows the extinction coefficients ( $\epsilon_\lambda$ ) for each wavelength obtained from the data corresponding to the initial solution in Fig. 3b applying the Lambert–Beer equation. It also shows the absorption coefficient ( $\mu_\lambda$ ) for a 10-mg/L TBZ solution and the power emitted by the lamp ( $P_{emit,\lambda}$ ) at each wavelength within the considered range.

### 3.2. Actinometry

The actinometry showed a lamp real emission power of  $1.38 \cdot 10^{-3}$  Einstein/s.

### 3.3. Dependence of $P_{abs}$ on the TBZ content

The simplified Eq. 3 can be used to calculate an estimated value of  $P_{abs}$  for low absorption coefficient values while the non-simplified Eq. 4 has to be used for high absorption coefficient values. Fig. 4 shows the  $P_{abs}$  estimated using both equations as a function of the TBZ concentration. It can be seen that the results obtained from both equations coincide for TBZ concentrations below 10 mg/L and diverge above this value. Although values above this limit are not considered, all the values of  $P_{abs}$  considered hereafter in the study of their dependence on the TBZ concentration were obtained from the non-simplified Eq. 4. It also can be seen that  $P_{abs}$  tends asymptotically to the incident radiation on the surface of the reactor ( $P(0)$ ), as previously reported by Garvín et al. (2015).  $P_{abs}$  was 0.627 W ( $4.78 \cdot 10^{-3}$  W·cm<sup>-2</sup>) for a TBZ concentration of 10 mg/L.

Although Fig. 4 shows clearly that the relation between  $P_{abs}$  and the TBZ concentration is a curve that rises asymptotically towards the

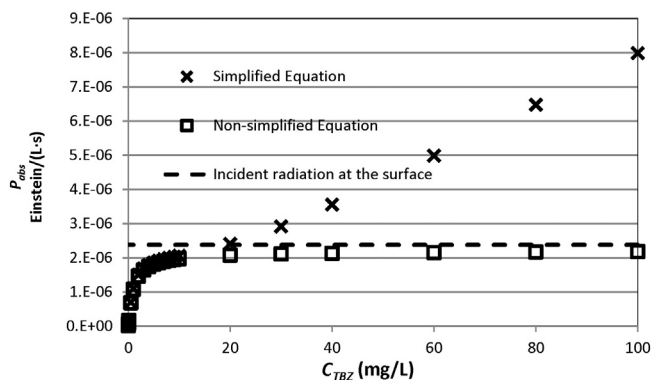


Fig. 4. Spectral radiant power absorbed as a function of the TBZ concentration using the simplified and the non-simplified equations.

incident radiation at the surface of the reactor, a straight line could be fitted for narrow ranges of concentration. For very low concentration values, below 1 mg/L, a linear relationship passing through the origin can be fitted. As this case is described by Eq. 8, a first-order kinetic model could be expected for very low concentration values.

From 3 to 10 mg·L<sup>-1</sup> a linear relationship can also be fitted (Fig. 5), but in this case, a non-zero origin ordinate is obtained with an  $R^2$  value of 0.9933. Eq. 11 describes this relationship and therefore a pseudo-first-order kinetic model could be expected. Table 2 shows the parameters of fittings obtained in this case. It is worth remarking that the origin ordinate value obtained ( $1.563 \cdot 10^{-6}$ ) is much higher than the slope value ( $4.468 \cdot 10^{-8}$ ). As a consequence,  $P_{abs}$  only varies from  $1.65 \cdot 10^{-6}$  to  $1.98 \cdot 10^{-6}$  E·L<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>, for 3 and 10 mg·L<sup>-1</sup>, respectively. Therefore,  $P_{abs}$  could be considered constant for this range of TBZ concentrations, the arithmetic mean value being  $1.85 \cdot 10^{-6}$  E·L<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>. Taking into account this almost constant value,  $P_{abs}$  follows Eq. 10 and a zero-order kinetic model should also fit well the experimental data. The constant value to be considered should be the arithmetic mean of  $P_{abs}$  within this range. Table 2 also shows the constant value of  $P_{abs}$  for the range of TBZ concentrations from 3 to 10 mg/L.

Fig. 6 shows how the ratio between the absorbed radiation and the incident radiation on the surface of the reactor for a 10-mg/L TBZ solution varies with depth, increasing asymptotically when the depth of the reactor is increased. For this concentration, the absorbed radiation cannot reach values over 80% of the incident radiation on the surface, regardless of the depth of the reactor. The higher the concentration the higher fraction of the incident radiation would be absorbed. If the reactor is deep enough for each specific TBZ concentration, a further increase in depth will not lead to any increase in the absorbed radiation. The beams that follow paths exiting by the upper area of the lateral surfaces of the reactor would only be totally absorbed if the TBZ concentration were high enough. The reactor depth needed for the absorbed radiation to reach 50% of the incident radiation at the reactor surface is around 0.5 cm, contradicting the established preconception that the radiation only reaches the surface. Obviously, the penetration depth depends on the absorption coefficient (Garvín et al., 2015), which depends on the absorber concentration ( $\mu_\lambda = \epsilon_\lambda \cdot C$ ). Anyway, whatever the absorber concentration, the radiation can reach any absorber molecule inside the solution if the solution is stirred.

Fig. 7 shows the incident radiation reaching the surface ( $P(0)$ ) and bottom ( $P(C)$ ) of the reactor depending on the other coordinates for a TBZ solution of 10 mg/L. Obviously, the higher incident radiation takes place at the centre of the reactor for any surface, as it is closer to the lamp. Due to the absorption of a fraction of the incident radiation, the power reaching the bottom ( $4.12 \cdot 10^{-2}$  W or  $3.14 \cdot 10^{-4}$  W·cm<sup>-2</sup>) is noticeably lower (5.5%) than the power reaching the surface 0.748 W ( $5.70 \cdot 10^{-3}$  W·cm<sup>-2</sup>). The difference is mainly absorbed, thus allowing photo-reaction, although a small proportion corresponds to radiation that exits the reactor by the lateral surfaces without reaching the bottom of the reactor.

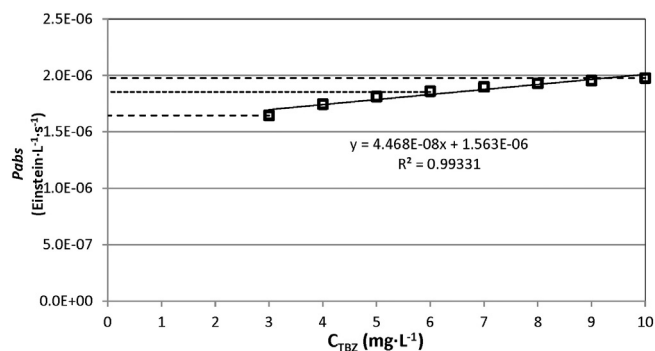


Fig. 5. Total spectral radiant power absorbed by the solution ( $P_{abs}$ ) between 3 and 10 mg·L<sup>-1</sup> of TBZ.



**Table 2**  
Fitted parameters for the relation between  $P_{abs}$  and the TBZ concentration.

$C_{TBZ}$ Range ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Equation	Kinetic model	Parameters	$R^2$
3–10	$P_{abs} = a + bC_{TBZ}$	Pseudo-first-order	$a = 1.56 \cdot 10^{-6} \text{ E}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ $b = 4.47 \cdot 10^{-8} \text{ E}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	0.9933
	$P_{abs} = k_R$	Zero-order	$k_R = 1.85 \cdot 10^{-6} \text{ E}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	–

### 3.4. Photo-degradation

Fig. 3b shows the evolution of the absorption spectra for a 10-mg/L TBZ aqueous solution at pH 3 and 15 °C. This evolution is similar for the rest of pH and temperature values within the ranges studied. In all cases, as the irradiation time lengthens, the maximum peak at 301 nm decreases, indicating a decrease in the TBZ content due to the photo-degradation reaction.

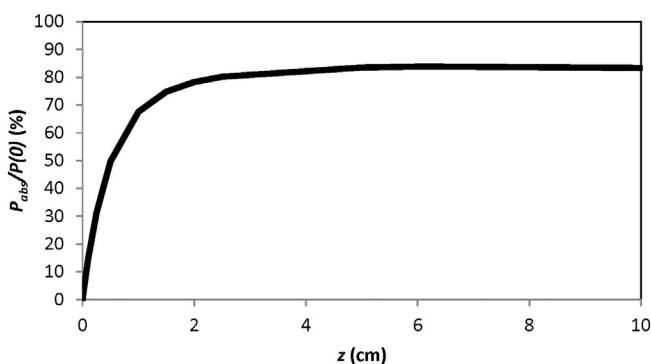
Fig. 8 shows the evolution of the relative concentration ( $C/C_0$ ) at pH 3 and all the temperatures tested. It can be seen that the higher the temperature, the faster the TBZ photo-degradation rate. While the TBZ content is reduced to the 53% of its initial value after 160 min at 8 °C, at 45 °C, the final content is only 21% of the initial value. In all cases, the final TBZ concentration is higher than 3 mg/L (Fig. 8). Thus, the range of study of the TBZ concentration could be reduced to 3–10 mg/L. The values obtained for pH 4 and 5 are similar: at pH 4, the content is reduced to 49% and 5% at 8 and 45 °C, respectively; and at pH 5, the content is reduced to 51% and 19% at 8 and 45 °C, respectively. From these values, it can be seen that the optimum for the ranges studied takes place at 45 °C and pH 4. Although the temperature increases the photo-degradation rate, it does not make any sense to increase this value above 45 °C in order to avoid undesired organoleptic and nutritional changes when the TBZ is present in a fruit juice.

The experimental data obtained for pH 3, 4 and 5 and temperatures of 8, 15, 25, 35 and 45 °C were fitted to the kinetic models proposed in the introduction.

### 4. Zero-order kinetics

As stated above, for the range from 3 to 10 mg/L,  $P_{abs}$  can be considered constant with a value of  $1.85 \cdot 10^{-6} \text{ E}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  (Table 2), which should match a zero order-kinetics. Experimental data were fitted to Eq. 11. Table 3 shows the parameters of these fittings, showing that for a same pH value the zero-order kinetic constant ( $m_{TBZ}$ ) increases when the temperature does. The increase in pH value seems to decrease in rate for temperatures of 8 and 15 °C, but shows maximum rates at pH 4 for temperatures between 25 and 45 °C.

Considering  $k_R = 1.85 \cdot 10^{-6} \text{ E}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ , the quantum yields ( $K_{TBZ}$ ) were calculated and included in Table 3. From Eq. 6, the ratio  $k_D/k$  was

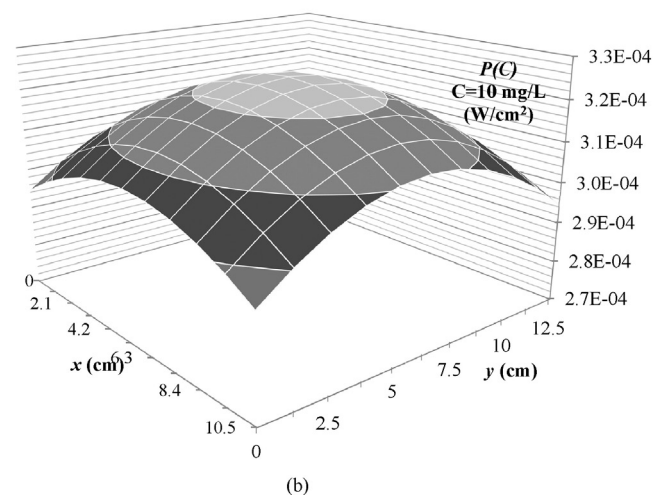
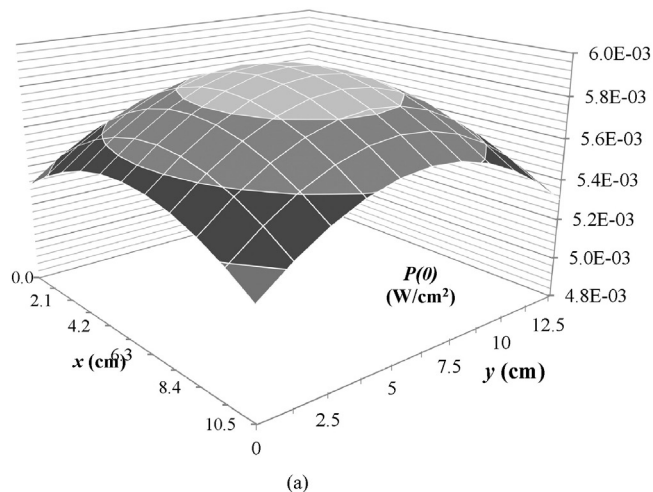


**Fig. 6.** Dependence of the ratio absorbed/incident radiation on the depth for a TBZ solution of  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

also calculated, showing values that are always higher than unity, i.e. the decay stage is faster than the production of photo-product stage. As this value decreases with temperature, the formation of photo-products is favoured by the increase in the temperature.

### 5. Pseudo-first-order kinetics

As stated above from Fig. 5, the relation between  $P_{abs}$  and the concentration of TBZ was fitted to a straight line with non-zero origin ordinate, matching a pseudo-first-order kinetics (Eq. 13). Table 4 shows the fitting parameters. The kinetic global constant ( $b \cdot K_{TBZ}$ ) increases when the temperature is also increased, as expected for any kinetic model, particularly also with the zero-order kinetics tested above. From the value  $b$  shown in Table 2,  $K_{TBZ}$  the ratio  $k_D/k$  were calculated. The values of  $K_{TBZ}$  and  $k_D/k$  obtained considering either zero-order (Table 3) or pseudo-first-order kinetics (Table 4) are very similar, as was expected considering that both parameters should depend only on the reaction



**Fig. 7.** Incident spectral radiant power on the surface of the photo-reactor ( $P(0)$ ) at the bottom of the photo-reactor ( $P(C)$ ). b was obtained for  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  TBZ solution.

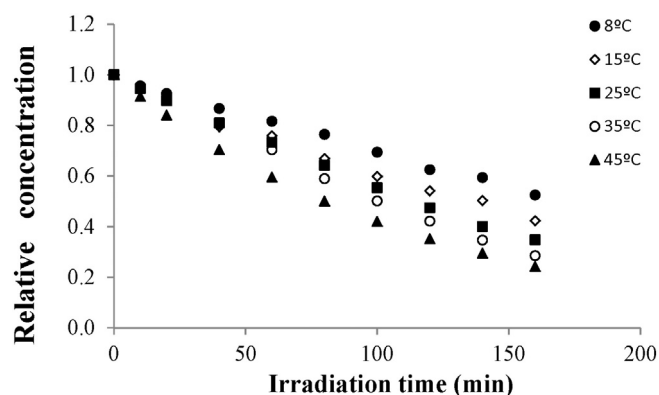


Fig. 8. Evolution of relative concentration of TBZ with irradiation time at pH = 3 and different temperatures.

mechanism and not on the relation considered for  $P_{abs}$  and the concentration of TBZ. The values being similar, the tendencies of these values with temperature and pH are the same as the ones found for zero-order kinetics.

## 6. First-order kinetics

As stated from Fig. 4, the relation between  $P_{abs}$  and the concentration of TBZ can only be considered as linear with a zero-origin ordinate for very low values of the TBZ concentration (below 1 mg/L). This mathematical relation matches a first-order kinetic model (Eq. 9). Even though the TBZ concentration found in most samples showed values above 1 mg/L, the first-order kinetic was also considered in order to compare with other future studies with lower concentrations of TBZ but also due to its simplicity.

Table 5 shows the parameters of fittings to a first-order kinetic model. The tendency of the global kinetic constant ( $m_{TBZ}$ ) also shows an increase with the temperature and better values for pH 4. In this case, as a zero-origin-ordinate linear relation between  $P_{abs}$  and the concentration of TBZ was not found for the range of TBZ concentrations, the parameters of fittings could not be used to calculate the values of  $K_{TBZ}$  and  $k_D/k$ .

## 7. Conclusions

The treatment consisting of UV radiation causes the photo-degradation of TBZ in an aqueous solution and this reaction can be described as zero-, pseudo-first- and first-order kinetics. A reaction

Table 4

Parameters of fittings to pseudo-first-order kinetics for TBZ solutions at different pH and temperatures

pH	T (°C)	Intercept	$b \cdot K_{TBZ} \cdot 10^5$ ( $s^{-1}$ )	$K_{TBZ} \cdot 10^3$ (mol/E)	$k_D/k$	R <sup>2</sup>
3	8	0.002 ± 0.001	1.50 ± 0.02	1.67	598	0.9973
	15	0.007 ± 0.006	1.72 ± 0.03	1.91	523	0.9923
	25	0.003 ± 0.002	2.03 ± 0.01	2.26	441	0.9985
	35	0.000 ± 0.000	2.23 ± 0.02	2.48	402	0.9962
	45	0.014 ± 0.015	2.35 ± 0.04	2.61	382	0.9907
4	8	0.003 ± 0.002	1.15 ± 0.02	1.28	781	0.9973
	15	0.004 ± 0.004	1.67 ± 0.01	1.85	539	0.9977
	25	0.011 ± 0.009	2.65 ± 0.05	2.95	338	0.9905
	35	0.013 ± 0.014	2.80 ± 0.04	3.11	320	0.9918
	45	0.026 ± 0.028	2.85 ± 0.07	3.17	315	0.9697
5	8	0.000 ± 0.000	1.12 ± 0.01	1.24	804	0.9999
	15	0.001 ± 0.001	1.32 ± 0.01	1.46	682	0.9998
	25	0.002 ± 0.001	1.95 ± 0.02	2.17	460	0.9994
	35	0.003 ± 0.003	2.32 ± 0.02	2.58	387	0.9994
	45	0.005 ± 0.004	2.60 ± 0.03	2.89	345	0.9984

mechanism consisting of the formation of an excited intermediate TBZ molecule that can later decay to its previous fundamental state or can react toward the photo-products matches the three kinetic models that fit the experimental results well.

The greater the temperature, the faster the photo-degradation, and pH 4 is the optimum value between 3 and 5, especially at temperatures between 25 and 45 °C. The decay stage of the excited intermediate is faster than the reaction towards photo-products, although this latter reaction is favoured by an increase in the temperature and for pH 4.

## Nomenclature

- a Origin ordinate resulting from the linear regression between  $P_{abs}$  and  $C_{TBZ}$  data
- b Slope resulting from the linear regression between  $P_{abs}$  and  $C_{TBZ}$  data
- A Reactor dimension on the x axis
- B Reactor dimension on the y axis
- C Reactor dimension on the z axis
- $C_{TBZ}$  TBZ concentration
- $C_{TBZ}^0$  Initial TBZ concentration
- D Radius of the sphere defined by both the emitting lamp point as the sphere's centre and the considered solution point.
- $D_0$  Radius of the sphere defined by considering the emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection of the beam with the reactor surface on its way from the lamp to the considered point (x, y, z)

Table 3

Parameters of fittings to zero-order kinetics for TBZ solutions at different pH and temperatures

pH	T (°C)	Intercept	$m_{TBZ} \cdot 10^9$ ( $mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ )	$K_{TBZ} \cdot 10^3$ (mol/E)	$k_D/k$	R <sup>2</sup>
3	8	0.989 ± 0.012	3.43 ± 0.06	1.85	540	0.9972
	15	0.968 ± 0.029	3.76 ± 0.11	2.03	491	0.9890
	25	0.983 ± 0.022	4.38 ± 0.08	2.37	422	0.9967
	35	0.992 ± 0.008	4.77 ± 0.09	2.58	387	0.9934
	45	0.937 ± 0.063	4.88 ± 0.14	2.64	379	0.9843
4	8	0.983 ± 0.023	2.39 ± 0.07	1.29	775	0.9958
	15	0.978 ± 0.019	3.47 ± 0.05	1.87	534	0.9955
	25	0.946 ± 0.025	5.44 ± 0.08	2.94	340	0.9833
	35	0.937 ± 0.018	5.74 ± 0.06	3.10	322	0.9840
	45	0.889 ± 0.066	5.80 ± 0.17	3.13	319	0.9570
5	8	0.955 ± 0.058	2.31 ± 0.19	1.24	802	0.9995
	15	0.992 ± 0.017	2.79 ± 0.16	1.51	663	0.9991
	25	0.985 ± 0.038	4.27 ± 0.21	2.31	433	0.9976
	35	0.982 ± 0.038	5.06 ± 0.12	2.73	365	0.9808
	45	0.971 ± 0.047	5.52 ± 0.23	2.98	335	0.9705

Table 5

Parameters of fittings to first-order kinetics for TBZ solutions at different pH and temperatures.

pH	T (°C)	Intercept	$m_{TBZ} \cdot 10^5$ ( $s^{-1}$ )	R <sup>2</sup>
3	8	1.010 ± 0.011	6.48 ± 0.12	0.9918
	15	0.999 ± 0.007	8.53 ± 0.08	0.9943
	25	1.038 ± 0.015	10.97 ± 0.18	0.9916
	35	1.068 ± 0.070	13.12 ± 0.22	0.9905
	45	1.034 ± 0.028	16.02 ± 0.02	0.9917
4	8	1.007 ± 0.008	7.28 ± 0.03	0.9986
	15	1.031 ± 0.026	10.70 ± 0.13	0.9899
	25	1.113 ± 0.089	20.93 ± 0.11	0.9792
	35	1.144 ± 0.158	23.10 ± 0.27	0.9590
	45	1.192 ± 0.221	31.00 ± 0.09	0.9662
5	8	1.019 ± 0.035	6.95 ± 0.11	0.9951
	15	1.020 ± 0.034	7.53 ± 0.24	0.9952
	25	1.031 ± 0.021	9.93 ± 0.17	0.9924
	35	1.049 ± 0.018	12.10 ± 0.03	0.9882
	45	1.085 ± 0.032	16.25 ± 0.06	0.9779

$D_{i-1}$	Radius of the sphere defined by considering the emitting lamp point as the centre of the sphere and the point obtained as the intersection at the depth $z_{i-1}$ of the beam on its way from the lamp to the considered point $(x,y,z_i)$ .
$D_S$	Path length of light through the solution
TBZ	TBZ molecule
TBZ*	Excited TBZ molecule
$k_D$	Kinetic constant for the decay step
$k$	Kinetic constant for the photo-product formation step
$K_{TBZ}$	Kinetic constant for the global photo-degradation reaction (Quantum yield)
$k_R$	Constant in the relation between $P_{abs}$ and $C_{TBZ}$
$L$	Lamp length
$m_{TBZ}$	Global constant in the relation between $C_{TBZ}$ and time
$n$	Number of layers the reactor is divided into for evaluating Eq. 4
$P(z)$	Incident spectral radiant power for a specific depth in the reactor for this whole surface
$P(0)$	Incident spectral radiant power on the surface of the reactor for this whole surface
$P(C)$	Incident spectral radiant power at the bottom of the reactor for this whole surface
$P_{abs}$	Total spectral radiant power absorbed by the whole solution and the whole lamp per volume unit
$P_{emit,\lambda}$	Total energy emitted by the whole lamp at wavelength $\lambda$
$r_{TBZ}$	Intensive reaction rate for TBZ degradation
$t$	Irradiation time
$V$	Reaction volume
$x$	Position on the $x$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$y$	Position on the $y$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$y_0$	Lamp starting point position on the $y$ axis
$y_L$	Coordinate that defines each specific point of the lamp
$z$	Position on the $z$ axis for the point inside the solution where the absorption energy is considered
$\beta$	Angle defined by both the emitting point in the lamp and the solution point receiving the radiation
$\varepsilon_\lambda$	Molar extinction coefficient at wavelength $\lambda$
$\mu_\lambda$	Absorption coefficient at wavelength $\lambda$

## Acknowledgments

The authors kindly thank the University of Lleida (Catalonia) for the funding received in the TR265/2015 project.

## References

- Aguilar, K., Ibarz, R., Garvín, A., & Ibarz, A. (2016). Effect of UV-Vis irradiation on enzymatic activities and the physicochemical properties of nectarine juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 969–977.
- Bedendo, G. C., Jardim, I. C., & Carasek, E. (2012). Multiresidue determination of pesticides in industrial and fresh orange juice by hollow fiber microporous membrane liquid-

- liquid extraction and detection by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 88, 573–580.
- Boeris, V., Arancibia, J. A., & Olivieri, A. C. (2014). Determination of five pesticides in juice, fruit and vegetable samples by means of liquid chromatography combined with multivariate curve resolution. *Analytica Chimica Acta*, 814, 23–30.
- Bolong, N., Ismail, A. F., Salim, M. R., & Matsuura, T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 238(1–3), 229–246.
- Burrows, H. D., & Kemp, T. J. (1974). The photochemistry of the uranyl ion. *Chemical Society Reviews*, 13, 139–165.
- Crini, G. (2006). Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*, 97, 1061–1085.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2011). The 2009 European Union report on pesticides residues in foods. *EFSA Journal*, 9(11), 2430.
- EPA (2002). U.S. Environmental Protection Agency. Pesticides EPA-738-R-02-011. Environmental Protection and Toxic Substances. July 31, 2002. Agency (7508C). *Reregistration Eligibility Decision (RED) Benomyl*.
- EPA (2015). U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA: *Pesticides* (Available at: <http://www.epa.gov/pesticides/> (accessed: 06/01/2015)).
- Falguera, V., Pagán, J., & Ibarz, A. (2011). Effect of UV radiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 115–119.
- Falguera, V., Sánchez-Riaño, A. M., Quintero-Cerón, J. P., Rivera-Barrero, C. A., Méndez-Arteaga, J. J., & Ibarz, A. (2012). Characterization of polyphenol oxidase activity in juices from 12 underutilized tropical fruits with high agroindustrial potential. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2921–2927.
- Farrow, J. E., Hoodless, R. A., Sargent, M., & Sidwell, J. A. (1977). Fungicides residues. Part VI. Determination of residues of post-harvest fungicides in citrus fruit by HPLC. *Analyst*, 102, 752–758.
- Garvín, A., Ibarz, R., & Ibarz, A. (2015). Modelling of UV absorption in a plane photoreactor for solutions with high-patulin concentration. *Food Research International*, 69, 266–273.
- Ibarz, A., & Pagán, J. (1986). Calidad de una lámpara para tratamientos de contaminantes en alimentos en líquidos. *Alimentaria*, 174, 53–58.
- Ibarz, R., Garvín, A., Azuara, E., & Ibarz, A. (2015). Modelling of ochratoxin A photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 385–392.
- Ibarz, R., Garvín, A., Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., & Ibarz, A. (2014). Modelling of patulin photo-degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *Food Research International*, 66, 158–166.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138–155.
- Mestres, R., Tourte, J., & Campo, M. (1972). Residus de pesticides. XXIII. Recherche et dosage du thiabendazole dans les agrumes et les bananes. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique*, 703, 315–321.
- Montforts, M. H. (2006). Assessment of persistency and bioaccumulation in pesticide registration frameworks within the Organization for Economic Cooperation and Development. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2(1), 13–21.
- Norman, S. M., Fouse, D. C., & Craft, C. C. (1972). Thiabendazole residues on and in citrus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(6), 1227–1230.
- Papadopoulou-Mourkidou, E. (1991). Post-harvest-applied agrichemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. *Journal of the Association of Official Chemists*, 74, 745–765.
- Roca-Jalil, M. E., Baschini, M., Rodríguez-Castellón, E., Infantes-Molina, A., & Sapag, K. (2014). Effect of the Al/clay ratio on the thiabendazole removal by aluminum pillared clays. *Applied Clay Science*, 87, 245–252.
- Sánchez-Pérez, J. A., Carra, I., Sirtori, C., Agüera, A., & Esteban, B. (2014). Fate of thiabendazole through the treatment of a simulated agro-food industrial effluent by combined MBR/Fenton processes at  $\mu\text{g/L}$  scale. *Water Research*, 51, 55–63.
- Veneziano, A., Vacca, G., Arana, S., De Simone, F., & Rastrelli, L. (2004). Determination of carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl in banana (*Musa acuminata*) samples imported to Italy. *Food Chemistry*, 87, 383–386.
- Zbozinek, J. V. (1984). Environmental transformations of DPA, SOOP, benomyl and thiabendazole. *Residue Reviews*, 92, 113–155.

---

# *Modelización cinética de la degradación fotoquímica de benomilo*

**Raquel Ibarz, Alfonso Garvín, Jordi Pagán, Albert Ibarz\***  
Departament de Tecnologia d'Aliments, XaRTA-UTPV. Agrotecnio Center,  
Universitat de Lleida. Av. Rovira Roure, 191. 25198 Lleida (Spain)

---

*Kinetic modeling of photochemical degradation of benomyl*

*Modelització cinètica de la degradació fotoquímica de benomil*

*Recibido: 23 de junio de 2014; aceptado: 12 de diciembre de 2014*

## **RESUMEN**

En muchos zumos de frutas y soluciones acuosas aparecen restos de plaguicidas que pueden resultar peligrosos para la salud de los consumidores, por lo que es necesario realizar tratamientos de eliminación de estos compuestos tóxicos. En el presente trabajo se presenta la aplicación de un tratamiento fotoquímico con radiación UV para eliminar benomilo (metil-1-[butilcarbamoil]-2-benzimidazol-carbamato) en solución acuosa a pH = 4, utilizando una lámpara de mercurio de media presión. Se presenta una modelización cinética de la fotodegradación, obteniendo que los resultados experimentales se ajustan de modo adecuado a una ecuación de primer orden. Se ha observado que la concentración inicial de benomilo en la solución acuosa no influye en la constante global de fotodegradación. A pesar de que el benomilo puede hidrolizarse para formar benzimidazol-2-il carbamato de metilo (MBC), la etapa fotoquímica predomina sobre la de hidrólisis en la desaparición de benomilo del medio acuoso.

**Palabras clave:** benomilo, fotodegradación, plaguicida, radiación UV.

## **ABSTRACT**

Many fruit juices and aqueous solutions contain pesticide residues that can be hazardous to the health of consumers. In these cases, it is necessary to apply some treatment in order to eliminate these toxic compounds. In the present work a photochemical treatment with UV radiation has been applied to eliminate benomyl (methyl [1-[(butylamino)carbonyl]-1H-benzimidazol-2-yl]carbamate) in aqueous solution at pH = 4 using a mercury lamp medium pressure. A Photo-degradation kinetics model is presented, obtaining that the experimental data fit a first order

equation. It has been observed that the initial concentration of benomyl in the aqueous solution does not affect the overall photodegradation constant. Although benomyl can be hydrolyzed to methyl benzimidazol-2-ylcarbamate (MBC), the photochemical step predominates over hydrolysis benomyl disappearance.

**Keywords:** benomyl, photo-degradation, pesticide, UV radiation.

## **RESUM**

En molts sucs de fruita i solucions aquoses apareixen pesticides que poden afectar la salut del consumidor, i això fa que sigui necessari realitzar tractaments d'eliminació d'aquests components tòxics. En aquest treball es presenta l'aplicació d'un tractament fotoquímica amb radiació UV per eliminar benomil (metil-1-[butilcarbamoil]-2-benzimidazol-carbamato) en una solució acosa a pH = 4., utilitzant una làmpada de mercuri de mitja pressió. Es presenta una modelització cinètica de la fotodegradació, obtenint que les dades experimentals s'ajusten de forma adequada a una equació de primer ordre. S'ha observat que la concentració inicial de benomil en la solució aquosa no influeix en la constant global de fotodegradació. Malgrat que el benomil pot hidrolitzar-se per formar bencimidazol-2-il carbamat (MBC), l'etapa de degradació fotoquímica predomina per sobre de la d'hidròlisi en la desaparició de benomil en medi aquós.

**Paraules clau:** benomil, fotodegradació, plaguicida, radiació UV.

---

\*Autor para correspondencia: aibarz@tecal.udl.cat; Tel.: (34) 973 702555

## INTRODUCCIÓN

El benomilo (metil-1-[butilcarbamoil]-2-benzimidazol-carbamato) es un fungicida sistémico utilizado para controlar diversas plagas previo a la cosecha de una amplia variedad de frutas y hortalizas. Es un plaguicida estable en medios secos; sin embargo, en medio acuoso se descompone dando lugar a carbendazima y n-butilisocianato (Calmon y Sayag, 1976).

El benomilo es persistente en el medio ambiente, pudiéndose fijar en el suelo y en las superficies de las frutas y hortalizas. A modo de ejemplo, cuando este plaguicida se aplica sobre césped su vida media es de tres a seis meses, mientras que en suelo desnudo perdura de seis a doce meses (www.rap-al.org).

Tanto el benomilo como la carbendazima, formada en la hidrólisis del primero, son tóxicos, pudiendo producir toxicidad hepática, toxicidad en el desarrollo (como malformaciones en los ojos del feto y en el cerebro), efectos en la reproducción al disminuir la fertilidad, habiéndose encontrado una disminución del tamaño de los testículos y de glándulas adicionales de los machos de ratas tratadas con benomilo a una dosis de 1 mg/kg/día durante 4 meses. Además, tanto el benomilo como la carbendazima son considerados posibles cancerígenos para las personas (EPA, 2002).

Muchas frutas, previo a su almacenamiento bajo frigoconservación, son tratadas con benomilo para evitar problemas de crecimiento de hongos. Debido a ello y a los tratamientos previos en los campos de cultivo, las frutas están impregnadas de este plaguicida, y como su persistencia suele ser levada, si estas frutas se utilizan en la elaboración de zumos y derivados, muy probablemente el benomilo pasará al producto final. De hecho, en 655 muestras de zumos de naranjas, de diferentes puntos de Estados Unidos, se encontraron 21 plaguicidas diferentes, siendo los más frecuentes benomilo y carbendazima, seguidos de imazalil y tiabendazol (EFSA, 2011). Se ha encontrado que la presencia de plaguicidas en zumos de frutas con pulpa es significativamente más elevada que en los zumos frescos naturales, lo que se atribuye a la preconcentración de la pulpa durante el proceso de producción, que posteriormente es añadida a los zumos (Bedendo et al., 2012). Debido a que una gran cantidad de zumos presentan valores de pH comprendidos entre 3,5 y 4,2, en el presente trabajo se pretende estudiar la degradación de benomilo en soluciones acuosas con un pH de 4. En este estudio se presenta el posible mecanismo de fotodegradación, lo que permite obtener una ecuación cinética de primer orden, en la que se tiene en cuenta el efecto de la hidrólisis que experimenta el benomilo.

### Modelo de Irradiación

Cuando se irradia una solución con una radiación electromagnética, una parte de la radiación incidente es absorbida por la solución. La capacidad de absorber la radiación se puede conocer definiendo la absorbancia como el logaritmo de la relación entre la potencia de radiación incidente ( $P_0$ ) y la transmitida ( $P$ ). Según se tome la base de logaritmos se obtiene dos tipos de definiciones de absorbancia:

$$A_{10} = \log \frac{P_0}{P} \quad \text{y} \quad A_e = \ln \frac{P_0}{P} \quad (1)$$

Generalmente, la absorbancia que puede medirse con los espectrofotómetros es  $A_{10}$ ; sin embargo, en las ecuaciones que rigen los modelos de absorción se utiliza  $A_e$ . La relación entre ambas absorbancias es:

$$A_e = \ln 10 \cdot A_{10}$$

Lambert-Beer propusieron una relación lineal entre la absorbancia a una determinada longitud de onda y la concentración de la sustancia que absorbe la radiación, de modo que se cumple:

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot C \cdot d_s \quad (2)$$

donde  $A_\lambda$  es la absorbancia a la longitud de onda  $\lambda$ ,  $\varepsilon_\lambda$  es el coeficiente de extinción molar a la misma longitud de onda,  $C$  es la concentración de la sustancia absorbente de la radiación y  $d_s$  es la longitud de paso (camino óptico) de la luz a través de la solución.

Considerando la ley de Lambert-Beer y  $A_e$ , para cada longitud de onda, la energía radiante ( $P_\lambda$ ) que alcanza un determinado punto ( $x, y, z$ ) en el interior de la solución que procede de una fuente de radiación (lámpara) a la misma longitud de onda ( $P_{0,\lambda}$ ) para un punto específico de la fuente, se puede expresar como:

$$P_\lambda(x, y, z) = P_{0,\lambda} \exp(-\varepsilon_\lambda C d_s) \quad (3)$$

donde  $P_{0,\lambda}$  es la energía radiante emitida a la longitud de onda  $\lambda$  por un punto específico de la lámpara radiante, estando definida por:

$$P_{0,\lambda} = \frac{P_\lambda / L}{4\pi d^2} \quad (4)$$

en la que  $P_\lambda$  es la potencia de radiación total emitida por la lámpara a la longitud de onda  $\lambda$ ,  $L$  es la longitud de la lámpara y  $d$  es el radio de la esfera definida por el punto emisor de la lámpara como centro de la esfera y el punto irradiado de la solución ( $x, y, z$ ).

En el caso de un fotorreactor plano con una lámpara cilíndrica, si se considera el modelo de emisión esférico (Falgout et al., 2011b), la energía radiante que alcanza un determinado punto en el interior de la solución a partir de la energía emitida por la lámpara entera es (Figura 1):

$$I_{\lambda,L}(x, y, z) = \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{P_\lambda / L}{4\pi d^2} \exp(-\varepsilon_\lambda C d_s) dy_L \quad (5)$$

donde  $d_s$  es el camino óptico que debe atravesar la luz en el interior de la solución e  $y_L$  es la coordenada que define cada punto específico de la lámpara.

La potencia radiante absorbida por cada uno de los puntos del interior de la solución es:

$$P_{abs,\lambda}(x, y, z) = P_{\lambda,L}(x, y, z) \cdot \varepsilon_\lambda \cdot C \quad (6)$$

La potencia radiante total absorbida por el volumen total de la solución a una longitud de onda  $\lambda$  es:

$$P_{abs,\lambda} = \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \varepsilon_\lambda C \frac{P_\lambda}{4\pi L} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} \frac{\exp(-\varepsilon_\lambda C d_s)}{d^2} dy_L dx dy dz \quad (7)$$

donde

$$d^2 = (x_0 - x)^2 + (y_L - y)^2 + (z_0 + z)^2; \quad d_s = \frac{z}{\sin \beta}; \quad \sin \beta = \frac{z_0 + z}{d} \quad (8)$$

ecuación que se debe calcular mediante métodos numéricos. La potencia de radiación total absorbida es la suma de  $P_{abs,\lambda}$  para todas las longitudes de onda en las que la emisión de la lámpara coincide con la absorción de la solución.

$$P_{abs}(V) = \sum_{\lambda} P_{abs,\lambda} \quad (9)$$

Dividiendo por el volumen, la energía radiante total absorbida por unidad de volumen se obtiene dividiendo por el volumen de reacción:

$$P_{abs} = \frac{P_{abs}(V)}{V} \quad (10)$$

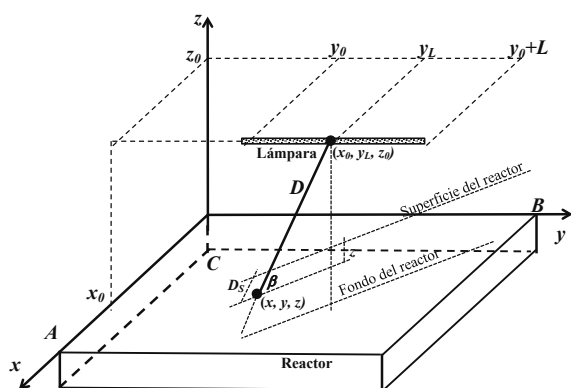
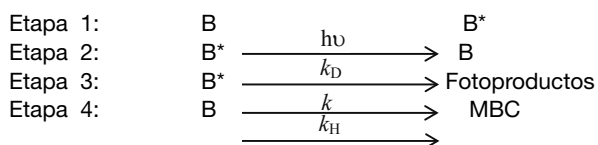


Figura 1. Esquema de un fotoreactor plano

### Cinética de fotodegradación de benomilo

El mecanismo cinético de degradación fotoquímica de benomilo es el propuesto en un trabajo anterior (Ibarz et al., 1996). Se supone un mecanismo en cuatro etapas, en una primera etapa la molécula de benomilo (B) absorbe la radiación incidente para pasar a un estado excitado ( $B^*$ ). Esta molécula excitada puede volver a su estado fundamental, o bien degradarse para dar fotoproductos. A estas tres etapas se añade una de hidrólisis del benomilo, que en medio ácido conduce a la formación de carbendazima (MBC – bencimidazol-2-il carbamato de metilo).



La energía absorbida por unidad de volumen por el benomilo en la primera etapa del mecanismo propuesto ( $P_{abs}$ ) posee unidades de einsteins (mol de fotones) por unidad de volumen y unidad de tiempo, y se puede calcular de acuerdo con el modelo de radiación descrito anteriormente:

$$P_{abs} = \sum_{\lambda} P_{\lambda} \varepsilon_{\lambda} C_B \quad (11)$$

Suponiendo estado pseudo-estacionario para el intermedio excitado ( $B^*$ ), se obtiene que la velocidad intensiva de reacción para el benomilo se puede expresar como:

$$r_B = -K_B P_{abs} - k_H C_B \quad (12)$$

En la que  $K_B$  es una constante adimensional que depende de  $k$ ,  $k_D$  y  $k_H$  de modo que:

$$K_B = 1 - \frac{k_D}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (13)$$

De acuerdo con el mecanismo propuesto, la constante  $K_B$  representa el rendimiento cuántico de la fotodegradación global, es decir los moles de benomilo degradados por mol de fotones (einstein) absorbidos.

Si el tratamiento fotoquímico se lleva a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen  $V$ , trabajando en discontinuo, al realizar un balance de benomilo se obtiene:

$$\frac{dC_B}{dt} = -K_B P_{abs} - k_H C_B \quad (14)$$

La potencia de radiación absorbida ( $P_{abs}$ ) depende de la concentración de benomilo ( $C_B$ ) en la solución reactante. Se puede definir una función de radiación ( $k_R$ ), que sea la relación entre la potencia de radiación absorbida y la concentración:

$$k_R = \frac{P_{Abs}}{C_B} \quad (15)$$

Al introducir la ecuación 15 en la 14 se obtiene:

$$\frac{dC_B}{dt} = -(K_B k_R + k_H) C_B \quad (16)$$

La función radiación puede variar a lo largo del proceso de radiación. Sin embargo, si  $k_R$  no presenta una variación muy grande, se puede tomar un valor medio aproximadamente constante y la ecuación 16 se puede integrar, obteniendo:

$$C_B = C_B^0 \exp(-m_B t) \quad (17)$$

donde:

$$m_B = K_B k_R + k_H \quad (18)$$

Como se observa en la ecuación 17, a partir del mecanismo cinético propuesto, la degradación fotoquímica del benomilo se puede ajustar a un modelo cinético de primer orden, con una constante global de fotodegradación  $m_B$ .

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Preparación de las muestras a irradiar.** Se prepararon dos soluciones acuosas de benomilo a pH 4, con un contenido en pesticida de 25 y 40 mg/L. Para ello, se pesó la cantidad adecuada de benomilo y se disolvió en 25 mL de metanol, esta solución se llevó a un matraz aforado de 1 L y se enrasó con la solución tampón. Para la preparación de las soluciones tamponadas se utilizaron mezclas de ácido cítrico 0,1 M y  $Na_2HPO_4$  0,2M.

**Tratamiento con radiación UV.** El tratamiento fotoquímico con radiación UV es similar al descrito por Falguera et al. (2011), que esencialmente consiste en una cámara oscura que contiene el tanque de reacción y la lámpara UV. La muestra a irradiar, consistente en 800 mL de solu-

ción de benomilo, se coloca en un tanque de metacrilato de 22x15x10 cm, donde alcanza una altura aproximada de 2,42 cm. Con el fin de controlar la temperatura de las muestras se dispone de un sistema de refrigeración consistente en un serpentín metálico alimentado con agua fría, lo que permite mantener la temperatura de la muestra a un valor determinado con una diferencia máxima de  $\pm 1^\circ\text{C}$ . Se trabajó a una temperatura de  $25^\circ\text{C}$ . Para asegurar que el tanque está perfectamente agitado se utilizó un agitador magnético. La fuente de irradiación es una lámpara de mercurio de media presión Philips HPM 12 (Philips, Eindhoven, The Netherlands) de 460 W de potencia nominal que emite en el intervalo de 250 a 740 nm, con una potencia real de  $1,38 \cdot 10^{-3}$  einstein/s. En la Figura 2b se muestra el espectro de emisión de esta lámpara, en la que  $P_\lambda$  es la potencia de la misma para las diferentes longitudes de onda de emisión. La distancia entre la lámpara y la superficie de la disolución fue de 22,5 cm. Una vez encendida la lámpara, se esperó 10 minutos antes de introducir la muestra a irradiar en el interior de la cámara. Las soluciones que contenían benomilo se irradiaron, tomando muestras a intervalos de tiempo definidos. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

**Cuantificación de benomilo.** Con el fin de cuantificar el benomilo, se utilizó un equipo HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity. Se utilizó una columna utilizada de fase reversa C-18 (apolar hidrófoba) ZORBAX Eclipse Plus, de 100 mm de longitud, con un diámetro de 4,6 mm y el tamaño de partícula de la fase estacionaria es 3.5 micras. Se utilizó un detector UV a 286 nm. Como fase móvil se utilizó agua/acetonitrilo (40/60), con un caudal de 1.5 mL/min. Se inyectaron 100  $\mu\text{L}$  de muestra.

**Espectro de absorción.** Para la obtención del espectro de absorción de benomilo se preparó una solución de 11 mg/L, realizándose un barrido de longitudes de onda entre 200 y 600 nm con un espectrofotómetro Helios Gamma (Termo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA), utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso.

**pH.** El pH de las muestras se midió con un pHmetro Crison micropH 2000 (Crison Instruments, S.A., Alella, España).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cálculo de la función de radiación $k_R$

En la Figura 2a se muestra el espectro de absorción de una solución de benomilo (11 mg/L). Se observa que entre las longitudes de onda de 250 a 310 nm, este compuesto presenta valores apreciables de absorción, existiendo dos picos con máximos para las longitudes de onda de 274,5 y 281,5 nm. Si se observa el espectro de emisión de la lámpara, existen picos que se encuentran en este intervalo de longitudes de onda, lo que indica que el benomilo quedará afectado por la emisión de esta lámpara. A partir de la Figura 2 es posible llegar a obtener los valores del coeficiente de extinción molar a aquellas longitudes de onda coincidentes del espectro de absorción de benomilo y las de emisión de la lámpara. Asimismo, es posible obtener los coeficientes de absorción a las mismas longitudes de onda, para una concentración en benomilo de 11 mg/L (Tabla 1). Los valores del coeficiente de absorción son ba-

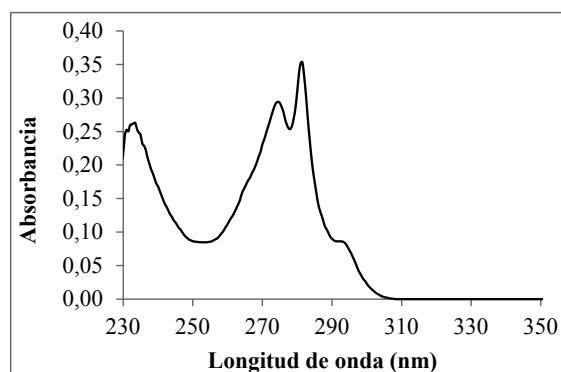
jos, lo que indica que la radiación incidente puede penetrar a través de la solución de benomilo.

Para obtener el valor de la radiación absorbida para una determinada concentración de benomilo y para cada longitud de onda es necesario resolver la ecuación 7. Para ello, se utiliza una hoja de cálculo, llevando a cabo la integración de la ecuación utilizando el método de Simpson. También es posible obtener el valor de radiación que llega a la superficie de la solución reactante, así como la que llega al fondo del reactor para una determinada concentración de benomilo. Por integración de la ecuación 7 se obtiene que a la superficie del reactor llegaba una energía radiante de 1,179 W. La cantidad de energía radiante que llega al fondo del reactor depende de la concentración de benomilo de la disolución; así, para cuando la solución contenía 50 mg/L, al fondo del reactor llegaba 0,266 W, lo que representa un 22,6% de la radiación en la superficie. La energía total que absorbía una solución de benomilo de 50  $\mu\text{g/L}$ , en todo el volumen de reacción y para todas las longitudes de onda a las que absorbe el benomilo, fue de 10,226 W.

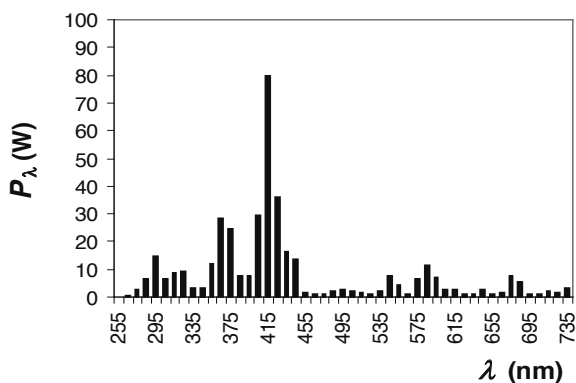
A partir de la ecuación 15, con los valores de la radiación absorbida por la solución de benomilo ( $P_{\text{abs,B}}$ ) en el intervalo de concentraciones desde el inicio al final del experimento, es posible obtener el correspondiente valor medio de la función de radiación ( $k_R$ ). El valor medio obtenido ha sido  $k_R = 0,0311$  einsteins/(mol·s).

**Tabla 1.-** Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar y coeficiente de absorción (benomilo 11 mg/L), para longitudes de onda seleccionadas.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_\lambda$ (L·mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\mu_\lambda = \alpha_\lambda$ (cm <sup>-1</sup> )	$W_{L,\lambda}$ (W)
250	5241,1	0,199	
255	5198,7	0,197	0,1792
260	6769,8	0,257	0,2685
265	10148,6	0,385	0,3577
270	14006,7	0,532	1,2079
275	17749,5	0,674	2,0580
280	18726,1	0,711	3,6240
285	10664,2	0,405	5,1899
290	5471,6	0,208	8,6800
295	4434,3	0,168	12,1699
300	1407,3	0,053	8,7700
305	169,9	0,006	5,3692



(a)



(b)

Figura 2 a) Espectro de absorción de una solución acuosa de benomilo de 11 mg/L

(b) Espectro de emisión de la lámpara HPM 12.

### Fotodegradación de benomilo en solución acuosa

En la Figura 4 se muestra la evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación, a pH = 4, para dos concentraciones iniciales diferentes de benomilo (40 y 25 mg/L). La evolución de la concentración de benomilo con el tiempo de irradiación muestra una disminución que podría ajustarse a una caída exponencial. Es por ello que se ha supuesto un modelo cinético de primer orden, de modo que la variación del contenido de benomilo con el tiempo de irradiación se puede ajustar a la ecuación 17. Cabe mencionar que en esta constante global de degradación ( $m_B$ ) se incluye la energía absorbida por la disolución. En la Tabla 2 se muestran los parámetros del ajuste para los dos experimentos, con distinto contenido inicial de benomilo. Tanto los estimados de los parámetros como el ajuste han resultado significativos a un nivel de confianza del 95%. Los valores de la constante de fotodegradación son  $2,47 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  y  $2,54 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para las concentraciones de 50 y 25 mg/L, respectivamente. Se observa que los valores de la constante de degradación son similares, con una desviación de aproximadamente un 2,8%. Debido a ello, se puede concluir que la concentración inicial de benomilo en la solución no influye en el valor de la constante cinética global de fotodegradación. Para el valor de la constante global de fotodegradación se toma un valor medio  $m_B = 2,505 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ .

Tabla 2.- Parámetros de los ajustes a una ecuación cinética de primer orden para la fotodegradación de benomilo a pH = 4.

$C_{\text{Inicial}}$ (mg/L)	$C_0$ (mg/L)	$m_B$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
40	36.8	0.0247	0.9902
25	22.0	0.0254	0.9877

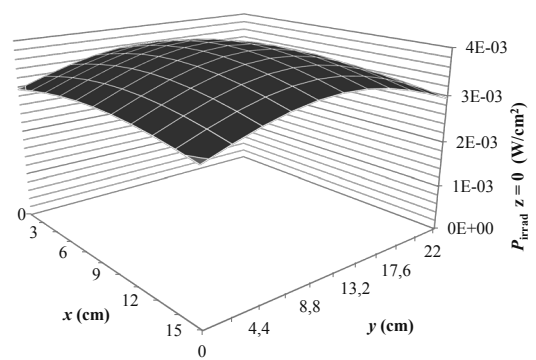
La degradación fotoquímica se ha llevado a cabo en medio acuoso ácido (pH = 4), por lo que el benomilo experimentará hidrólisis para formar MBC. Calmon y Sayag (1976) estudiaron el efecto del pH sobre la cinética de hidrólisis del benomilo. Observaron que cuando el medio del pH era inferior a 2,5 existía una inhibición de la hidrólisis por acción del ácido. Sin embargo, para valores de pH comprendidos entre 2,5 y 7 la hidrólisis no depende de la acidez del medio. En este intervalo de valores del pH obtuvieron que la constante de hidrólisis del benomilo presenta un valor de  $k_H = 5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

A partir de los valores de  $m_B$ ,  $k_H$  y  $k_R$ , utilizando la ecuación

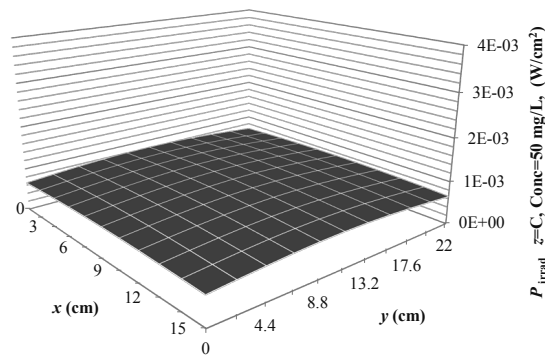
18 es posible obtener el valor de la constante  $K_B = 0,0118 \text{ mol/einstein}$ . El valor de esta constante representa el rendimiento cuántico del proceso de degradación fotoquímica del benomilo, es decir, los moles degradados por cada mol de fotones absorbidos.

A partir de la ecuación 13 y con el valor del rendimiento cuántico es posible obtener el valor de la relación  $\frac{k_D}{k} = 84$ . Esto indica que, en el mecanismo cinético propuesto, la etapa b) de retorno al estado fundamental predomina sobre la etapa c) de formación de fotoproductos. Asimismo, con el fin de evaluar el efecto de la etapa d) de hidrólisis se comparan las etapas de formación de fotoproductos y de hidrólisis mediante la relación:  $\frac{K_B k_R}{k_H} = 7,34$ .

Lo que indica que en la desaparición de benomilo el mecanismo de degradación fotoquímica predomina sobre la etapa de desaparición por hidrólisis.



(a)



(b)

Figura 3.- Potencia de radiación en la superficie (a) y en el fondo (b) de un fotorreactor. La Figura b se ha obtenido para una solución de benomilo de 50 mg/L

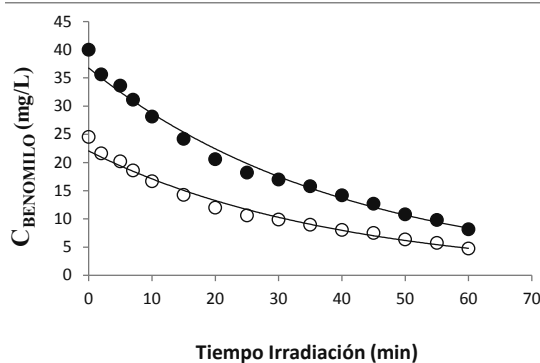


Figura 4.- Evolución de la concentración relativa de benomilo con el tiempo de irradiación a pH=4



---

## CONCLUSIONES

El tratamiento con radiación UV provoca la degradación de benomilo en solución acuosa, pudiéndose describir dicha fotodegradación mediante un mecanismo cinético de primer orden. Se ha observado que la concentración inicial de benomilo en la solución acuosa no influye en la constante global de fotodegradación. Se ha obtenido que la etapa de desactivación del benomilo, activado por la absorción de la radiación, es superior a la etapa de formación de fotoproductos. Asimismo, en la desaparición de benomilo predomina la degradación fotoquímica sobre la etapa de hidrólisis.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bedendo, G.C.; Jardim, I.C.; Carasek, E. (2012). Multiresidue determination of pesticides in industrial and fresh orange juice by hollow fiber microporous membrane liquid-liquid extraction and detection by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 88, 573-580
2. Calmon, J.P.; Sayag, D.R. (1976). Kinetics and mechanisms of conversion of methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl) to methyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC). *J. Agric. Food Chem.*, 24(2), 311-314.
3. EFSA (European Food Safety Authority) (2011). The 2009 European Union report on pesticides residues in foods. *EFSA Journal*, 9(11), 2430
4. EPA (2002). United States Prevention, Pesticides EPA-738-R-02-011. Environmental Protection and Toxic Substances. July 31, 2002. Agency (7508C). Reregistration Eligibility Decision (RED) Benomyl.
5. Falguera, V.; Pagán, J.; and Ibarz, A. (2011). Effect of UV radiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 44: 115-119.
6. Falguera, V.; Esplugas, S.; Vicente, M.; Ibarz, A. (2011b). Modeling of absorbed radiation profiles in a system composed by a plane photoreactor and a single lamp. *Food Research International*, 44, 3111-3114.
7. Ibarz, A.; Panadés, R.; Tejero, J.M. (1996). Fotodescomposición de benomilo en solución acuosa. *Afinidad*, 53(461), 53-56

Recursos electrónicos:

[http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Benomil\\_Enlace\\_81.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Benomil_Enlace_81.pdf) (conectado mayo 2014)

Manuscript Number:

Title: Rate-controlling mechanisms in the photo-degradation of Ochratoxin A

Article Type: Research paper

Keywords: UV; photo-degradation; OTA; isokinetic temperature; compensation.

Corresponding Author: Dr. Alfonso Garvín, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: University of Lleida

First Author: Raquel Ibarz, Msc

Order of Authors: Raquel Ibarz, Msc; Alfonso Garvín, Ph.D.; Shirley Rojas, Msc; Ebner Azuara, Ph.D.; Albert Ibarz, Ph.D.

Abstract: This work studies the rate-controlling mechanisms of the UV photo-degradation of OTA by applying kinetic and thermodynamic compensations. The study tries to go in depth into a previous study where the UV photo-degradation of OTA was concluded to take place following first-order kinetics. For this purpose, aqueous solutions of 100 mg·L<sup>-1</sup> of OTA were irradiated at other pH values than in the previous study and at the same temperatures using the same mid-pressure mercury lamp with emission wavelengths between 250 and 740 nm. The new photo-degradation data also fitted well to the first-order kinetic model, with the new parameters matching the old ones. All the kinetic constants were used to study whether the kinetic and thermodynamic compensation could be applied. Applying the Leffler's criterion, the OTA photo-degradation was concluded to be enthalpically controlled and isokinetic temperatures of 388.0 K and 362.1 K were obtained for the kinetic and thermodynamic compensations, respectively. As the harmonic mean temperature (302.8 K) is clearly different from both isokinetic temperatures, it can be concluded that neither compensation is caused by the propagation of the experimental errors.

Suggested Reviewers: Pedro Augusto Ph.D.  
Professor, Agri-food Industry, University of São Paulo (USP)  
pedro.ed.augusto@usp.br  
Expert

Santiago Esplugas Ph.D.  
Professor, chemical Engineering, University of Barcelona  
santi.esplugas@ub.edu  
Expert

Mercè Raventós Ph.D.  
Professor, Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia,  
Universitat Politècnica de Catalunya  
merce.raventos@upc.edu  
Expert



## **RATE-CONTROLLING MECHANISMS IN THE PHOTO- DEGRADATION OF OCHRATOXIN A**

**Raquel Ibarz<sup>1</sup>, Alfonso Garvín<sup>1\*</sup>, Shirley Rojas<sup>1</sup>, Ebner Azuara<sup>2</sup> and Albert Ibarz<sup>1</sup>**

### **Cover letter**

Dear Sirs,

Our research group has been researching in UV radiation and, as a consequence, we have published several articles in your journal. In particular, we have recently published an article about the degradation of Ochratoxin A by UV.

In this work, we have gone into the photo-degradation of Ochratoxin A in depth, studying the mechanism that controls the reaction. For that purpose, we have studied whether the photo-degradation behaved according to kinetic and thermodynamic compensations. As the photo-degradation showed both types of compensations, the isokinetic temperature was obtained, and it was concluded that the reaction is controlled by enthalpy.

This work was recently sent to your journal, receiving the reference number LWT-D-15-02752. Initially, it was rejected due to the fact that some paragraphs had been copied from previous published works of one of the co-authors. Later on, the Editor decided that we could send the work after changing the copied paragraphs. Thus, we are sending the work once the copied paragraphs have been changed and we kindly request if it is possible to be assigned to the same Editor.

Kind regards,

Alfonso Garvín.

1           **RATE-CONTROLLING MECHANISMS IN THE PHOTO-**  
2           **DEGRADATION OF OCHRATOXIN A**

3  
4   **Raquel Ibarz<sup>1</sup>, Alfonso Garvín<sup>1\*</sup>, Shirley Rojas<sup>1</sup>, Ebner Azuara<sup>2</sup> and Albert Ibarz<sup>1</sup>**

5  
6  
7   **Highlights**

- 8       • OTA was degraded using UV radiation.  
9       • The photo-degradation follows first-order kinetics.  
10      • The photo-degradation shows kinetics and thermodynamic compensations.  
11      • The photo-degradation is controlled by enthalpy.  
12      • The isokinetic temperature was found.

1           **RATE-CONTROLLING MECHANISMS IN THE PHOTO-**  
2                           **DEGRADATION OF OCHRATOXIN A**

3

4   **Raquel Ibarz<sup>1</sup>, Alfonso Garvín<sup>1\*</sup>, Shirley Rojas<sup>1</sup>, Ebner Azuara<sup>2</sup> and Albert Ibarz<sup>1</sup>**

5

6

7   <sup>1</sup> Food Engineering Unit. Food Technology Department, University of Lleida  
8   (Catalonia)

9   Av. Rovira Roure, 191, 25198, Lleida (Catalonia, Spain).

10

11

12   <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana. Calle Dr. Rafael Sánchez  
13   Altamirano S/N, Colonia Industrial Animas, Xalapa, Veracruz. Código Postal 91192,  
14   México.

15

16

17

18

19   \* Corresponding author. Tel. +34 973702907. E-mail address: garvin@tecal.udl.cat

20

21 **Abstract**

22 This work studies the rate-controlling mechanisms of the UV photo-degradation of  
23 OTA by applying kinetic and thermodynamic compensations. The study tries to go in  
24 depth into a previous study where the UV photo-degradation of OTA was concluded to  
25 take place following first-order kinetics. For this purpose, aqueous solutions of 100  
26  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  of OTA were irradiated at other pH values than in the previous study and at the  
27 same temperatures using the same mid-pressure mercury lamp with emission  
28 wavelengths between 250 and 740 nm. The new photo-degradation data also fitted well  
29 to the first-order kinetic model, with the new parameters matching the old ones. All the  
30 kinetic constants were used to study whether the kinetic and thermodynamic  
31 compensation could be applied. Applying the Leffler's criterion, the OTA photo-  
32 degradation was concluded to be enthalpically controlled and isokinetic temperatures of  
33 388.0 K and 362.1 K were obtained for the kinetic and thermodynamic compensations,  
34 respectively. As the harmonic mean temperature (302.8 K) is clearly different from both  
35 isokinetic temperatures, it can be concluded that neither compensation is caused by the  
36 propagation of the experimental errors.

37

38

39 **Keywords**

40 UV; photo-degradation; OTA; isokinetic temperature; compensation.

41

42 **Nomenclature**

- 43  $C_{OTA}$  OTA concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ )
- 44  $C_{OTA}^0$  Initial OTA concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ )
- 45  $E_a$  Activation energy ( $\text{J mol}^{-1}$ )
- 46  $\Delta G_B$  Change in Gibbs free energy ( $\text{J mol}^{-1}$ )
- 47  $\Delta H$  Change in enthalpy ( $\text{J mol}^{-1}$ )
- 48  $H$  Planck's constant ( $\text{J s}$ )
- 49 OTA OTA molecule
- 50  $K_B$  Boltzmann's constant ( $\text{J K}^{-1}$ )
- 51  $k_{eq}$  Equilibrium kinetic constant ( $\text{min}^{-1}$ )
- 52  $K_0$  Frequency factor ( $\text{min}^{-1}$ )
- 53  $K_{OTA}$  Constant on the relation between  $C_{OTA}$  and time ( $\text{min}^{-1}$ )
- 54 N Total number of treatments
- 55 R Universal gas constant ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ )
- 56  $\Delta S$  Change in entropy ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ )
- 57  $T$  Absolute temperature (K)
- 58  $T_B$  Isokinetic temperature (K)
- 59  $T_{hm}$  Harmonic mean temperature (K)
- 60 t Time (min)

61



## 62 **1.- Introduction**

63 Recent advances in the science and engineering of UV irradiation and sufficient  
64 evidence in the literature have demonstrated that UV technology holds considerable  
65 promise as a viable alternative to thermal pasteurization for fresh juices, soft drinks, raw  
66 milk, liquid eggs, liquid sugars and sweeteners (Koutchma, 2009; Falguera et al., 2011a;  
67 Falguera et al., 2011b). UV processing is lethal to most microorganisms and can  
68 provide food with fresh features. Besides, as mycotoxins are not affected by  
69 conventional heat processes, some studies have reported their elimination through the  
70 application of UV radiation, e.g. aflatoxins (Leeson et al., 1995) and patulin (Ibarz et  
71 al., 2014).

72 Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin that has been found in coffee, cereals, meat (due to  
73 contamination of animal feed), and especially in grapes and their derivatives (Ibarz et  
74 al., 2015). As OTA is highly resistant to conventional treatment processes (Bullerman,  
75 et al, 2007), its degradation by UV irradiation for contaminated grape juice (must) was  
76 studied by the same researcher group (Ibarz et al., 2015).

77 Ibarz et al. (2015) studied the photo-degradation of OTA by irradiation with a medium-  
78 pressure UV lamp which emitted within the range between 250 and 740 nm, concluding  
79 the total photo-degradation after 60 min at any temperature at pH 4. They also found  
80 that when OTA was present in must, the photo-degradation rate was considerably  
81 reduced due to the absorption of a large part of the radiation by the juice. The photo-  
82 degradation matched first-order kinetics, according to both the linear relation found  
83 between absorbed radiation and OTA concentration and the degradation mechanism  
84 proposed.

85 Therefore, this work aimed to extend the prior study of the photo-degradation of OTA  
86 that had previously been studied by the same researcher group. For this purpose, new

87 kinetic data were obtained and joined together with the kinetic data obtained in the  
88 previous study. All the kinetic data were evaluated using the kinetic and thermodynamic  
89 compensations to determine the mechanism that controls this photo-degradation in  
90 aqueous solutions. For this purpose, aqueous solutions of  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  of OTA were  
91 irradiated at other acidic pH values, but at the same temperatures, using the same mid-  
92 pressure mercury lamp. All the pH values considered were acid according to the pH  
93 values for must, where OTA can be present. All the photo-degradation kinetics data  
94 (including the ones from the previous study) were used to study the effect of pH and  
95 temperature and then the existence of kinetic and thermodynamic compensations.

96 The enthalpy-entropy compensation consists of a study of the mechanism that controls  
97 physical, biological and chemical processes (Starikov et al., 2012; Labuza, 1980) and  
98 has been used to study the thermal inactivation of microorganisms, protein denaturation  
99 and the degradation of ascorbic acid. Beristain et al. (1996) and Azuara et al. (2006)  
100 used this tool to study the mechanism that controls the water sorption in some foods and  
101 García et al. (2008) in air drying. Williams et al. (2001) explained the enthalpy-entropy  
102 compensation as a competition between dynamics and bonding, where it is the change  
103 in dynamics between two states (measured by the entropy change) that is primarily  
104 correlated with the reduction in bonding between these two states (measured by the  
105 enthalpy change). Additionally, some authors (Lum et al., 1999; Chandler, 2002;  
106 Wilfong et al., 2011; Ryde, 2014) have related the mechanism of control to the  
107 hydrophilic or hydrophobic interactions between the molecules of water and the studied  
108 substance. Other authors have related the kinetic-thermodynamic compensation to  
109 changes in the microstructure (Azuara and Beristain, 2006; Chodera and Mobley, 2013),  
110 stability of foods (Azuara and Beristain, 2007; Pascual-Pineda et al., 2014) and low-  
111 temperature drying processes (Flores-Andrade et al., 2009).

112 When a reaction takes place for different pH values or other parameters (e.g., the  
113 presence of metallic ions, water activity, etc.), the frequency factor ( $K_0$ ), activation  
114 energy ( $E_a$ ), enthalpy ( $\Delta H$ ) and entropy ( $\Delta S$ ) can be obtained for each pH (or other  
115 parameter). From this family of pH values, a study of kinetic and/or thermodynamic  
116 compensation can provide better knowledge about the reaction and its mechanism  
117 (Leffler, 1955; Barnes et al., 1969; Zsako, 1976; Sun y Wicker, 1999). If the frequency  
118 factor is related linearly with the activation energy and the enthalpy of activation is also  
119 related linearly with the entropy of activation, the existence of the isokinetic  
120 temperature ( $T_B$ ) can be concluded (Barnes et al.,1969; Pysiak and Sabalski, 1979), this  
121 being the temperature at which all the kinetic constants have the same value.

122

123

## 124 **2.- Materials and Methods**

125

### 126 **Preparation of samples**

127 Aqueous solutions of OTA were prepared at a concentration of  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and at pH  
128 values of 3, 5, 6 and 6.5. The pH of each solution was fixed using phosphate/citric acid  
129 buffers (Mc Ilvaine).

130

### 131 **Kinetic data**

132 The kinetic data for the photo-degradation of OTA at pH value of 4 was obtained from  
133 the previous work by the same authors (Ibarz *et al.*, 2015). In order to check if a new  
134 acidic pH value behaved in the same way, the pH values 3, 5, 6 and 6.5 were also  
135 studied at the same working temperatures (15, 25, 35 and 45°C).

136

### 137 **Irradiation of samples**

138 The irradiation of samples was performed in an installation consisting of a black  
139 chamber containing the reactor and the lamp. Eight hundred mL were placed in the  
140  $22\times 15\times 10$ -cm methacrylate reactor, so that the surface of the sample was 22.5 cm from  
141 the lamp and the solution height was 2.4 cm. A refrigerant coil was used to maintain a  
142 constant temperature in the solution in the reactor. This allowed the working  
143 temperatures (15, 25, 35, and 45 °C) to be set with a variation of  $\pm 1^\circ\text{C}$ . A magnetic  
144 stirrer was used to ensure the homogeneity of the solution. The lamp used was a mid-  
145 pressure 460-W nominal power mercury Philips HPM 12 (Philips, The Netherlands)  
146 emitting on the 250-740 nm wavelength range. In order to keep the constancy of the  
147 lamp emission, it was turned on 10 minutes before placing the samples to be radiated.  
148 Every sample was irradiated for 120 min, and aliquots were removed every 10 min. in

149 order to analyse their OTA content and, in some cases, to obtain their absorption  
150 spectra.

151

### 152 **Determination of OTA by HPLC chromatography**

153 The OTA content was measured with a 1260 Infinity HPLC chromatograph (Agilent  
154 Technologies, Germany). The analytical column used was a ZORBAX Eclipse Plus C18  
155 4.6 x 100 mm, 3.5  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies, Germany). The detection was by  
156 fluorescence (Agilent Technologies, Germany) at wavelengths of 333 and 460 nm for  
157 excitation and emission, respectively. The mobile phase was water/acetonitrile/acetic  
158 acid with a ratio of 49/50/1 with a flow of 1.2 mL/min. 100  $\mu\text{L}$  of aqueous solution of  
159 OTA was injected into it. This solution was filtered prior to injection with a 0.45  $\mu\text{m}$   
160 filter Chromafil GF/PET-45/25 (Macherey-Nagel, Germany).

161

### 162 **Kinetic Compensation**

163 The activation energy was calculated from kinetic constants ( $k_{OTA}$ ) at a constant pH  
164 value and four temperatures, with an Arrhenius-type equation:

$$165 \quad k_{OTA} = K_0 e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad (1)$$

166 Once  $E_a$  and  $K_0$  had been calculated at each pH value, the isokinetic temperature could  
167 be estimated with the linearized form of equation (2), feeding the  $\ln K_0$  vs.  $E_a$  data into  
168 it and obtaining the slope.

$$169 \quad K_0 = k_{eq} e^{\frac{E_a}{RT_B}} \quad (2)$$

$$170 \quad \ln K_0 = \ln k_{eq} + \frac{E_a}{RT_B} \quad (3)$$

171  $k_{eq}$  is the equilibrium kinetic constant predicted for all pH values when the OTA photo-  
172 degradation is carried out at the isokinetic temperature ( $T_B$ ).

173

#### 174 **Thermodynamic Compensation**

175 Another way to compute the isokinetic temperature is from a thermodynamic equation  
176 based on the transition state theory (Missen et al., 1999) expressed as follows:

$$177 \quad \ln(k_{OTA}) - \ln\left(\frac{k_B T}{h}\right) = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT} \quad (4)$$

178 The enthalpy-entropy compensation can be established through the following equation,  
179 from which the isokinetic temperature is calculated (Beristain et al., 1996):

$$180 \quad \Delta H = T_B \Delta S + \Delta G_B \quad (5)$$

181

#### 182 **Interaction Mechanisms Derived from the Compensation Theory**

183 The harmonic mean temperature ( $T_{hm}$ ) is defined as (Krug et al., 1976):

$$184 \quad T_{hm} = \frac{N}{\sum_1^N (1/T)} \quad (6)$$

185 By using the test of Krug et al. (1976), the existence of compensation can be confirmed  
186 by determining whether  $T_B$  is different from  $T_{hm}$ . If  $T_{hm}$  falls within the  $T_B$  interval, the  
187 data distribution observed ( $\Delta H$ ) - ( $\Delta S$ ) is due to the propagation of the experimental  
188 error and not to chemical or biological factors. Leffler's criterion (1955) was used to  
189 determine which mechanism controlled the photo-degradation of OTA at different pH  
190 values. The criterion establishes that if  $T_B > T_{hm}$ , the process is enthalpy controlled, and,  
191 in contrast, if  $T_B < T_{hm}$ , the process is entropy controlled.

192 Gibbs free energy ( $\Delta G$ ) for the photo-degradation of OTA was obtained with the  
193 following equation:

$$194 \quad \Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (7)$$

195

196 **Statistical analysis**

197 The experimental results obtained were fitted to different kinetic and mathematical  
198 models by linear regressions with a 95% significance level, using the Microsoft Office  
199 Excel (Microsoft, Co., USA, v. 2003) statistic data processing software.

200 Both the UV radiation treatments and the sample analysis were carried out in duplicate.

201

202 **3.- Results and Discussion**

203 The photo-degradation of OTA by UV radiation followed a first-order kinetic, as was  
204 reported by Ibarz et al. (2015). The equation for OTA concentration being:

205 
$$\ln C_{OTA} = \ln C_{OTA}^0 - k_{OTA} \cdot t \quad (8)$$

206 Table 1 shows the kinetic constants experimentally found in this work, corresponding to  
207 pH values of 3, 5, 6 and 6.5. This table also includes the kinetic constants previously  
208 published by Ibarz et al. (2015) for pH 4. As Ibarz et al. (2015) reported, the higher the  
209 temperature and pH value the bigger the kinetic constant. The determination coefficients  
210 were high in all cases, 0.9275 being the lowest value.

211

212 **Kinetic Compensation**

213 Kinetic compensation takes place when the graph of  $\ln K_0$  vs  $E_a$  follows a straight line.

214 Figure 1 shows the kinetic compensation obtained for the OTA photo-degradation at  
215 different pH values. The isokinetic temperature can be obtained from these values,

216 being  $T_B = 388.0$  K. Each point in this figure is located using a pair of values ( $E_a$ ,  $\ln K_0$ )

217 previously obtained for the same range of temperatures. Each point corresponds to the  
218 same reaction but taking place in a media where only the pH has been modified. If this

219 graph follows a straight line, it means that the change caused in the activation energy by

220 a change in the pH value is compensated for the change in the frequency factor ( $K_0$ ).

221 This way, the derivative of the graphed function ( $d \ln K_0/d E_a$ ), the ratio between the  
222 change of a variable and the change of the other, is constant. This derivative  
223 corresponds to the slope of the straight line and has units of temperature. This  
224 temperature defines the kinetic compensation and helps to know the isoequilibrium  
225 point of this reaction family. It will also help to know what kinetic parameter whether  
226  $E_a$  or  $K_0$  is controlling the reaction rate. The activation energy is related to the activation  
227 enthalpy in a liquid medium through the following approximated equation (Zimmer et  
228 al., 2006):

$$229 \quad E_a \approx \Delta H + RT \quad (9)$$

230 The frequency factor  $K_0$  is an entropic factor that represents the number of collisions  
231 that the reactant molecules undergo. Therefore, when a reaction is controlled by  
232 enthalpy, the changes in the activation energy are proportionally greater than the  
233 changes in the frequency factor. In the same way, when a reaction is controlled by  
234 entropy, it means that the changes in the frequency factor are higher than the changes in  
235 the activation energy and the reaction rate would benefit from a change that would  
236 cause a larger number of collisions between the reactant molecules.

237 From Figure 1 it can be concluded that the mechanism that controls the OTA photo-  
238 degradation is enthalpic, because the isokinetic temperature ( $T_B = 388.0$  K) is higher  
239 than the mean harmonic temperature ( $T_{hm} = 302.8$  K). An enthalpic control implies that  
240 the kinetic parameter that most influences the value of the kinetic constant is the  
241 activation energy instead of the frequency factor.

242 Table 2 shows the activation energy and frequency factor values for each pH value. It is  
243 worth remarking that an increase in the pH value from 3 to 6.5 causes new activation  
244 energy 3.3 times lower, while the new frequency factor value for pH 6.5 is 77 times  
245 lower than the  $K_0$  value for pH 3. This means that the increase in the kinetic constant by



246 increasing the pH value is due mainly to a considerable decrease in the activation  
247 energy rather than the change in the number of collisions between molecules expressed  
248 by the frequency factor. Obviously, for each value of pH, an increase in the temperature  
249 would cause an increase in the kinetic constant. However, the kinetic compensation  
250 allows an increase in the kinetic constant to be predicted by changing only the pH value.

251

### 252 **Thermodynamic Compensation**

253 Figure 2 shows the enthalpy-entropy compensation for OTA photo-degradation by UV  
254 radiation. From these data, the isokinetic temperature can be obtained ( $T_B = 362.1$  K),  
255 this being also higher than the mean harmonic temperature ( $T_{hm} = 302.8$  K).  
256 Consequently, the reaction kinetic is controlled by the changes in the enthalpy caused  
257 by a decrease in the activation energy. The isokinetic temperature  $T_B$  obtained using  
258 thermodynamic compensation was only 25.9 K lower than the value obtained using  
259 kinetic compensation, confirming the existence of these compensation processes and the  
260 isokinetic temperature for the OTA photo-degradation. Beristain et al. (2011) reported  
261 that the thermodynamics and kinetics are closely interrelated, as the equilibrium state of  
262 a system depends to a great extent on the kinetics followed to reach it.

263 Table 3 shows the fitted variation of enthalpy and entropy for each pH value. It can be  
264 seen that both parameters decreased when the pH value was increased.

265 The conclusions from kinetic compensation are the same as the conclusions from  
266 thermodynamic compensation. As both conclude an enthalpic control of the reaction,  
267 the kinetic constant can be increased without increasing the temperature by decreasing  
268 the activation energy or increasing the frequency factor without using thermal energy.  
269 Before studying the increase in the kinetic constant at constant temperature, it could be  
270 interesting to know the usefulness of the isokinetic temperature.

271

## 272 **Kinetic and thermodynamic equilibrium studies**

273 Both kinetic and thermodynamic compensation show paths to reach isoequilibrium.  
274 Kinetic compensation concludes the existence of a temperature of isoequilibrium called  
275 the isokinetic temperature ( $T_B$ ) for the whole family of reactions studied. The isokinetic  
276 temperature is the temperature value at which the kinetic constant would be the same  
277 ( $k_{eq}$ ) for any pH value included on the compensation line. Figure 3 shows how the  
278 kinetic constant varies with temperature for each pH value. The lines show the trend of  
279 kinetic values towards the isoequilibrium point ( $T_B$ ,  $k_{eq}$ ). For all the pH values studied,  
280 the kinetic constants tend towards the same value  $k_{eq} = 16.6 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  when the reaction  
281 takes place at the isokinetic temperature ( $T_B = 388.0 \text{ K}$ ). It is worth noting that the  
282 isoequilibrium point found by isokinetic compensation is a real point and if some  
283 experiments were done at this isokinetic temperature, the kinetic constant obtained for  
284 different values of pH would be the same (Flores-Andrade et al., 2009).

285 The study of thermodynamic compensation also concludes the existence of the  
286 isokinetic temperature ( $T_B$ ) for the whole family of reactions studied defined by  
287 different values of pH. This isokinetic temperature is the value at which the reaction  
288 takes place with the same value of free energy of activation ( $\Delta G_B$ ). Figure 4 shows how  
289 the free energy of activation ( $\Delta G$ ) varies with temperature for each pH value. The lines  
290 show the trend toward the isoequilibrium point ( $T_B$ ,  $\Delta G_B$ ). As mentioned above, the  
291 isokinetic temperature found by kinetic compensation is similar to the value obtained  
292 from thermodynamic compensation, which confirms the close relation between both  
293 compensation processes. The value obtained for the free energy of activation at the  
294 isoequilibrium point is  $\Delta G_B = 26645 \text{ J mol}^{-1}$ , the isokinetic temperature being  $T_B =$   
295  $362.1 \text{ K}$ . This isoequilibrium point means that if the reaction took place at the isokinetic

296 temperature  $T_B$  and any pH value within the studied range, the free energy of activation  
297 would be the same ( $\Delta G_B$ ) regardless of the pH value.

298 According to Arrhenius's equation (Equation 1), if the temperature is constant, the  
299 kinetic constant increases proportionally with the frequency factor, while it decreases  
300 exponentially with the activation energy.

301 Figure 5 shows the changes in the activation enthalpy and entropy at different pH  
302 values. When the pH changes from 3 to 6.5, the entropy decreases from  $-26.3 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$   
303 to  $-62.5 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ , as was expected according to the decrease in the OTA solubility.

304 The decrease in the entropy of the reaction system is due to the lower mobility of the  
305 molecules, diminishing the collisions, with matches with the values for  $K_0$  in table 2.

306 The enthalpy also decreases from  $17905.0 \text{ J mol}^{-1}$  to  $3681.3 \text{ J mol}^{-1}$ . This decrease is  
307 associated with a decrease in the activation energy (see table 2), and it is probably due  
308 to the fact that the low mobility for the molecules also causes weaker interactions  
309 between OTA and water molecules, forming weaker bonds that require less energy to  
310 break.

311

#### 312 **4.- Conclusions**

313 The photo-degradation of OTA in aqueous solutions follows first-order kinetics for the  
314 acidic pH values that can be found in a must where OTA can be present. From the  
315 kinetics constants, kinetic and thermodynamic compensations were concluded. The  
316 isokinetic temperature obtained was 388.0 K and 362.1 K for the kinetic and  
317 thermodynamic compensations, respectively. As both isokinetic temperatures are  
318 similar, both compensations agree with each other. As both parameters are also clearly  
319 higher than the harmonic mean temperature (302.8 K), the compensation cannot be due  
320 to the propagation of experimental error and the mechanism that controls OTA photo-

321 degradation is enthalpic, meaning that the kinetic parameter that most influences the  
322 value of the kinetic constant is the activation energy rather than the frequency factor.

323

324

## 325 **Acknowledgements**

326 The authors kindly thank the *Ministerio de Ciencia e Innovación* of the Spanish  
327 Government for the funding received in the project CTQ2011-26569. Ebner Azuara  
328 thanks CONACYT-México for his sabbatical grant (project 203997).

329

## 330 **References**

331 Azuara, E., & Beristain, C.I. (2006). Enthalpic and entropic mechanisms related to water sorption of  
332 yogurt. *Drying Technology*, 24 (11), 1501–1507.

333 Azuara, E., & Beristain, C.I. (2007). Thermodynamic and kinetic study of water adsorption on whey  
334 protein. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6 (3), 359–365.

335 Beristain, C.I., García, H.S., & Azuara, E. (1996). Enthalpy-entropy compensation in food vapor  
336 adsorption. *Journal of Food Engineering*, 30 (3), 405–415.

337 Beristain, C.I., Vernon-Carter, E.J., & Azuara, E. (2011). Thermodynamic and kinetic criteria to study the  
338 stability of dried foods. In: Mariann A. Coneau (ed) *New Topics in Food Engineering*, pp 150-170.  
339 Nova Science Publishers, Inc., New York, USA.

340 Bullerman, L.B., Bianchini, A. (2008). Stability of mycotoxins during food processing. *International*  
341 *Journal of Food Microbiology*, 119, 140-146.

342 Chandler, D. (2002). Two faces of water. *Nature*, 417, 491.

343 Chodera, J. D., & Mobley, D. L. (2013). Entropy–enthalpy compensation: role and ramifications in  
344 biomolecular ligand recognition and design. *Annual Review of Biophysics*, 42(1), 1–19.

345 Dill, K.A., Truskett, T.M., Vlachy, V., & Hribar-Lee B. (2005). Modeling water, the hydrophobic effect,  
346 and ion solvation. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 34,173–99.

347 Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011). Ultraviolet processing of liquid food: A  
348 review. Part 1: Fundamental engineering aspects. *Food Research International*, 44, 1571–1579.

349 Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2011). Ultraviolet processing of liquid food: A  
350 review. Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. *Food Research*  
351 *International*, *44*, 1580–1588.

352 Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., Garvín, A., & Ibarz, A. (2012). Inactivation of polyphenol oxidase by  
353 ultraviolet irradiation: protective effect of melanins. *Journal of Food Engineering*, *110* (2), 305–309.

354 Flores-Andrade, E., Beristain, C.I., Vernon-Carter, E.J., Gutiérrez, G.F., & Azuara, E. (2009). Enthalpy–  
355 entropy compensation and water transfer mechanism in osmotically dehydrated agar gel. *Drying*  
356 *Technology*, *27*(9), 999–1009.

357 García, C.F., Moyano, P.C., & Pedreschi, F. (2008). Enthalpy-entropy compensation for water loss of  
358 vegetable tissues during air drying. *Drying Technology*, *26* (12), 1563–1569.

359 Ibarz, A., Pagán, J., Panadés, R., & Garza, S. (2005). Photochemical destruction of color compounds in  
360 fruit juices. *Journal of Food Engineering*, *69*(2), 155–160.

361 Ibarz, A., Garza, S., Garvín, A., & Pagán, J. (2008). Kinetics of peach clarified juice discoloration process  
362 with an adsorbent resin. *Food Science and Technology International*, *14*(5), 57–62.

363 Ibarz, R., Garvín, A., Falguera, V., Pagán, J., Garza, S., & Ibarz, A. (2014). Modelling of patulin photo-  
364 degradation by a UV multi-wavelength emitting lamp. *Food Research International*, *66*, 158-166.

365 Ibarz, R., Garvín, A., Azuara, E., & Ibarz, A. (2015). Modelling of ochratoxin A photo-degradation by a  
366 UV multi-wavelength emitting lamp. *LWT - Food Science and Technology*, *61*, 385-392.

367 Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods.  
368 *Food and Bioprocess Technology*, *2*(2),138–155.

369 Krug, R.R., Hunter, W.G., & Grieger, R.A. (1976). Enthalpy-entropy compensation.2—Separation of the  
370 chemical from the statistical effect. *Journal of Physical Chemistry*, *80* (21), 2341–2351.

371 Labuza, T.P. (1980). Enthalpy/entropy compensation in food reactions. *Food Technology*, *34* (2), 67–77.

372 Leeson, S., Díaz, G. J., & Summers, J. D. (1995). Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University  
373 Books, Guelph, Ontario, Canada.

374 Leffler, J.E. (1955). The enthalpy-entropy relationship and its implications for organic chemistry. *Journal*  
375 *of Organic Chemistry*, *20* (9), 1202–1231.

376 Lum, K., Chandler, D., Weeks, J.D. (1999). Hydrophobicity at small and large length scales. *Journal of*  
377 *Physical Chemistry B*, *103* (22), 4570–4577.

378 Missen, R.W., Mims, C.A., & Saville, B.A. (1999). Introduction to Chemical Reaction Engineering and  
379 Kinetics. John Wiley & Sons Inc., New York, NY, USA.

380 Pascual-Pineda, L.A., Flores-Andrade, E., Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J.J., Beristain, C.I.,  
381 Gutiérrez-López, G.F., & Azuara, E. (2014). Micropores and their relationship with carotenoids  
382 stability: A new tool to study preservation of solid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 7(4), 1160-  
383 1170.

384 Starikov, E.B., & Nordén, B. (2012). Entropy–enthalpy compensation as a fundamental concept and  
385 analysis tool for systematical experimental data. *Chemical Physics Letters*, 538, 118–120.

386 Tarasevich, Y.I. (2011). State and structure of water in vicinity of hydrophobic surfaces. *Colloid*  
387 *Journal*, 73(2), 257-266.

388 Williams, D.H., O'Brien, D.P., & Bardsley, B. (2001). Enthalpy/Entropy Compensation as a Competition  
389 between Dynamics and Bonding: The Relevance to Melting of Crystals and Biological Aggregates.  
390 *Journal of American Chemical Society*, 123(4), 737-738.

391 Zimmer, K.D., Shoemaker, R., & Ruminski, R.R. (2006). Synthesis and characterization of a fluxional  
392 Re(I) carbonyl complex *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(dpop')Cl] with the nominally tri-dentate ligand dipyrido (2,3-  
393 *a*:3',2'-*j*) phenazine (dpop'). *Inorganica Chimica Acta*, 359 (5), 1478-1484.

**Table 1.-** First-order kinetics fitted parameters for the photo-degradation of OTA in aqueous solution.

<i>pH</i>	<i>T</i> (°C)	<i>k</i> (min <sup>-1</sup> )	<i>R</i> <sup>2</sup>
3	15	0.0161	0.9980
	25	0.0197	0.9984
	35	0.0246	0.9924
	45	0.0367	0.9455
4	15	0.0496	0.9988
	25	0.0543	0.9974
	35	0.0547	0.9984
	45	0.0952	0.9901
5	15	0.0429	0.9361
	25	0.0525	0.9805
	35	0.0605	0.9847
	45	0.0714	0.9275
6	15	0.0645	0.9968
	25	0.0655	0.9985
	35	0.0829	0.9905
	45	0.0900	0.9476
6.5	15	0.0750	0.9943
	25	0.0813	0.9954
	35	0.0876	0.9471
	45	0.0960	0.9488

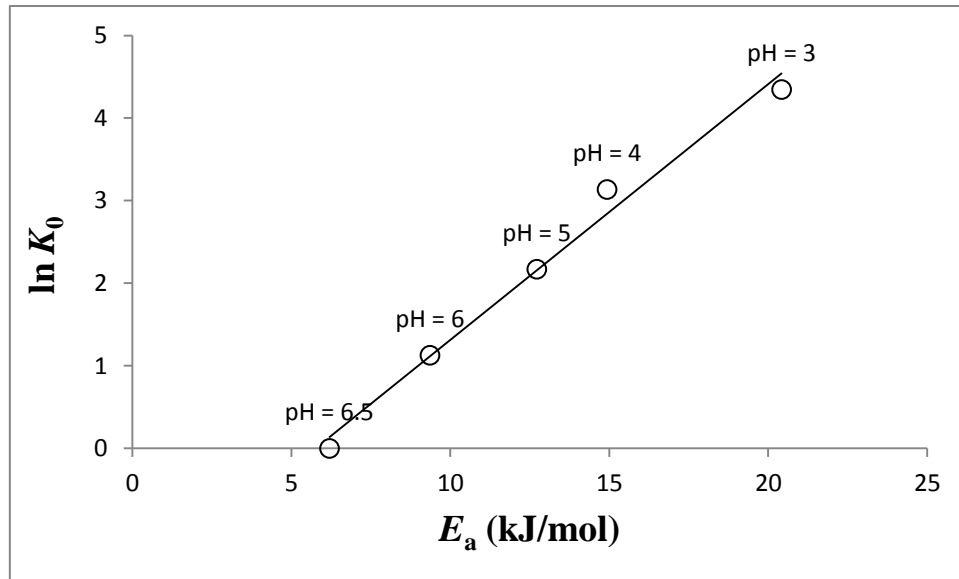
**Table 2.-** Fitted parameters of Arrhenius equation for each *pH* value.

<i>pH</i>	$E_a$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )	$K_0$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$
3	20.42	77.23	0.9799
4	14.93	23.01	0.9907
5	12.72	8.76	0.9987
6	9.36	3.09	0.9473
6.5	6.20	1.00	0.9979

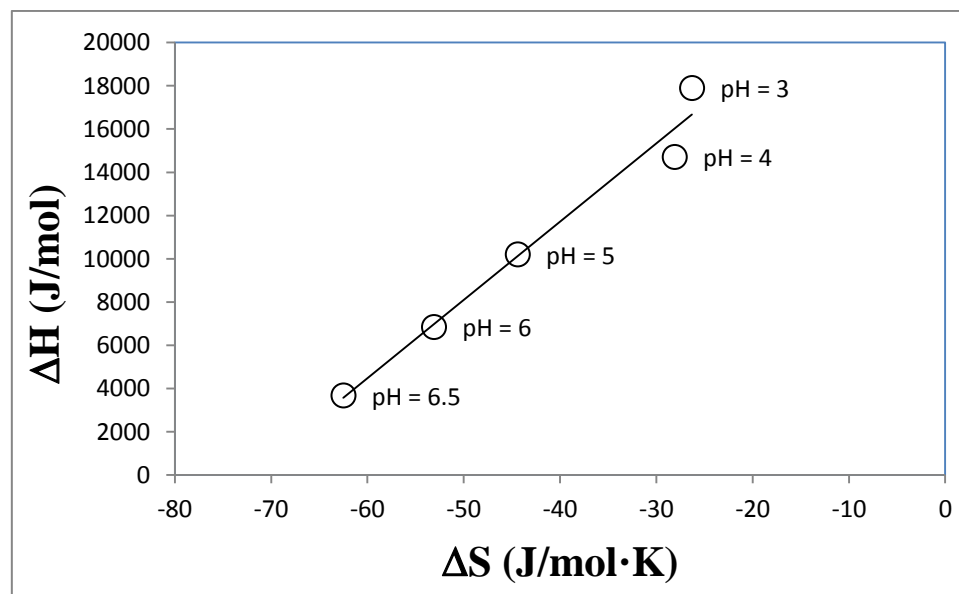
**Table 3.-** Fitted parameters for the enthalpy and entropy variation for each *pH* value.

<i>pH</i>	$\Delta S$ (J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$\Delta H$ (J·mol <sup>-1</sup> )	$R^2$
3	-26.3	17905	0.9745
4	-28.1	14716	0.9649
5	-44.4	10208	0.9978
6	-53.1	6847	0.9085
6.5	-62.5	3681	0.9949

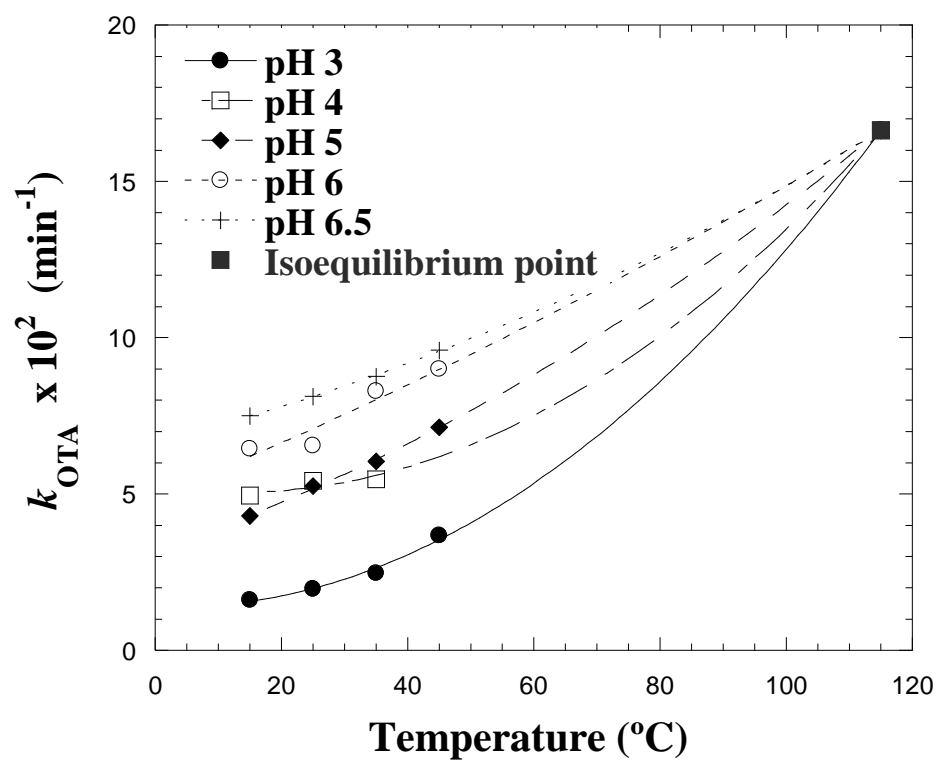




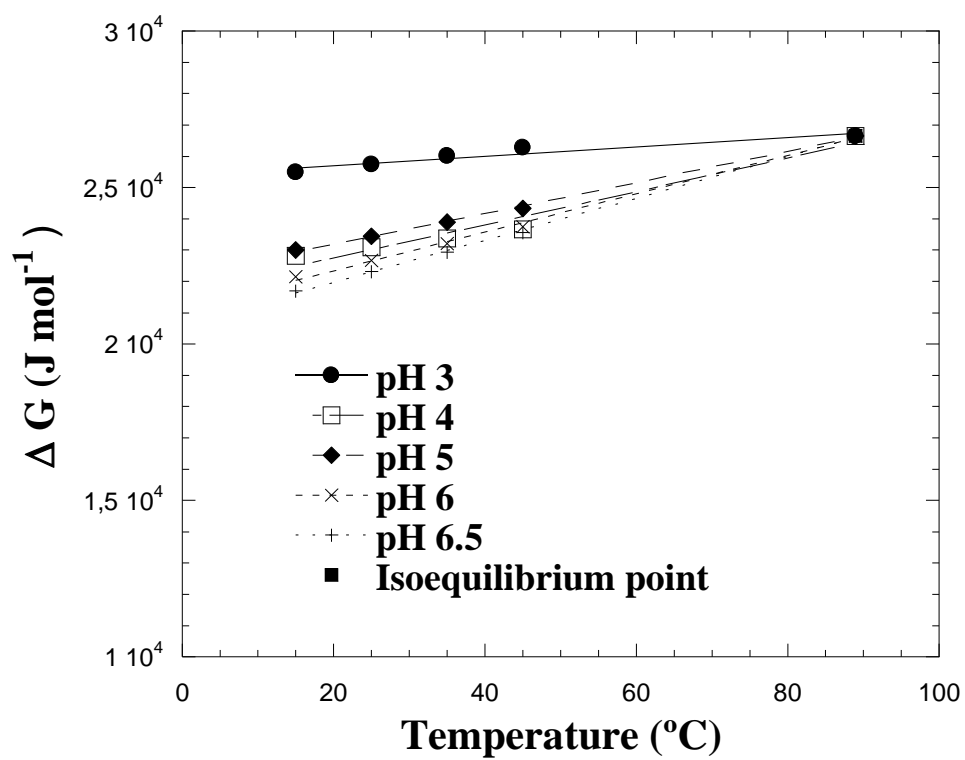
**Figure 1.** Kinetic compensation for the photo-degradation of OTA.



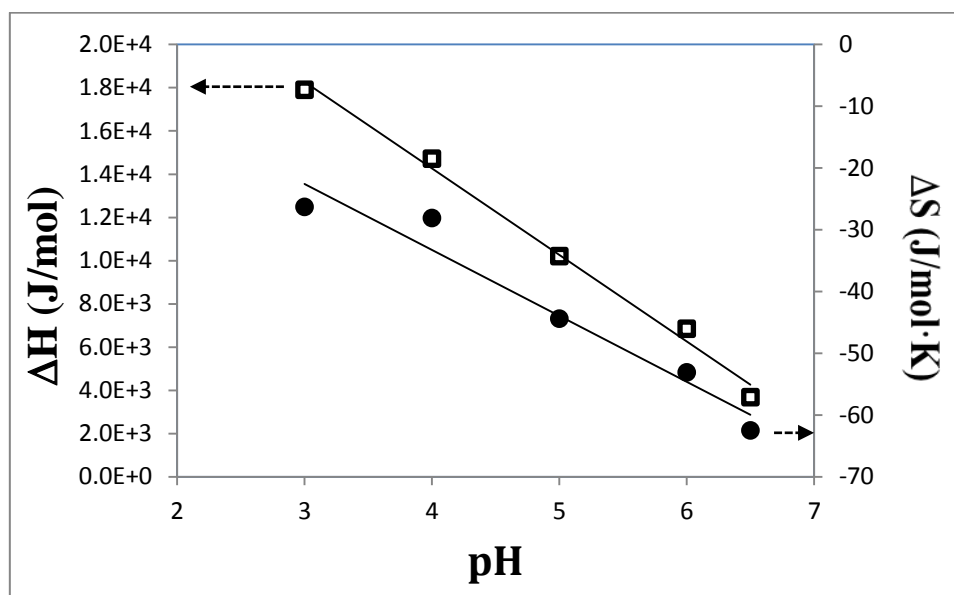
**Figure 2.** Thermodynamic compensation for the photo-degradation of OTA.



**Figure 3.** Variation of the kinetic constant as a function of the temperature for each pH value.



**Figure 4.** Gibbs free energy changes as a function of the temperature for each pH value.



**Figure 5.** Variation of enthalpy and entropy as a function of the pH value for the photo-degradation of OTA.