

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA



**VALORACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE VERMICOMPOSTS
DE RESIDUOS VITIVINÍCOLAS Y OLEÍCOLAS EN EL
CONTROL DE PLAGUICIDAS EN SUELOS**



TESIS DOCTORAL

Jesús Dionisio Fernández Bayo

Granada, 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Jesús Dionisio Fernández Bayo
D.L.: GR. 190-2009
ISBN: 978-84-691-8584-1

UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA

VALORACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE VERMICOMPOSTS DE
RESIDUOS VITIVINÍCOLAS Y OLEÍCOLAS EN EL CONTROL DE
PLAGUICIDAS EN SUELOS

Memoria presentada por el Licenciado en Ciencias Ambientales Jesús
Dionisio Fernández Bayo para optar al grado de Doctor Europeo por la
Universidad de Granada.

Granada, 30 de Octubre de 2008

Fdo. : Jesús Dionisio Fernández Bayo

Directores de la Tesis Doctoral

Fdo: Esperanza Romero Taboada
Dra en Farmacia
Científica Titular del CSIC

Fdo: Rogelio Nogales Vargas-Machuca
Dr. en Ciencias Biológicas
Investigador Científico del CSIC

ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN, CSIC, GRANADA

Este trabajo de Tesis Doctoral ha sido realizado en el Departamento de Protección Ambiental (Grupo de investigación "Relaciones Planta-Suelo") de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC). El presente estudio se encuadró dentro de los objetivos científicos-técnicos propuestos en los Proyecto de investigación subvencionados por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología y cofinanciado con fondos FEDER *REN2003-04693 "Desarrollo de nuevas alternativas mediante la reutilización de residuos agroindustriales como enmiendas orgánicas para el control de plaguicidas en suelos y la prevención de la contaminación de los recursos hídricos"* y *CTM2006-12214 "Aprovechamiento de residuos agroindustriales como enmiendas orgánicas del suelo para la reducción de la transferencia de plaguicidas a otros medios. Repercusión en la biodisponibilidad de estos xenobióticos, implicaciones de la microbiota en la descontaminación del suelo y validación de la tecnología mediante estudios de campo"*. Para la realización del presente trabajo el Ldo. Jesús Dionisio Fernandez Bayo disfrutó de una Beca Predoctoral de Formación de Personal de Investigación (FPI) del MEC asociada al proyecto REN2003-04693.

A mi familia

A la vida

AGRADECIMIENTOS

Tras estos años de extenso trabajo querría agradecer a todos los organismos y personas que han aportado en mayor o menor medida su granito de arena para la elaboración de esta tesis doctoral:

A los organismos que han permitido la realización de esta tesis. En primer lugar al actual Ministerio de Ciencia e Innovación, por la concesión de la beca de Formación de Personal Investigador y a la comisión interministerial de Ciencia y Tecnología, de donde procede la financiación de esta tesis a través de los proyectos REN2003-04693 y CTM2006-12214. Al Consejo Superior de Investigaciones científicas organismo al que pertenece la Estación Experimental del Zaidin, lugar donde se ha realizado prácticamente toda la tesis.

A la Dra. Esperanza Romero Taboada, por la dirección de esta tesis. Reconocer la difícil tarea que es dirigir una tesis. Agradecer sus conocimientos, su confianza depositada en mí y la libertad y apoyo que me ha permitido asistir a numerosos congresos y realizar estancias que sin duda han sido experiencias que han llenado de valor sentimental y profesional este trabajo. Por su paciencia para conmigo y por ser una estupenda persona.

A Rogelio Nogales Vargas-Machuca, por el intenso, importante y desapercibido control que ha llevado sobre las tareas realizadas en esta tesis. Por su importante labor en el grupo de investigación, sin la cual, este grupo no se habría desarrollado tanto como lo ha hecho en estos pocos años que he tenido la suerte de compartir.

A la Dra. Emilia Fernández Ondoño, que hace ya unos cuantos años que ha estado ahí para ayudarme y aconsejarme cuando ha sido necesario. Por su cariño y estima, por no separarme del mundo de los suelos y, por supuesto, por su tutoría en la realización del Diploma de Estudios Avanzados. En general, al Dpto. de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Granada que me permitió colaborar en su investigaciones y me dio la oportunidad de enseñar parte lo que en su tiempo yo aprendí. En especial a Paco, María e Irene.

A D^a. Amparo Salido, quien ha aportado un gran trabajo a esta tesis, sin cuya labor, esta tesis no sería ni la mitad de lo que es. Y por aportar unas veces de manera acertada y otras no tanto, carácter al laboratorio.

A Celia Cifuentes la alegría y la eficiencia en el laboratorio, que siempre estuvo ahí para enseñar todo lo que se puede aprender en el laboratorio, desde manejo de pipetas hasta protocolos enteros, con orden, con trucos, con mano dura cuando era

necesario, la persona soñada para tener en un laboratorio y una compañera y, sobretodo, amiga increíble. Que suerte tiene su bebé.

Al Instituto de Química de la Agrosfera (Forschungszentrum Jülich, Alemania) y al Instituto de Química de UNICAMP (Brasil), y al gente que me permitió usar sus laboratorios para el aprendizaje de nuevas técnicas, la Dra. Frauke Schnitzler, Profesor Claudio Airoidi, Profesor José de Alencar Simoni y, en especial, al profesor Peter Burauel, que ha sido enormemente amable conmigo, me ha apoyado y ha confiado en mi y mi trabajo. También hay que incluir en este apartado a mis compañeros y amigos del mundo como Alani, Cibelle, Amalia, Raidar, Herika, Simona, Luisito... en especial a Kaline y Ricardinho,

A Gabriel Delgado, por donar desinteresadamente los suelos que forman parte del núcleo de esta tesis, por su amabilidad y consejos de última hora.

Al Dr. Emilio Benitez, por estar dispuesto a resolver cualquier duda y ayudar siempre que haya sido necesario. Y al resto de los que formábamos parte del Dpto. de Protección vegetal, Mercedes Campos (jefa y persona ejemplar), Herminia, Juan Sánchez Raya y Paco Gallardo.

Al Dr. Javier Huertas por su desinteresada colaboración en el análisis de arcillas con difracción de rayos X.

Al grupo de personas que viene a continuación podría escribir un libro entero expresamente de agradecimientos para poder expresar sólo una parte de todo lo que me han aportado en este tiempo, algunos hasta necesitarían un libro solo para ellos mismos, creo que cada uno es consciente de en qué medida le puedo estar agradecido. A todos le agradezco sus consejos, crítica, conocimientos, pero lo que mas le puedo agradecer es el que se cruzaran en mi camino ya que forman parte de mi: Belen, Estefi, Carlos, Fer, Mariu, Dianita, Rosita, Regi, Luisa, Lourdes, Laura , Antonio, Ivan, Sol, Mar, Pablo, Jean, Paco, Mario, Bea, Manuel Saavedra, Astrid, Marcela, Carmen, Gloria, Paloma...y por supuesto a aquellos que pasaron fugazmente por la EEZ y también aportaron su granito de arena, Érika, Enrique, Mari Luz, Ana, Jesús,... y muchos más. A todos mil Gracias!

También quiero a incluir a mis amigos fuera del mundo de la EEZ, principalmente por eso, por ser mis amigos y apoyo moral...mis amigos del barrio (Jose, Carlos, Cuco, Manolo, Migue, Tuti, Cande, Calia, María, Cristina, Fati, Isa, Elena...), mis amigos de la facu (Lorenita, Armando, Juanjo, Lupe, Carlu, Alberto, Diego, Alf,...) y al resto, los de la caravana, a Yoya, Samu, en especial a Isa...

Por supuesto no puedo dejar de lado a la que fue mi florecilla y permaneció junto a mí y me animó en parte de los duros momentos que uno sufre en el transcurso de una tesis y que estuvo ahí para escucharme y...quererme. Y a su familia.

Y finalmente a mi gran familia, que se que me quiere y en especial a mis padres y mi hermana, los mejores. Es imposible expresar con palabras lo que les puedo agradecer su cariño, amor, calor, comprensión, libertad, respeto...con sus virtudes y defectos son simplemente una familia perfecta.

Gracias!

ÍNDICE

INDICE

<i>SUMMARY</i>	1
<i>OBJETO DEL TRABAJO</i>	7
<i>CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN</i>	13
I.1. Residuos	15
I.1.1. Estado actual de la producción y gestión de residuos	15
I.1.2. Residuos agroindustriales	17
I.1.2.1. Industria vitivinícola	17
I.1.2.1.1. Elaboración del vino y generación de residuos	17
I.1.2.1.2. Tipos de residuos vitivinícolas y su valorización	18
I.1.2.2. Industria oleícola	20
I.1.2.2.1. Elaboración del aceite de oliva y generación de Residuos	20
I.1.2.2.2. Tipos de residuos oleícolas y su valorización	21
I.1.2.3. Valorización de los residuos orgánicos como enmiendas	22
I.1.2.4. Vermicompostaje de residuos orgánicos	23
I.1.2.4.1. Definición	23
I.1.2.4.2. Factores influyen en los procesos de vermicompostaje	24
I.1.2.4.3. Cambios durante el proceso de vermicompostaje	26
I.1.2.4.4. Criterios de calidad del vermicompost	27
I.1.2.4.5. Utilización del vermicompost en agricultura	28
I.2. Influencia de las enmiendas en las principales propiedades del suelo	29
I.2.1. Materia orgánica	29
I.2.1.1. Sustancias Húmicas	32
I.2.1.2. Materia orgánica disuelta	34
I.2.2. Estructura del suelo	34
I.2.3. Efectos sobre la retención y almacenamiento de agua del suelo	35
I.2.4. pH	36
I.2.5. Capacidad de cambio catiónico	36
I.3. Plaguicidas	37
I.3.1. Historia de los plaguicidas	38
I.3.2. Clasificación de los plaguicidas	39
I.3.2.1. Clasificación química de los plaguicidas	39

I.3.2.2. Clasificación en función del blanco sobre el que inciden	39
I.3.2.2.1. Insecticidas	40
I.3.2.2.1. Herbicidas	42
I.3.2.3. Clasificación toxicológica de plaguicidas	44
I.3.3. Estado actual del uso de plaguicidas	45
I.3.4. Consecuencias negativas debidas al uso de plaguicidas	47
I.3.5. Procesos que rigen la dinámica de plaguicidas en el suelo	49
I.3.5.1. Procesos que contribuyen a su persistencia en el suelo	50
I.3.5.1.1. Adsorción	50
I.3.5.1.2. Degradación	55
I.3.5.2. Procesos de transferencia	56
I.3.5.2.1. Volatilización	56
I.3.5.2.2. Escorrentía	57
I.3.5.2.3. Lixiviación	57
I.3.6. Factores que regulan la dinámica de plaguicidas en el suelo	58
I.3.6.1. Características del suelo que regulan la dinámica de los Plaguicidas	58
I.3.6.1.1. Textura del suelo	59
I.3.6.1.2. Coloides del suelo	59
I.3.6.1.3. Estructura del suelo	62
I.3.6.1.4. pH	62
I.3.6.1.5. Capacidad de cambio catiónico	62
I.3.6.2. Propiedades del plaguicida que rigen su dinámica en el suelo	63
I.3.6.2.1. Estructura química	63
I.3.6.2.2. Volatilidad	63
I.3.6.2.3. Solubilidad	63
I.3.6.2.4. Coeficiente de partición	64
I.3.6.2.5. Estado iónico (pK_a y pK_b)	64
I.3.6.2.6. Persistencia	65
I.3.6.3. Otros factores	66
 CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	 69
 II.1. Suelos	 71
II.1.1. Suelo Bc. Cambisol crómico	72
II.1.2. Suelo Vc. Vertisol crómico	74
II.1.3. Métodos analíticos de caracterización de Suelos	76
II.1.3.1. Preparación de muestras	76
II.1.3.2. Textura	76
II.1.3.3. Carbono Orgánico Total (COT)	77
II.1.3.4. Carbono Extraíble Total (CET) y Ácidos Húmicos (AH)	77
II.1.3.5. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	77
II.1.3.6. Capacidad de retención de agua del suelo	77
II.1.3.7. pH	78
II.1.3.8. Área superficial	78

II.1.4. Características físico-químicas de los suelos	78
II.2. Vermicompost	80
II.2.1. Residuos agroindustriales seleccionados	80
II.2.2. Análisis de los residuos agroindustriales, vermicompostados y sin vermicompostar	81
II.2.2.1. Determinación del pH y conductividad eléctrica (CE)	81
II.2.2.2. Carbono orgánico total (COT)	81
II.2.2.3. Carbono hidrosoluble	81
II.2.2.4. Carbono extraíble total (CET), ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF)	81
II.2.2.5. Nitrógeno kjeldahl total (NKT)	82
II.2.2.6. Polifenoles	82
II.2.2.7. Ligninas	82
II.2.3. Preparación de las literas	83
II.3. Análisis cromatográfico de los plaguicidas y sus metabolitos	85
II.3.1. Condiciones cromatográficas	85
II.3.2. Curvas de calibrado	88
II.4. Principales plaguicidas del estudio	90
II.4.1. Imidacloprid	90
II.4.1.1. Toxicidad	90
II.4.1.2. Imidacloprid en el medio ambiente	91
II.4.1.3. Degradación	92
II.4.2. Diuron	93
II.4.3.1. Toxicidad	94
II.4.3.2. Diuron en el medio ambiente	94
II.4.3.3. Degradación	95
<i>CAPITULO 3. EFECTO DEL PROCESO DE VERMICOMPOSTAJE EN LA CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE PLAGUICIDAS MEDIANTE EL USO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES</i>	97
Resumen	99
Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes	101
<i>CAPITULO 4. EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ADSORCIÓN DE IMIDACLOPRID Y DIURÓN EN 8 SUELOS AGRÍCOLAS PROCEDENTES DEL SURESTE DE EUROPA MEDIANTE EL USO DE DIFERENTES MODELOS CINÉTICOS</i>	111
Resumen	113

Evaluation of the sorption process for imidacloprid and diuron in eight agricultural soils from Southern Europe using various kinetics models.	115
<i>CAPITULO 5. INCREMENTO DE LA RETENCIÓN DE IMIDACLOPRID (CONFIDOR®) EN SUELOS MEDIANTE LA ADICIÓN DE VERMICOMPOST DE ORUJO AGOTADO</i>	123
Resumen	125
Improved retention of imidacloprid (Confidor®) in soils by adding vermicompost from spent grape marc	127
<i>CAPITULO 6. VALORACIÓN DEL USO DE VERMICOMPOST DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO ENMENDANTES ORGÁNICOS EN SUELOS CON BAJO CONTENIDO EN CARBONO ORGÁNICO PARA FAVORECER LA ADSORCIÓN DE DIURÓN</i>	133
Resumen	135
Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content	137
CAPÍTULO 7. VALORACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD DE PLAGUICIDAS EN LAS FRACCIONES DEL SUELO DESPUÉS DE INCORPORAR VERMICOMPOST PROCEDENTES DE INDUSTRIAS VITIVINÍCOLAS Y ALCOHOLERAS	169
Resumen	171
Assesment of pesticide availability in soil fractions alter the incorporation of winery-distillery vermicomposts	173
<i>CAPÍTULO 8. ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS VERMICOMPOST PROCEDENTES DE INDUSTRIAS VITIVINÍCOLAS EN LA DEGRADACIÓN DE IMIDACLOPRID Y DIURÓN EN DOS SUELOS AGRÍCOLAS</i>	181
Resumen	183
Study of the effect of two vermicompost from winery industries on imidacloprid and diuron degradation in two types of agricultural soils	185
<i>CAPITULO 9. DISCUSIÓN GENERAL</i>	209
CONCLUSIONES	223
CONCLUSIONS	227
BIBLIOGRAFÍA	231



SUMMARY (RESUMEN)

The propose of the present work is to look for new alternatives to re-use organic wastes from winery, distillery and olive oil industries as organic amendments of agricultural soils to control the behaviour of pesticides in the environment.

In some cases, the direct application of these wastes to soils is forbidden. To develop our objective, was therefore necessary to stabilize the organic matter. We designed different vermicomposting processes with the main wastes from these agricultural industries (vine-shoot, spentgrape marc, biosolid vinasse and alperujo or wet olive cake). To carry out this objective, several soil processes that take place after the application of pesticides were studied in unamended and amended soils.

Preliminary investigations were carried out with the different wastes selected to evaluate their pesticides sorption capability with different chemical character. Four types of organic wastes samples consisting on unmixed or mixed wastes, vermicomposted or not vermicomposted, were tested as sorbents of anionic and no-ionic pesticides. The organic wastes samples were: spent grape marc, spent grape marc mixed with lees cake (ratio 1:1), biosolid vinasse mixed with vine shoots (ratio 2:1) and *alperujo* mixed with manure (ratio 4:1). The pesticides were four herbicides (sulfuron-methyl, metsulfuron-methyl, flazasulfuron and diuron) and one insecticide (imidacloprid).

The vermicomposing process was more effective in the organic sample with low lignin content. The vermicomposted or not vermicomposted organic wastes showed a significant good sorption capacity of diuron and imidacloprid, but very light for anionic pesticides. The sorption constants of imidacloprid and diuron were no related with the humification degree of these organic wastes samples either with their organic carbon (OC) contents. The retention was mainly correlated with the lignins contents.

The sorption kinetics of diuron and imidacloprid were determined in eight different soils with low organic carbon content. Sorption kinetic parameters were worked out from three of the four kinetic models selected: Pseudosecond-order kinetic reaction, Elovich equation and Weber-Morris model. The pseudosecond-order kinetic function closely conform the experimental kinetics. Imidacloprid sorption was less time-dependent than diuron but in both cases an apparent equilibrium was reached within 6 h. The sorption of imidacloprid correlated with silt and sand content and the cation exchange capacity, these properties are usually masked in soils with higher OC content. Diuron did not correlate any property; however, it was more sorbed than imidacloprid. Elovich equation fit to most of the experimental kinetics of soil samples describing two sorption steps. The Weber and Morris model showed an important boundary layer effect for diuron and pointed out that the

partition of this molecule has also a major influence on the initial sorption stage. Sorption kinetics took place throughout different mechanisms related mainly to the chemical character of these pesticides.

Imidacloprid sorption, as active ingredient or commercial formulation Confidor[®], was studied in different soils with low OC content at different temperatures, 15 and 25°C. Two selected soils, a sandy loam and a silty clay loam, soils were 5% and 10% amended with grounded or natural spent grape marc. The results showed that sorption isotherm of the active ingredient and confidor were similar and properly followed the sorption Freundlich model. The sorption was highly correlated with soil OC content ($R^2=0.95$, $P<0.01$) except in two soils with higher sorption constant than that expected due to their OC content. An increment in the temperature reduced the sorption capacity of the soils. The amendment of these soils with spent grape marc-vermicompost increased significantly the sorption of imidacloprid. This effect was more evident in the sandy loam soils and with the application of ground vermicompost, increasing the Freundlich constant (K_f) values up to 15 fold. In the other hand the silty clay loam soil presented slower desorption than the sandy loam due to the higher clay and OC content.

Respect to diuron, sorption-desorption studies were made in the two previous selected soils unamended and amended (5% and 10%) with vermicompost of spent grape marc, biosolid vinasse and *alperujo*. The effect of soil and vermicompost characteristics, the solution's ionic strength and the evolution of these wastes in the soils incubated for six week on the diuron sorption process were also considered. As expected the vermicompost addition increased sorption capacity 2-4 fold. Spent grape marc was the most effective vermicompost due the highest OC and lignin content and *alperujo* was the most ineffective, due to the low total OC and high dissolved OC (DOC) content. The sorption of diuron was modified with the addition of the calcium chloride solution. The incubation time reduced the sorption capacity of the vermicompost-amended soil except in the soil amended with *alperujo*. Despite of this fact, the soil amended with the vermicompost of biosolid vinasse and vine shoot showed the highest sorption capacity.

Previous works from literature described that the DOC from the organic amendments applied to the soil may contribute to increase the solubility of the pesticides or the displacement of the pesticide residues to surface or groundwaters due to its interaction with the colloidal and dissolved organic matter. Therefore, the distribution of diuron was investigated in different soil fractions from unamended and 5% amended samples incubated with ¹⁴C-labelled diuron for 77d. The formation of bound residues and the mineralization was also evaluated. The augmentation of the DOC in the soils due to the vermicompost addition did not increase the desorbed fraction of diuron. These vermicomposts showed a insignificant contribution to the

formation of bound residues in the amended soil samples. The more important fraction in the formation of bound residues in the unamended soil was the silt-sized fraction, and in the amended soil it was the coarse-waste fraction, being more important in the vermicompost from biosolid vinasse with vine-shoot. Mineralization was slightly detected in all the samples but no vermicompost effect was observed.

To evaluate the influence of these vermicomposts on the degradation process of diuron and imidacloprid, different incubation experiments were carried out with the two selected soil 5% amended with spent grape marc and biosolid vinasse with vine-shoot, respectively. Desorbed and extracted fractions of pesticide residues as well as soil enzymatic activities, dehydrogenase and urease, were analysed at different times. The vermicompost significantly increased the dehydrogenase and urease activities. However, these increments were not correlated with pesticide degradation. During the extraction, diuron metabolites were determined, meanwhile none imidacloprid metabolites were detected. The higher vermicompost effect was observed in the availability and degradation of diuron in the sandy-loam soil, where higher amount of metabolites were also analysed. The degradation rate in the silty-clay-loam soil was high in both, unamended and amended, soil samples. This may be due to the high urease activity determined in these samples. The diuron degradation was fast and fitted properly to single first order kinetic. Imidacloprid degradation was scarce and, in the amended samples, fitted better to a first order multicompartiment degradation kinetic. The slight degradation of imidacloprid, 20% in three months, revealed that this insecticide was not a carbon or nitrogen source for the soil microorganisms. This may be due to the presence of other easily transformable compounds from the vermicomposts or to the possible impact that this molecule could have for some microorganisms.



OBJETO DEL TRABAJO

En los últimos años, la Unión Europea ha dedicado especial atención al desarrollo de nuevas tecnologías que posibiliten el uso de prácticas de producción agrícola sostenibles, dirigidas a la explotación racional de los recursos naturales y tendiendo, además a reducir el impacto ambiental que el uso de plaguicidas sintéticos produce en el medio ambiente. Para hacer posible este desarrollo es necesario un cambio de estrategia que implica pasar de la corrección de la contaminación a la prevención. Así, la comunidad científica desde hace tiempo esta desarrollando proyectos dirigidos a conocer el comportamiento de los plaguicidas con la finalidad de prevenir y minimizar los efectos secundarios derivados de su aplicación en la agricultura.

Las propiedades de los plaguicidas, las características del suelo y las condiciones medioambientales, son aspectos que condicionan la persistencia, velocidad de degradación y distribución de estos xenobióticos en el medio. Asimismo, las prácticas agrícolas realizadas por los agricultores pueden modificar el comportamiento de los plaguicidas. En la cuenca mediterránea, con condiciones climáticas especiales y donde predomina el monocultivo intensivo, como la vid, el olivo, o los cultivos protegidos, la mayoría de los suelos agrícolas presentan un contenido de carbono orgánico en la capa arable inferior al 2% (Zdruli y col., 1999). Por ello, una práctica agrícola frecuente en esta área es la aplicación al suelo de enmiendas orgánicas. La adición de enmiendas orgánicas como estiércoles o turbas es una práctica tradicional aunque ambos materiales no siempre se encuentran disponibles en cantidad suficiente, por lo que se hace imprescindible la búsqueda de otras enmiendas orgánicas alternativas. Las enmiendas orgánicas van a repercutir no solo en la calidad del medio edáfico y en la producción vegetal, sino que también van a contribuir a modificar la retención, degradación y movilidad de los plaguicidas (Romero y col., 2000; Sánchez y col., 2003, 2005, 2006). Estas modificaciones en el comportamiento de los plaguicidas en el suelo se encuentran, a su vez, condicionadas por la naturaleza, composición y características de los enmendantes orgánicos aplicados.

Existe una escasa información relativa al uso de las enmiendas procedentes de residuos orgánicos generados por el sector agroindustrial como controladores del comportamiento de plaguicidas en suelos. La recuperación y reutilización de este tipo de residuos constituye un imperativo legal y, por ello, una obligación para este sector económico que necesita desprenderse de ellos sin ocasionar problemas medioambientales y, si es posible, obteniendo a su vez un valor añadido a su actividad económica. Dentro de la amplia gama de residuos generados por las industrias agroalimentarias tienen un especial interés, tanto en España como en otros países, aquellos generados por la agroindustrias vitivinícola y oleícola, consecuencia de la gran implantación del cultivo de la vid y del olivo, que incluso en numerosas áreas del mundo constituye su principal fuente de riqueza. Sin embargo, estos

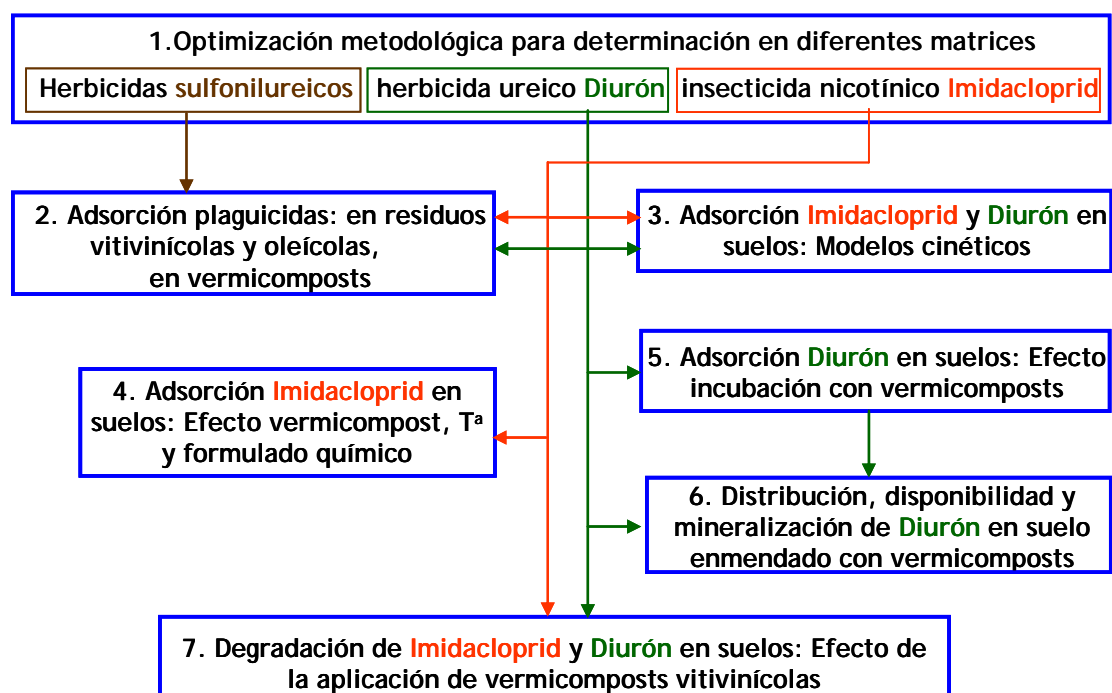
residuos, como ocurre con la mayoría de los generados en otras actividades, deben ser sometidos, antes de su uso como enmiendas, a tratamientos de biodegradación y bioestabilización con objeto de evitar efectos adversos sobre el suelo y la planta (Nogales y col., 1995). Entre estos tratamientos, los procesos de vermicompostaje han demostrado una gran efectividad para biodegradar y bioestabilizar diferentes residuos orgánicos (Benítez y col., 2002; Elvira y col., 1998; Nogales y col., 1999a, 2005, 2008). Además, estos tratamientos de reciclado de bajo coste permiten enriquecer las enmiendas orgánicas en sustancias húmicas y, en la mayoría de los casos, en nutrientes (Nogales y col., 1999b; Romero y col., 2007), constituyendo uno de los insumos agrícolas con mayores expectativas de futuro para potencial el desarrollo de una agricultura sostenible.

En relación a lo anteriormente expuesto, el trabajo de Tesis Doctoral que se presenta tiene como objetivo general estudiar el efecto de la aplicación de diferentes vermicomposts de residuos vitivinícolas y oleícolas, enmiendas orgánicas nunca utilizadas anteriormente, sobre los procesos de adsorción y degradación de plaguicidas en suelos agrícolas, procesos que condicionan la dinámica de esos xenobioticos en el medio edáfico y su posible transferencia a otros medios. Las investigaciones desarrolladas han tratado de proporcionar una información útil que aumente el conocimiento sobre posibles nuevos usos agrícolas de los residuos biotransformados de las agroindustrias vitivinícola y oleícola; estando a su vez orientadas hacia una serie de objetivos específicos, pioneros y vanguardistas que permitan adquirir conocimientos inéditos sobre la dinámica de los plaguicidas en suelos naturales y enmendados orgánicamente. Así y en un plano mas concreto estos objetivos específicos, cuyo resumen se expone en el Esquema 1, fueron los siguientes:

1. Desarrollar y optimizar una metodología analítica que permita la determinación de plaguicidas de diferente naturaleza (herbicidas sulfonilureicos, herbicida ureico -Diuron- e insecticida nicotínico -Imidacloprid-), así como sus metabolitos en diferentes matrices.
2. Evaluar el potencial que presentan los residuos vitivinícolas y oleícolas, así como los vermicomposts obtenidos a partir de ellos, para adsorber plaguicidas de diferente naturaleza química.
3. Estudiar las cinéticas de adsorción, aplicando a su vez diferentes modelos cinéticos, de Imidacloprid y Diuron en suelos agrícolas de diferente naturaleza.
4. Determinar el efecto de la aplicación de vermicomposts vitivinícolas naturales o triturados, temperatura y formulado químico sobre la adsorción de Imidacloprid en suelos agrícolas de diferente naturaleza.

5. Evaluar el efecto de la incubación de un suelo con vermicomposts vitivinícolas y oleícolas sobre la adsorción del herbicida ureico Diuron
6. Profundizar, mediante el uso de radioisótopos, en el conocimiento de la distribución, disponibilidad y mineralización del herbicida Diuron en un suelo enmendado con vermicomposts vitivinícolas.
7. Estudiar la capacidad que presentan los vermicomposts vitivinícolas como enmendantes orgánicos para modificar la degradación de Imidacloprid y Diuron en dos suelos agrícolas, modelizando, a su vez, este proceso en cada sistema suelo-plaguicida.

Esquema 1. Objetivos científicos planteados en la Tesis Doctoral





CAPÍTULO 1
INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Residuos

De acuerdo con nuestra legislación (Ley 10/1998, de 21 de abril, de Residuos) se entiende por residuo a cualquier sustancia u objeto, perteneciente a alguna de las categorías que figuran en el anexo de esta Ley, del cual su poseedor se desprenda o del que tenga la intención u obligación de desprenderse. En todo caso, tendrán esta consideración los que figuren en el Catálogo Europeo de Residuos, aprobado por las Instituciones Comunitarias.

I.1.1. Estado actual de la producción y gestión de residuos

A pesar de la política desarrollada para el reciclaje, reducción y reutilización de residuos generados por las industrias, en el siglo XXI, aun la mayoría de las actividades productivas humanas generan ingentes cantidades de residuos cuya deposición sigue siendo un problema. Dentro de estos residuos se encuentran los residuos orgánicos que tienen una gran variabilidad de propiedades en función de su origen (lodos de depuradoras, estiércol, etc.). La gestión de estos residuos es de interés público, ambiental y social debido a los problemas en relación a su desecho, emisiones y lixiviados (Briceño y col., 2007). En la búsqueda de soluciones para esta problemática se plantean alternativas viables como la aplicación de estos residuos a suelos. De hecho, la aplicación de residuos orgánicos de origen animal, especialmente en suelos agrarios, es una práctica que ya ha sido llevada a cabo en algunos residuos desde hace siglos en numerosos países, debido a sus propiedades fertilizantes y su contribución a las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo (Briceño y col., 2007)

De acuerdo con los distintos sectores de actividades de nuestra sociedad, los residuos generados pueden clasificarse según procedencia:

a) Sector primario (agricultura y ganadería): Incluye los residuos agrícolas, residuos ganaderos y residuos forestales.

b) Sector secundario (transformación): Incluyen a los residuos industriales, residuos asimilables a urbanos, residuos inertes, residuos tóxicos y peligrosos y residuos mineros.

c) Sector terciario (servicios): Incluye los residuos sólidos urbanos y las aguas residuales urbanas.

La figura I.1 muestra la distribución en la generación de residuos para el año 2005 y por sector a nivel nacional (Instituto Nacional de Estadística, INE). Se puede observar que los sectores que más destacan son la agricultura y la industria.

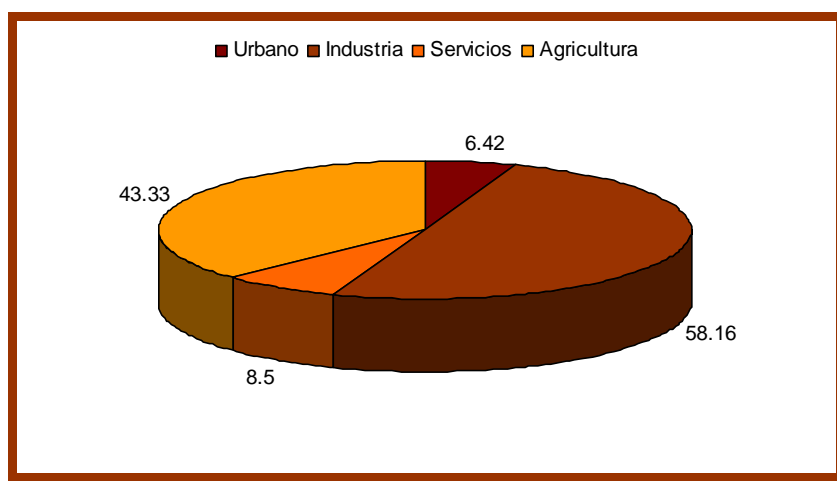


Figura I.1. Generación de residuos en millones de toneladas por sector económico en el año 2005. Nota: Los datos obtenidos para la agricultura son obtenidos a través de un ensayo piloto realizado por el INE entre el año 2003-2005

En Europa se generan más de $1,8 \cdot 10^3$ millones de toneladas de residuos al año, es decir, unas 3,5 toneladas por habitante. La Agencia Europea de Medio Ambiente (EEA, 2006) estima que los residuos municipales constituyen un 14 %, los procedentes de la industria son un 1,83%, de la construcción provienen un 25 % y, finalmente, la minería aporta un 29%. Mientras que los residuos peligrosos constituyen un 1%. Sin embargo, no se dispone de datos de la cantidad de residuos generados por la agricultura.

No existe una solución individual y única para los problemas generados por los residuos y es necesaria pues, la combinación de varias técnicas para minimizar sus efectos negativos. Actualmente la gestión de los residuos comprende una combinación de cuatro elementos claves: a) Reducción del volumen y toxicidad de los residuos generados; b) Reciclaje, reutilización y valorización, tanto como sea posible, de los residuos generados, c) Recuperación energética de los residuos sobrantes con sistemas dotados de los mejores equipos técnicos para evitar la contaminación y d) Utilización de vertederos con adecuados controles medioambientales. Entre las operaciones de valorización de residuos la directiva europea 2006/12/CE incluye las operaciones de compostaje y otras transformaciones biológicas para el tratamiento de los suelos y producir un beneficio para la agricultura o una mejora ecológica de los mismos.

I.1.2. Residuos agroindustriales

La cantidad total de residuos por este tipo de industria en Europa se estima en torno a unos 222 millones de toneladas anuales. En España, según el Instituto Nacional de Estadística (INE), determinó para el año 2004 que la producción de residuos no peligrosos por la industria de la alimentación, bebidas y tabaco alcanzó casi los 6 millones de toneladas (INE, 2006). Dentro de esta industria se encuentra la industria vitivinícola y la oleícola.

I.1.2.1. Industria vitivinícola

En la actualidad se producen unas 60 millones de toneladas de uva en el mundo, de las cuales, el 70 % es destinada para la producción de vino (OIV, 2003). España se encuentra en tercer lugar en la producción mundial de vino, detrás de Francia e Italia. En España se producen unos 46 millones de hL al año de vino (<http://www.fao.org>), lo que genera en un año unas 329 mil toneladas de raspón, 920 mil toneladas de orujo, 394 mil toneladas de lías y unos 28 millones de m³ de aguas residuales (KEPOS, 2000).

I.1.2.1.1. Elaboración del vino y generación de residuos.

El proceso de elaboración de los vinos blancos o rosados es algo diferente a la de los vinos tintos (Figura I.2). La diferencia fundamental radica en que en el caso de los vinos blancos la fermentación del mosto se realiza tras la separación de los orujos, mientras que en los vinos tintos se produce una fermentación conjunta del mosto y los orujos. Durante la elaboración del vino, los racimos son descargados en una tolva de recepción, desde donde son transportados a una despalilladora, separándose la mayor parte del raspón. Posteriormente, el grano de uva se presionará, en la estrujadora, lo justo para evitar que las pepitas y resto de raspones se rompan y contaminen el mosto. La pasta resultante es transportada hasta las prensas o desvinadores donde la pasta se separa en dos fracciones: mosto flor y una masa pastosa. Esta masa pastosa va recibiendo presiones crecientes conforme se va solidificando por falta de líquido. Al final sólo quedarán en la prensa como subproductos los "orujo" u "orujo dulces o frescos". Estos orujos están constituidos por hollejos, pepitas y, si no han sido despalillados, por raspón.

Antes de entrar en la fase de fermentación hay que proceder al "desfangado" de los mostos, consistente en dejar decantar las partículas sólidas suspendidas en ellos en el fondo del depósito. El mosto desfangado se introduce en unos tanques bajo condiciones controladas para realizar la fermentación y obtener el vino. Posteriormente el vino se trasiega a otros depósitos, quedando en el fondo de los primeros unos fangos denominados lías. Por último se hace una "clarificación"

definitiva mediante sustancias que arrastren los posibles restos en suspensión que hayan conseguido escaparse de los trasiegos y se concluye con el “filtrado” que genera unas “heces” antes del embotellado del vino blanco.

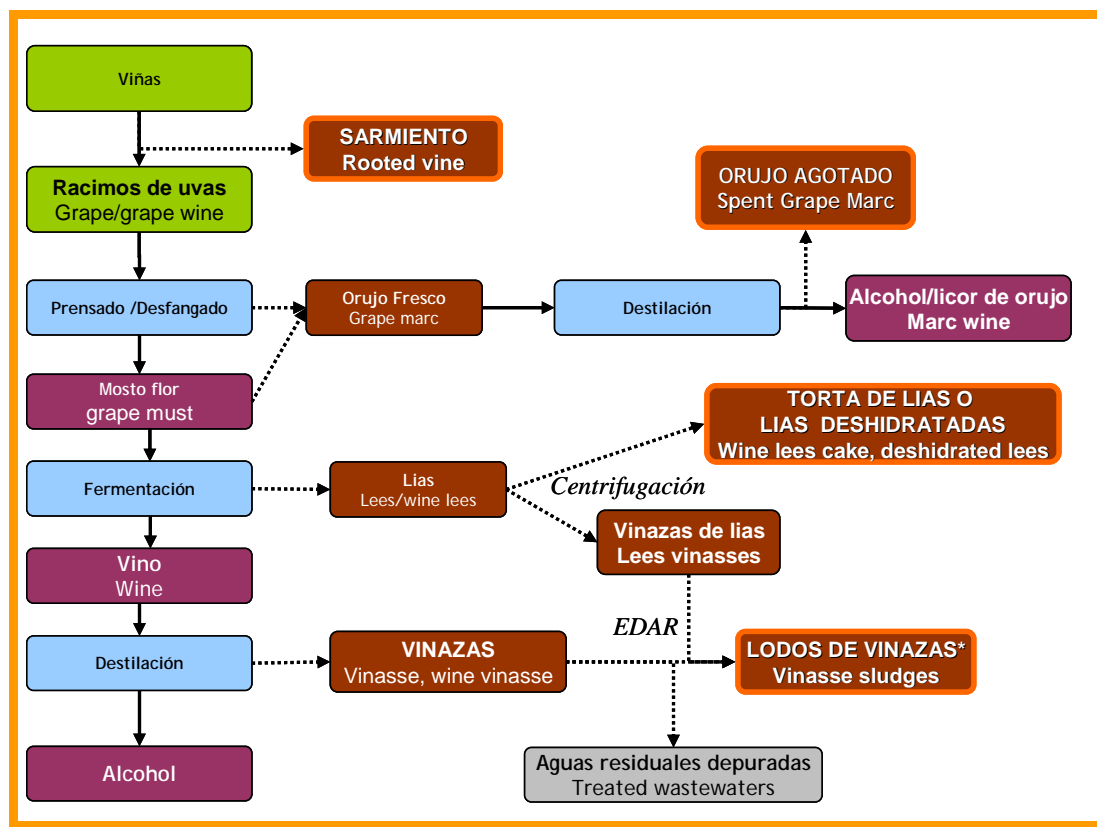


Figura I.2. Esquema de los procesos de elaboración de vino blanco (amarillo) y tinto (violeta) por el sistema tradicional. Generación de subproductos (marrón)

I.1.2.1.2. Tipos de residuos vitivinícolas y su valorización

☀ **Sarmientos de vid (vine-shoot).** Son los vástagos de la vid, largos, delgados, flexibles y nudosos generados durante la poda de la vid. Se estima que a nivel nacional alcanza las 5×10^6 Toneladas por año. Como técnicas de valorización se han utilizado como materiales estructurantes en procesos de compostaje, para alimentación animal, para producción de alquitranes, o bien, aunque desaconsejadamente y una vez triturados, como enmienda orgánica del suelo. Antes también se usaban como fuente de energía, pero otros recursos más eficientes los han sustituido.

☀ **Orujos frescos o dulces (grape marc).** Constituyen el principal subproducto de la elaboración del vino. Están constituidos por semillas, piel u hollejos, restos de pulpa y, si los racimos no han sido despalillados, por el raspón. La cantidad de orujos

generados varía entre un 10 y 25 % del peso total de la uva que es prensada, con valores medios entre 15-18%. La producción de orujos frescos se puede estimar que en nuestro país alcanza el millón de toneladas anuales. Actualmente la gestión de los orujos frescos se realiza mediante su valorización para diferentes usos: utilización de abonos orgánicos, para alimentación animal, obtención a partir de orujos de buena calidad del aguardiente orujo o alcoholes para otros tipos de bebidas (brandy, licores, etc...), previa destilación directa en alambiques artesanales o industriales, producción a partir de orujos de peor calidad de alcoholes rectificadas... Además, se pueden obtener aceite de uva, tartratos recuperados, antioxidantes y colorantes naturales.

☀ **Orujos agotados o tortas de orujos (spent grape marc).** Son los residuos generados por los procesos de desalcoholización y destartarización que tiene lugar en las alcoholeras a partir de los orujos frescos. Son materiales lignocelulósicos, ácidos, con escasos contenidos en nutrientes y apreciable contenido en polifenoles. Pueden ser utilizados para la alimentación animal y como enmiendas orgánicas del suelo, aunque para ello se aconseja su compostaje previo mezclado con otros residuos orgánicos. También pueden ser utilizados como biomasa en procesos de cogeneración de energía eléctrica.

☀ **Lías (wine lees cake).** Constituyen los sedimentos de color amarillento que decantan en el fondo de las barricas o depósitos durante la fermentación o envejecimiento del vino. Están constituidas por restos de vino, levaduras, sales tartáricas, etc. Las lías al igual que los orujos son utilizadas para recuperar alcohol y tartratos, generando como residuos vinazas y tortas de lías o lías deshidratadas (*wine lees cake, deshydrated cake*).

☀ **Orujos y lías agotadas.** En algunas alcoholeras, la destilación del alcohol y la obtención de sales tartáricas se realiza a partir de los orujos frescos mezclados con lías. El residuo final, que es ligeramente diferente a los orujos agotados se denomina "orujos y lías agotadas" o "mezcla de orujos agotados y lías".

☀ **Vinazas (Vinasse).** Son el principal residuo generado por las alcoholeras durante el proceso de destilación del alcohol a partir del vino de baja calidad, orujos frescos y lías. También incluyen las aguas generadas durante los procesos de limpieza de los tanques de fermentación y envejecimiento ubicados en las bodegas. Las vinazas constituyen un residuo líquido muy contaminante de baja viscosidad, muy ácido, que presenta elevadas concentraciones de sólidos en suspensión, DQO y DBO. Por sus efectos contaminantes es obligatorio su tratamiento. La depuración de las vinazas se realiza de forma similar a la de las aguas residuales urbanas y, a su vez generan tres subproductos: efluente de vinaza depurado, lodo de vinaza depurado y metano.

☀ **Lodos de vinazas (Biosolid vinasse).** Son los lodos residuales generados en las estaciones de depuración de vinazas. Existen pocas referencias bibliográficas relativas a su posible uso, directo o bioestabilizados previamente, como enmiendas o abonos orgánicos del suelo (Bustamante y col., 2007).

I.1.2.2. Industria oleícola

La producción de aceite es uno de los sectores más importantes en los países mediterráneos, produciendo el 74% de la producción mundial, siendo España la mayor productora en la campaña 2005/2006 con unas 880 mil toneladas (Moreno Casco y Moral Herrero, 2008). Los sistemas de obtención del aceite de oliva han experimentado en las últimas décadas una gran transformación pasando del tradicional sistema de molinos y prensas al sistema de centrifugación de 3 fases y posteriormente al de 2 fases. Esta transformación mejoró los rendimientos y la productividad de la industria oleícola, para obtener aceites de oliva de gran calidad, reducir los consumos de agua y energía y disminuyendo en lo posible la generación de subproductos o residuos muy tóxicos y de difícil reutilización.

En la actualidad en España apenas se producen ya residuos de alpechín y se estima que se generan unas 660 mil toneladas de alperujo al año. El alperujo es un residuo que puede ser reciclado generando orujillo seco o agotado y su mejor salida es el compostaje para ser usado como abono agrícola.

I.1.2.2.1. Elaboración del aceite de oliva y generación de residuos

Las aceitunas recolectadas que llegan a las almazaras tienen un porcentaje variable de materias extrañas de muy diversa índole que deben ser retiradas (Figura I.3). Tras las operaciones preliminares, la molienda y el batido de las aceitunas recolectadas se procede a la separación sólido-líquido, etapa fundamental para la extracción del aceite que consiste en la separación de los líquidos contenidos en la pasta de aceituna.

En el sistema de 2 fases un decantador, sin necesidad de fluidificar, permite la separación del aceite de oliva. De este sistema se obtienen dos productos con características distintas: una fase compuesta de aceite y agua y un subproducto, alperujo, constituido por la parte sólida y con el agua de vegetación de la aceituna procesada. Se caracteriza por poseer un menor contenido en aceite (1-3%) que el orujo procedente de los sistemas tradicionales y de tres fases y un mayor grado de humedad (55-60%) (Alba, 1992). Desde un punto de vista medioambiental, el sistema de 2 fases reduce el volumen de vertidos (hasta un 75%), evita la producción de alpechín (García et al., 1994) y ahorra hasta un 20% de energía.

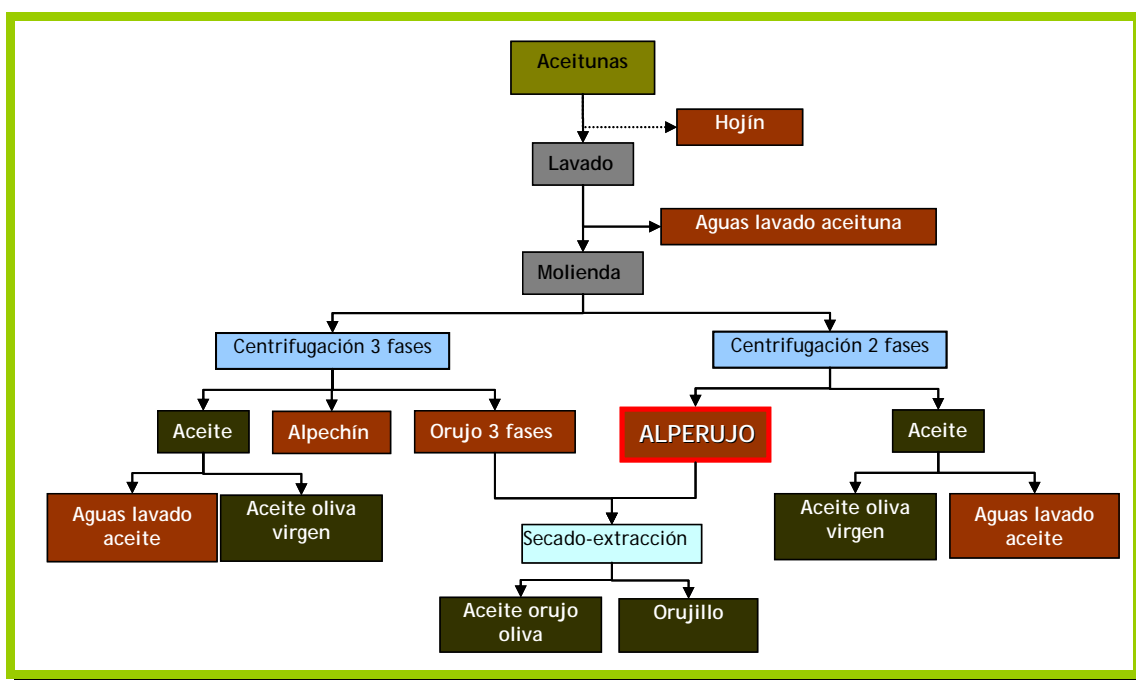


Figura I.3. Proceso de elaboración del aceite en el sistema de 2 fases

Finalmente, la fase líquida oleosa que se obtiene por los sistemas de prensa y centrifugación no solamente contiene aceite, sino que es una mezcla del mismo con el agua de vegetación que contiene el fruto. La obtención de un aceite de oliva virgen extra exige su separación del agua para lo cual se utilizan varios procedimientos entre ellos la decantación natural, la centrifugación o sistemas compuestos por combinación de ambos procesos. Una vez separado el aceite este se almacena en la bodega.

I.1.2.2.2. Tipos de residuos oleícolas y su valorización

☀ **Subproductos líquidos de la agroindustria del olivar.** Se incluyen las aguas procedentes del lavado de aceitunas, de la separación sólido-líquido (alpechines), de la separación líquido-líquido (aguas de lavado del aceite) y las aguas de limpieza general de la almazara. Pueden ser utilizadas en riego, aunque para ello deben ajustarse a unas exigencias determinadas.

☀ **Hojín.** Se genera durante la limpieza de las aceitunas en las almazaras. Pueden ser utilizados en alimentación animal o como materiales estructurantes en procesos de compostaje y vermicompostaje.

☀ **Orujos y alperujos.** Generados durante los sistemas de separación sólido-líquido, presentan una composición similar, aunque la humedad de los alperujos es muy superior a la de los orujos). Los orujos y alperujos han sido tradicionalmente sometidos a una extracción con solventes (por lo general hexano) con objeto de

extraer el denominado “aceite de orujo” quedando al final del proceso un nuevo residuo con un contenido de humedad inferior al 18%. Genéricamente este residuo recibe la denominación de **orujo seco y extractado u orujillo**. Los orujillos se usaban como combustible de las propias orujeras y se están buscando nuevas alternativas para revalorizarlos como biocombustibles, proteínas animales, carbón activo... Pese a los avances conseguidos en los últimos años, la gran generación de alperujo (4 mill. de toneladas en la campaña 2007/2008) y su previsible aumento en los próximos años exige la búsqueda de más soluciones que permitan su completa valorización y eviten su abandono. Una posible vía sería su uso en agricultura para lo cual este subproducto debe ser previamente estabilizado y biotransformado con objeto de obtener enmiendas orgánicas estables, que eviten los efectos nocivos sobre el suelo y los cultivos vegetales que estos pueden generar (Benítez y col., 2000; Gallardo-Lara y Nogales, 1987; Moreno y col., 2000; Nogales y col., 1998, 1999).

I.1.2.3. Valorización de los residuos orgánicos como enmiendas

Entre todas las formas de revalorización de los residuos orgánicos generados por las industrias agroalimentarias, el uso como enmiendas agrícolas sobre suelos es una práctica llevada a cabo durante siglos, ya sea como sustituto o como complemento de fertilizantes comerciales ya que su materia orgánica (MO) se considera que mejora la estructura y la fertilidad del suelo (Briceño y col., 2007). Además, este manejo se hace indispensable en países como España, donde anualmente, se pierden unos 23 toneladas de suelo por ha contribuyendo a su desertificación y la pérdida de producción agrícola. Por tanto, se hace imperativo reemplazar la MO que se pierde anualmente para sustentar la agricultura en zonas que ya de por sí tienen un bajo contenido en MO.

El uso de residuos orgánicos como enmienda contribuye al desarrollo de los componentes activos humificados del suelo como son los ácidos húmicos (AH) y los fúlvicos (AF) (Plaza y col., 2003). Éstos ejercen un papel importante en procesos geoquímicos como fuente de nutrientes para plantas y microorganismos, en la capacidad amortiguadora ácido-base y, debido a la mejor estructura, favorece la capacidad de retención y aeración del suelo (Briceño y col., 2007). Por otro lado, los residuos orgánicos favorecen la actividad biológica, porque con su adición al suelo se añaden nutrientes y nuevos grupos de microorganismos como bacterias, hongos y actinomicetos (Wanner y col., 2005a). Finalmente desde un punto de vista ambiental, las enmiendas orgánicas juegan un papel muy importante en la dinámica de compuestos xenobióticos como metales pesados, hidrocarburos aromáticos y, por supuesto, plaguicidas (Briceño y col., 2007; Romero y col., 2005; Sánchez y col., 2003b).

Sin embargo, en algunos casos los residuos orgánicos pueden tener efectos adversos (Briceño y col., 2007; Nogales y col., 1996) tales como:

- Agregar de compuestos fitotóxicos para cultivos y suelos, como por ejemplo, compuestos fenólicos de cortezas de árboles, amonio procedente de estiércol, sales, grasas, semillas de malas hierbas y microorganismos patógenos.
- Restringir la germinación de semillas, destrozar raíces o suprimir el crecimiento de plantas.
- Favorecer la pérdida de nutrientes por lixiviación, escorrentía o emisión a la atmósfera.
- La aplicación de materia orgánica inmadura puede empeorar el estado, calidad y función de la MO del suelo.
- En zonas aeróbicas se pueden originar suelos con baja aireación, lo que hace descender la producción de CO₂ y descomposición de carbono, acumulando metabolitos microbiológicos como los ácidos grasos.
- Finalmente, algunos residuos orgánicos están asociados a compuestos tóxicos orgánicos e inorgánicos, que son incorporados al suelo con las respectivas consecuencias negativas para cultivos y microorganismos.

Estos problemas asociados al uso de residuos pueden ser mitigados a través de procesos de estabilización química y biológica de la materia orgánica. Dentro de estas estrategias la práctica más común actualmente es el compostaje (Nogales y col., 1995) cuyo desarrollo e implementación se encuentra condicionado por sus costes económicos. Por ello una alternativa como estabilizador de los residuos orgánicos, cuyos costes económicos son bastantes bajos es el proceso de vermicompostaje.

I.1.2.4. Vermicompostaje de residuos orgánicos

I.1.2.4.1. Definición

El vermicompostaje o compostaje con lombrices es el proceso basado en la descomposición natural (biooxidación y estabilización) de la materia mediado por la acción combinada de lombrices y microorganismos (hongos, bacterias, actinomicetos, levaduras, etc., todos mesófilos), mediante el cual se obtiene un producto denominado vermicompost, lumbricompost o humus de lombriz. Esta biotransformación aprovecha la actividad de ciertas especies de lombrices, las cuales

aceleran la descomposición y humificación de la materia orgánica, ya sea de un modo directo (alimentación detritívora y desplazamiento a través de galerías) o indirecto (estímulo de la actividad microbiana). Por otro lado, mejoran la estructura del producto final, al provocar la ruptura de los materiales orgánicos, reduciendo su tamaño de partículas y favoreciendo la formación de agregados estables. Además, la actividad de estos detritívoros aumenta el contenido de nutrientes, convirtiéndolos a través de la actividad microbiana, en formas solubles y asimilables por los cultivos. Asimismo, mediante este proceso se favorece la producción de sustancias que pueden actuar con acción fitohormonal sobre las plantas. Por último, el proceso de vermicompostaje posibilita la explotación de las lombrices como fuente proteica para consumo animal (Nogales et al., 1998). El vermicompostaje es una tecnología limpia, sin impacto ambiental y cuyos costes de inversión, energéticos y de mantenimiento son moderadamente bajos.

I.1.2.4.2. Factores influyen en los procesos de vermicompostaje

La posibilidad de utilizar lombrices epigéicas en el tratamiento de los residuos orgánicos, así como en la obtención de proteína para alimentación animal, depende de una serie de requisitos o manejos del substrato orgánico que hay que tener en cuenta para el correcto desarrollo del proceso de vermicompostaje.

➤ Naturaleza de los residuos orgánicos

Un gran número de los residuos orgánicos pueden ser utilizados en lombricultura, aunque algunos necesitan de un pretratamiento para ser aceptados como alimento de las lombrices: lavado, precompostaje, maceración y mezclado. De forma general los residuos o mezcla de ellos a utilizar deben cumplir los siguientes requerimientos (Nogales y col., 2008):

- Tener una estructura física adecuada. Tal que puedan retener humedad para que sean accesibles a la lombriz y permitir el paso del aire y el drenaje del exceso de humedad. Para mejorar la estructura se suelen mezclar los residuos con materiales estructurantes.
- Tamaño de partícula no muy grueso.
- Relación C/N entre 20 y 30. Si el residuo inicial no tiene esta relación se buscan mezclas de residuos que la tengan.
- Debe tener una salinidad adecuada. La salinidad influye en la vitalidad de las lombrices y un elevado contenido en sales puede inhibir su actividad e, incluso matarlas. Por ello la conductividad del extracto de saturación de los

residuos no puede ser superior a los 8 dS cm⁻¹. El lavado previo de los residuos es la técnica de acondicionamiento más usada.

- Nivel de amonio adecuado. Una concentración superior a 0,5 mg g⁻¹ de amonio es tóxica para las lombrices. Por lo que los residuos suelen ser aireados previamente para volatilizar el exceso de amonio.
- Escaso contenido en metales y contaminantes orgánicos. Estas sustancias pueden ser tóxicas para las lombrices o pueden acumularse en sus tejidos, por lo que si van a ser usadas como proteína animal o como complemento de piensos es muy importante controlar éste parámetro.
- Escaso contenido en sustancias minerales
- No contener muchas proteínas

➤ **Humedad**

La humedad es un factor de mucha importancia que influye en la reproducción y en la respiración. Las lombrices pueden sobrevivir entre el 50 y el 90% de humedad. Una humedad superior al 85 % hace que las lombrices entren en un período de latencia y se afecta la producción de vermicompost y la reproducción. Debajo de 70 % de humedad es una condición desfavorable. Niveles de humedad inferiores al 55 % son mortales para las lombrices (Moreno y Moral., 2008).

➤ **Temperatura**

Junto con la humedad es el factor que más afecta a la actividad, metabolismo, crecimiento y reproducción de las lombrices. Los procesos de vermicompostaje deben llevarse a cabo a temperaturas comprendidas entre 10 y 35°C. Aunque el óptimo se sitúa cercano a los 25°C.

➤ **pH**

La lombriz acepta sustratos con pH de 5 a 8,4, aunque prefiere valores cercanos a la neutralidad (pH 7). Fuera de esta escala, la lombriz entra en una etapa de latencia (Edwards y Bohlen, 1996).

➤ **Densidad de población**

Una elevada densidad de población afecta al desarrollo del proceso de vermicompostaje ya que los individuos entrarían en competencia. En las condiciones

artificiales donde se lleva a cabo el proceso de vermicompostaje, con abundancia de alimento y condiciones óptimas, la dinámica poblacional de las lombrices es muy diferente que en condiciones naturales. Estas tienden a colonizar rápidamente las literas y superpoblarlas en una primera fase, tras la cual, a pesar de la abundancia de alimento, disminuyen la producción y reducen su tamaño. Es importante controlar la densidad de población cuando se pretende obtener lombrices para cebos, proteínas o alimentación, ya que si la densidad es alta, los individuos son bastante menores (Nogales y col., 2008).

➤ Aireación

El mantenimiento de niveles adecuados de oxígeno en el interior del medio en el que viven las lombrices es un parámetro que depende fundamentalmente de las condiciones físicas del propio medio; aunque las lombrices con su propia actividad de desplazamiento y perforación de galerías contribuyen a la oxigenación

➤ Enemigos de las lombrices

Cualquier depredador de lombrices, como aves, ratones y topos debe ser controlado, principalmente con barreras físicas que impidan su penetración en las literas. Por otro lado, un gran número de invertebrados como hormigas, ácaros, etc, pueden ser perjudiciales para las lombrices. Éstos se suelen controlar con condiciones no óptimas para ellos como humedad por encima del 80% y pH superior a 7.

I.1.2.4.3. Cambios durante el proceso de vermicompostaje

Las principales alteraciones que sufre el material original durante el proceso de vermicompostaje se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Parte de la fracción orgánica de los residuos iniciales se mineraliza disminuyendo el contenido en carbono total entre un 10 y un 55 %.
- La materia orgánica residual tiende a humificarse, polimerizarse y policondensarse, por lo que los niveles de ácidos húmicos y, en menor medida, de ácidos fúlvicos aumentan entre un 20 y un 60 % (Romero y col., 2007).
- Tras el proceso de vermicompostaje las actividades enzimáticas son más estables debido a la formación de complejos "enzimas-humus" que las hacen más resistentes a procesos de desnaturalización (Benítez y col., 2000; Benítez y col., 2005)
- La concentración de nutrientes, como fósforo, calcio, magnesio y micronutrientes, tienden a aumentar durante el proceso por proceso de

concentración debido a la mineralización de la MO de los residuos iniciales. Mientras el N tiene una dinámica variable. El descenso se atribuye a su uso como nutriente por parte de las lombrices, procesos de desnitrificación y pérdidas en forma de amonio por volatilización o lixiviación (Nogales y col., 1999). Mientras que el aumento también se atribuye a efectos de concentración por la mineralización de la MO. Finalmente, el potasio disminuye, principalmente debido a la lixiviación de éste.

- El nivel en metales pesados que están presentes en determinados residuos orgánicos, aumentan debido a la mineralización de la MO (Nogales y col., 2008). Aunque los asimilables o extraíbles disminuyen considerablemente por la formación de complejos insolubles con los ácidos húmicos neoformados y las fracciones orgánicas más polimerizadas.
- También es un proceso efectivo en la disminución de contaminantes orgánicos. Por ejemplo, los polifenoles de los alperujos disminuyen tras el vermicompostaje (Saavedra y col., 2006).
- Finalmente, el vermicompostaje conlleva una importante reducción de poblaciones de microorganismos patógenos. Algunos trabajos muestran un descenso de coliformes fecales, *Salmonella sp*, virus entéricos y huevos de platelmintos (Nogales y col., 2008).

I.1.2.4.4. Criterios de calidad del vermicompost

La calidad y madurez de los vermicomposts obtenidos a partir de los residuos orgánicos se define como el grado de estabilidad de estos materiales en función de sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Ello implica que estos materiales deben contener una materia orgánica estable y parcialmente humificada, con mínimos contenidos de compuestos fitotóxicos y productos químicos alelopáticos y ausencia de organismos patógenos, con objeto de que su aplicación en agricultura no ocasione efectos adversos sobre el suelo y la planta ni produzca impactos negativos sobre los agroecosistemas (Nogales y col., 1995).

El R.D. 824/2005 sobre fertilizantes, es la normativa española donde se regula el uso de vermicompost como enmiendas orgánicas (Anexo 1, grupo 6) y regula los requisitos de los productos fertilizantes constituidos, total o parcialmente, por residuos orgánicos biodegradables (Tabla I.1). El vermicompost, según la normativa se define como el producto estabilizado obtenido a partir de materiales orgánicos, por digestión de lombrices, bajo condiciones controladas.

Tabla I.1. Características que deben cumplir los vermicomposts para ser usados como fertilizantes.

Características	Límites admisibles
Porcentaje de N orgánico	> 85% del N total. Salvo requisitos especiales
Materia orgánica total	> 40%
Relación C/N	< 20
Humedad	30-40%
Granulometría	El 90% de las partículas pasarán por la malla de 25 mm
Límite máximo de microorganismos	Salmonella: Ausente en 25 g de producto Escherichia coli: < 1000, número más probable por gramo de producto elaborado (NMP)
Límite máximo de metales pesados	Según su contenido en Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg; Cr existen tres clases de fertilizantes (Clase A, B y C). Anexo V

La orden APA/863/2008 ha modificado en el R.D. 824/2005 los límites admisibles para los vermicompost en lo relativo al contenido en MO (>30%) y humedad máxima (=40%).

I.1.2.4.5. Utilización del vermicompost en agricultura

La valorización más común e importante que se le da al vermicompost es su uso como enmienda orgánica en sistemas agrarios. El vermicompost se puede utilizar tanto en forma sólida como líquida, siendo particularmente importante su aplicación en la preparación de suelos y producción de hortalizas, frutales o flores ornamentales. Tiene también otros usos más específicos, como en jardinería y campos para practicar deportes como golf, fútbol, etc. Su aplicación provoca una serie de efectos positivos y beneficiosos sobre los suelos y las plantas que de forma resumida se exponen a continuación:

1. Mejora la estructura del suelo, desligando a los arcillosos y agregando los arenosos.
2. Aumenta la porosidad del suelo favoreciendo la permeabilidad del agua y su aireación.
3. Aumenta la capacidad de retención del agua del suelo.
4. Mantiene la temperatura del suelo.
5. Aumenta los niveles de materia orgánica total y humificada (ácidos húmicos y ácidos fúlvicos) del suelo.
6. Aumenta la cantidad y diversidad de hongos, actinomicetos, bacterias aerobias, celulolíticos, etc, en el suelo proporcional a la dosis aplicada, favoreciendo la formación de micorrizas.
7. Aumenta las actividades de diferentes enzimas del suelo (deshidrogenasa, glucosidasa, ureasa, proteasa, amilasa, etc.).

8. Los vermicomposts como tienen un pH cercano a la neutralidad, aumentan el pH de suelos ácidos, favorecen la absorción de nutrientes por la planta, mantienen, desarrollan y diversifican la microflora y microfauna del suelo y evitan la absorción de elementos contaminantes por la planta.

9. Aumenta los niveles de nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio y magnesio de los suelos y su disponibilidad y asimilabilidad por las plantas.

10. Aumenta los niveles de hierro, manganeso, cobre, zinc y boro de los suelos neutros o calcáreos y su disponibilidad y asimilabilidad por las plantas en suelo.

11. El humus de lombriz de alta calidad aumenta la resistencia de las plantas a las plagas y agentes patógenos y reduce el desarrollo de bacterias y hongos que afectan a las plantas.

Debido a todo esto la adición de vermicompost aumenta la eficacia del trabajo mecánico del suelo y evita la erosión del suelo, evita los periodos de sequía del suelo, disminuye el consumo de agua por los cultivos y aumenta la resistencia a las heladas del medio edáfico, incrementa la capacidad de intercambio catiónico del suelo y transmite hormonas del suelo a las plantas (auxinas, giberelinas y citoquinonas), vitaminas, proteínas y sustancias humificadas, que aumentan los rendimientos de todos los cultivos. Su efectividad es mayor cuando se aplican con dosis pequeñas de abonos químicos.

La adición de vermicompost y, en general, de enmiendas orgánicas en el suelo no sólo mejora la eficacia de los cultivos, sino que van a modificar propiedades del suelo, algunas de ellas fundamentales en la dinámica de plaguicidas en suelos.

I.2. Influencia de las enmiendas en las principales propiedades del suelo.

La aplicación de enmiendas como manejo del suelo tiene como objetivo la mejora de determinadas propiedades del suelo y la adición de nutrientes para mejorar el rendimiento de los cultivos (Ferrerías y col., 2006). A continuación se describen algunas de las propiedades del suelo y el efecto de las enmiendas sobre éstas.

I.2.1. Materia orgánica

La MO del suelo procede de sustancias constituidas por restos vegetales y organismos que están sometidos a un constante proceso de transformación y síntesis y cuyo papel es muy importante en la evolución y propiedades de los suelos. El contenido en MO de un suelo puede variar desde menos del 1% en suelos de climas áridos hasta un 30% en suelos con horizontes orgánicos.

La MO de un suelo está formada por:

- *Materiales vivientes*. El concepto de materia orgánica del suelo se refiere a la fase muerta, pero en la práctica se incluyen también a los microorganismos vivos dada la imposibilidad de separarlos del resto de material orgánico transformado. En esta fracción procede de la microbiota (algas, bacterias, hongos, protozoos...); mesobiota y macrobiota (raíces vegetales, lombrices...). Son un grupo enormemente diverso, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo.

- *Materiales no vivientes*. En esta fracción encontramos la materia orgánica fresca o no humificada y el humus. En el primer grupo encontramos los restos senescentes de tejidos orgánicos (animales y vegetales), y restos de deyecciones y secreciones animales. Al segundo grupo pertenece lo que se conoce como materia orgánica transformada y alterada.

La composición de la MO del suelo varía en función de las condiciones climáticas y de la tipología del suelo, pero en general se puede considerar la siguiente: 65% de sustancias húmicas complejas, 15% de ácidos grasos, ceras, resinas y alcanos, 10% de compuestos nitrogenados (proteínas, péptidos, aminoácidos, amino-azúcares, pirimidinas) y el resto lo forman polisacáridos (Schnitzer, 1991). Normalmente la relación entre el contenido en MO y el contenido en carbono orgánico (CO) de un suelo varía entre 1,72 y 2, por esta variación generalmente los valores de MO se expresan en forma de contenido en CO. La matriz orgánica del suelo posee una actividad fisicoquímica variable que numerosos autores atribuyen a sus grupos funcionales más externos, fundamentalmente carboxílicos y fenólicos (Portal y col., 1986; Wagner y Stevenson, 1965), cuya reactividad viene influenciada por los valores de pH (Stevenson, 1994). Actúa como regulador de la elasticidad de suelos a través de su efecto amortiguador de cargas y de su acción estabilizante de la estructura de cada suelo según su textura y mineralogía, por lo que la adición de enmiendas en superficie o en el interior del perfil del suelo, ayuda a luchar contra la compactación de suelos y contra la erosión hídrica (Moreno y Moral, 2008; Romero y col., 2007).

Los países de clima mediterráneo se caracterizan por un contenido de CO en las capas superficiales muy bajo, de hecho, alrededor del 70% de los suelos mediterráneos tienen un contenido en CO inferior al 2% (Figura I.4). Por ello no es de extrañar que la adición de enmiendas orgánicas a estos suelos sea una práctica muy extendida.

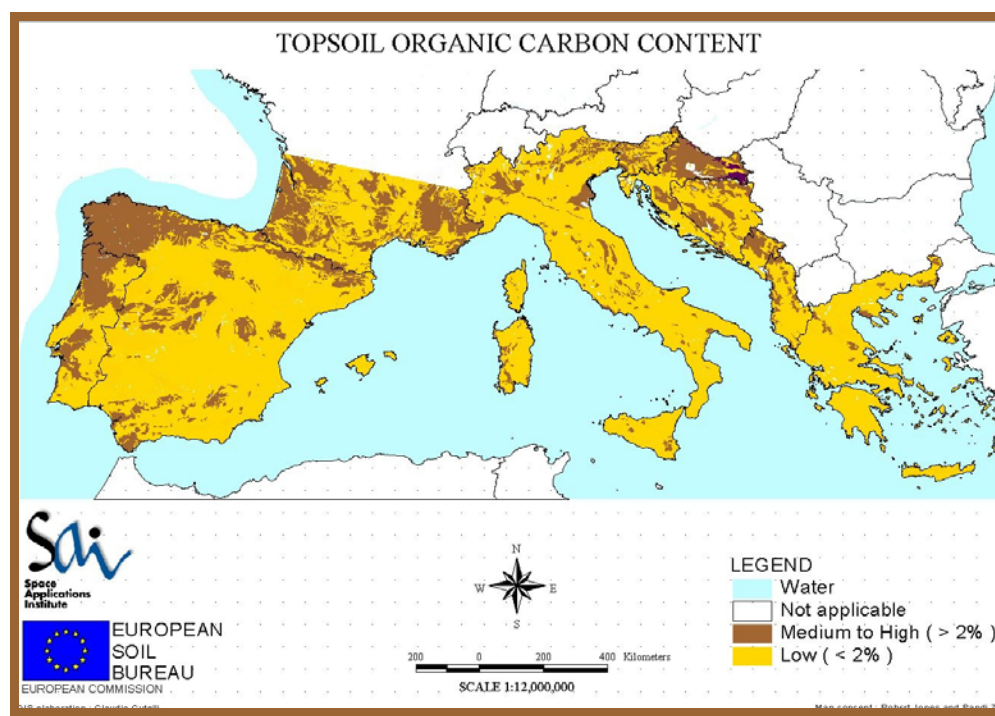


Figure I.4 Contenido estimado de CO en las cpas superficiales de los suelos del sureste de Europa (<http://eussoils.jrc.it>).

El principal efecto que tiene la adición de enmiendas orgánicas al suelo es el incremento del contenido en MO. La MO procedente de residuos varía en composición respecto a la del suelo, aunque el compostaje y vermicompostaje en condiciones idóneas de estabilización y madurez consigue, en lo que se refiere a sustancia húmicas, cierto parecido (Moreno y Moral, 2008; Romero y col., 2007). Los componentes de la MO del suelo tienen un amplio rango de cualidades funcionales en función de su composición química y estructural. Esta composición comprende desde moléculas orgánicas que son sólo apolares e hidrófobas hasta aquellas con marcado carácter hidrofílico ya que contienen grupos hidrofílicos, marcadamente polares o grupos funcionales cargados. En mitad de este continuo podemos encontrar un amplio rango de moléculas anfifílicas. No se puede, por tanto, obviar el papel que estas moléculas anfifílicas tienen en el comportamiento de los complejos formados entre los componentes del suelo u la materia orgánica y las interacciones con xenobióticos (Kleber y col., 2007). La figura I.5 muestra un esquema de la disposición de esta materia orgánica y sus posibles interacciones con las partículas del suelo.

En general, en la materia orgánica del suelo podemos diferenciar dos fracciones que van a ser alteradas por la adición de enmiendas y van a ser determinantes en el comportamiento de los plaguicidas: las sustancias húmicas y la materia orgánica disuelta (MOD).

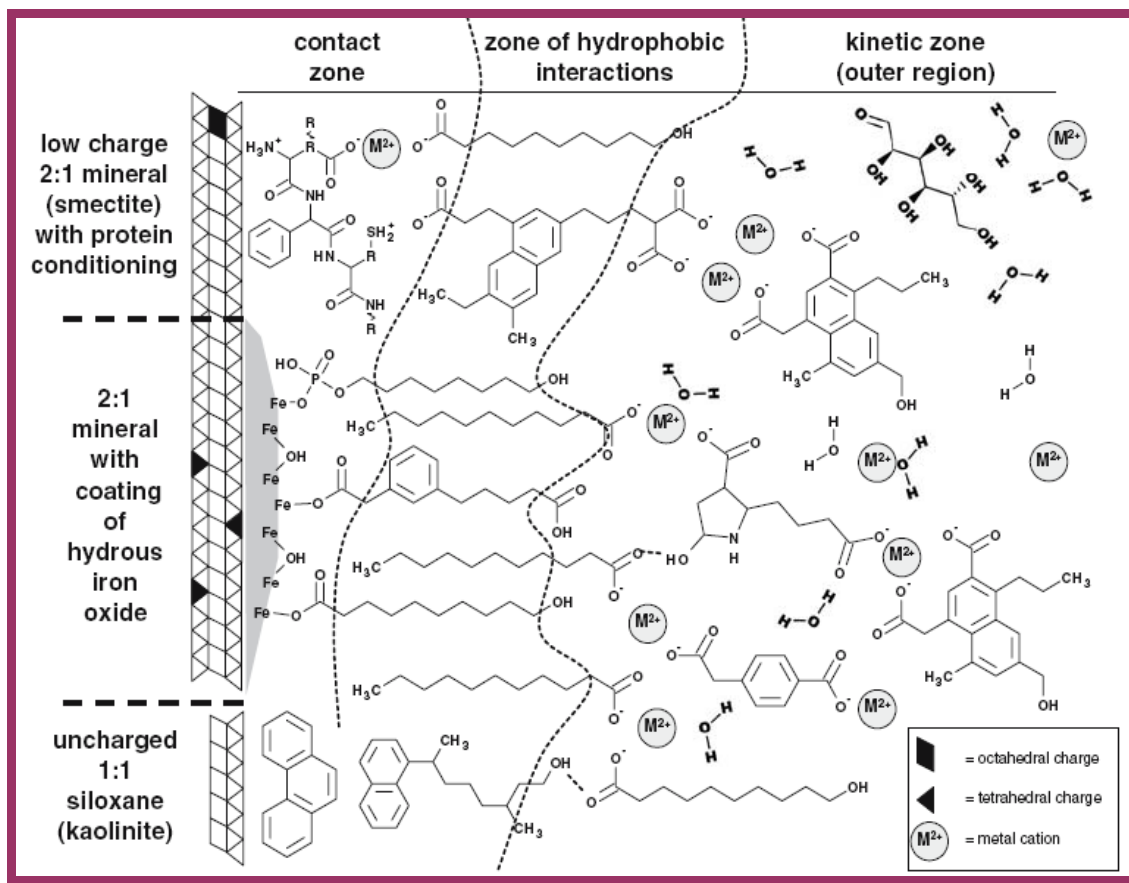


Figura I.5. Modelo zonal de las interacciones órgano-minerales (Kleber y col., 2007)

1.2.1.1. Sustancias Húmicas

Las sustancias húmicas constituyen entre el 60-80% de la MO del suelo y son la fracción más activa de la MO en suelos agrícolas, desde el punto de vista de su interacción con plaguicidas (Plaza y col., 2003). La humificación es un proceso complejo donde la acción bacteriana es imprescindible, y se desarrolla en tres fases fundamentales: (i) degradación de las macromoléculas (celulosa, almidón, pectina, lignina, proteínas, glucosa, grasas, ceras, etc) en formas más sencillas; ésta etapa se conoce como despolimerización enzimática o humificación directa; (ii) oxidación de los compuestos aromáticos con formación de quinonas; (iii) Condensación, polimerización y fijación de nitrógeno, formando aminoácidos y péptidos, para originar los ácidos húmicos. En esta fase los compuestos orgánicos sencillos formados en la etapa anterior se reorganizan, conservando sus estructuras orgánicas para dar nuevos polímeros más estables. Es la fase de polimerización biológica o humificación indirecta. Como ya se comentó antes, este proceso se ve acelerado en el vermicompostaje.

Por lo tanto, las sustancias húmicas son polímeros orgánicos macromoleculares, de alto peso molecular, con carácter marcadamente coloidal e hidrófilo, con propiedades de carga y superficie variables, con alta capacidad de

intercambio catiónico. Pueden variar ampliamente su composición de un suelo a otro, sin embargo, todas tienen unidades estructurales y grupos funcionales similares, aunque la proporción relativa de éstos puede variar (Stevenson, 1972). En general, están constituidas por un núcleo (grupos aromáticos nitrogenados y grupos bencénicos aromáticos), grupos reactivos (responsables de importantes propiedades de la materia orgánica: hidroxilo, carboxilo, amino, metoxilo...), puentes de unión (nitrilo, amino, cetónicos...) y cadenas alifáticas (edafología.ugr.es). Trabajos recientes sobre extractos de suelos han encontrado moléculas primarias de sustancias húmicas de tamaño muy pequeño (100-2000 Dalton, Da), cuyo carácter macromolecular viene dado por la formación de agregados (Piccolo, 2002; Simpson y col., 2002). Las sustancias húmicas se clasifican en base a su comportamiento frente a determinados reactivos (según sean solubles o precipiten). Las fracciones solubles a pH ácidos se conocen como ácidos fúlvicos, las solubles a pH alcalino son los ácidos húmicos y finalmente encontramos las huminas, que son insolubles. Las principales diferencias entre los ácidos húmicos y los fúlvicos se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Los ácidos húmicos tienen mayor contenido en C, H, N y S que los ácidos fúlvicos y los fúlvicos tienen mayor contenido en O.
- La acidez total y el contenido en grupos -COOH es superior en los ácidos fúlvicos.
- Los ácidos fúlvicos son más ricos en grupos fenólicos, alcohólicos y cetónicos
- Los ácidos húmicos presentan mayor peso molecular.

Las sustancias húmicas son más resistentes a la degradación por su complejidad y por su interacción con la fracción mineral del suelo formando complejos organominerales. Ésta capacidad de formar complejos desempeñan un papel fundamental en el estado de agregación de las arcillas del suelo.

Por su parte, la adición de enmiendas orgánicas puede modificar éstas sustancias húmicas en función de sus características y su origen. La adición de compost puede incrementar de un 0,4 a 0,5 % el contenido en huminas, ácidos húmicos y fúlvicos (Adani y col., 2006; Briceño y col., 2007). Sin embargo, los AH del suelo tienen una mayor proporción O/C y una menor proporción C/N que los procedentes de los compost y, en general, poseen una mayor acidez (Adani y col., 2006). Estudios donde se compara la fracción de ácidos húmicos de residuos orgánicos sin vermicompostar y vermicompostados con la correspondiente a un suelo típico, observaron que la fracción de ácidos húmicos de los residuos vermicompostados, posee valores de su composición elemental y grupos funcionales ácidos mucho más similares a los ácidos húmicos del suelo (Romero y col., 2007), lo que les confiere una mayor calidad para su uso agronómico.

No podemos olvidar que dentro de esta la MO del suelo existe una fracción que es soluble en agua y es muy importante en la dinámica de los plaguicidas en el suelo.

1.2.1.2. Materia Orgánica Disuelta (MOD)

La MOD es una pequeña porción de la materia orgánica total en el suelo. La MOD tiene un peso molecular que puede variar desde pocos Da hasta unos 100.000 Da y tiene características similares al humus del suelo (Stevenson, 1994). Pertenece a la fracción coloidal del suelo puesto que es capaz de atravesar un filtro de 0,45 μm . Es una compleja mezcla entre hidrocarburos aromáticos y alifáticos unidos a amidas, carboxilos, hidroxilos, ketonas y varios grupos funcionales minoritarios. Así pues, la concentración y composición química de la MOD son muy variables en función de la procedencia de la MO, temperatura, pH... (Leenheer y Croué, 2003). La MOD es una propiedad de gran interés medioambiental, por su reactividad y por servir como fuente de carbono y energía para los microorganismos (Leenheer y Croué, 2003). Además, cualquier perturbación antropogénica en suelo puede alterar significativamente la cantidad de MOD de un suelo, por ejemplo, un suelo secado al aire aumenta la cantidad de MOD extraíble, mientras que si es secado en un horno, esta cantidad aumenta masivamente (Zsolnay y Gorlitz, 1994).

La adición de enmiendas orgánicas al suelo conlleva un incremento de esta fracción de MOD (Chantigny, 2003). En general, esta MOD tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas, ya sea directamente o debido a la mejora de las propiedades del suelo. De esta manera, la MOD disuelta procedente de alperujo compostado aumentó la estabilidad de los agregados del suelo e incrementó crecimiento de *Medicago sativa* (Kohler y col., 2008). Además, en los últimos años, la MOD ha sido objeto de gran interés porque se ha observado su capacidad de interaccionar con contaminantes orgánicos y, por tanto, afecta a su dinámica en suelos y sistemas acuáticos (Huang y Lee, 2001).

1.2.2. Estructura del suelo

Las partículas del suelo no se encuentran aisladas, sino que forman unos agregados estructurales "peds" y le confieren al suelo una determinada estructura. Los factores que afectan a la estructura del suelo son el grado de agregación de las partículas, la actividad biológica, el contenido en MO, el clima y las prácticas agrícolas. La estructura influye en el movimiento del agua en el suelo y, por tanto, va a influir en la lixiviación de los plaguicidas. Así, en suelos bien estructurados, como los arcillosos, se van a favorecer la aparición de grietas originando fenómenos de flujo preferencial, donde circula más rápidamente el agua. La fauna del suelo también puede actuar sobre la estructura originando canales que también favorecen su desplazamiento. Por otro lado, un suelo con mala estructura va a impedir la infiltración y va a favorecer la escorrentía superficial.

Ligadas a la estructura del suelo se encuentran la densidad aparente y la porosidad del suelo. La densidad aparente sirve para evaluar el grado de compactación del suelo, midiendo el número de partículas por unidad de volumen. Mientras que la porosidad representa el porcentaje total de huecos que hay entre el material sólido de un suelo.

La adición de enmiendas orgánicas al suelo tiene efectos importantes sobre la estructura del suelo. Por ejemplo, da lugar a un descenso de la densidad aparente del 5 al 40 % y puede dar lugar a unos incrementos en la porosidad que oscilan entre el 5 y el 45% dependiendo de la dosis y tipo de enmienda y de las características texturales del suelo (Bronick y Lal, 2005). Además la aplicación continuada de enmiendas aumenta la macroporosidad del suelo, que juegan un papel importante en la actividad biológica del suelo y en el secuestro del carbono orgánico (Marinari y col., 2000).

Por otro lado, la aplicación de enmiendas orgánicas sobre la superficie ejercen un efecto de acolchamiento que amortiguan el impacto de las gotas y disminuyen el efecto de sellamiento que estas pueden producir sobre la superficie, previniendo así una mayor escorrentía y favoreciendo la infiltración y, también, reduciendo la erosión del suelo. Ingelmo e Ibáñez (1998) observaron que la adición de una enmienda orgánica acolchada mejoraba la infiltración en un 36%, disminuía la escorrentía en un 75%, disminuyendo de esta manera hasta 7 veces el nivel de erosión hídrica.

1.2.3. Efectos sobre la retención y almacenamiento de agua del suelo

La capacidad de retención de agua de un suelo se determina a diferentes valores de potencial hídrico. Dentro de estos valores los más interesantes son el agua de saturación (agua retenida por todos los poros de un suelo cuando están saturados), la capacidad de campo (agua retenida por un suelo a una presión de 1/3 de atmósfera) y el punto de marchitamiento permanente (agua retenida por el suelo a una presión de 15 atmósferas). El agua útil de un suelo es la diferencia entre los dos últimos valores.

La adición de enmiendas al suelo, en general, aumenta la capacidad de retención de agua. Esto está ligado al efecto que tienen sobre la estructura del suelo, con un reparto equilibrado de sus poros (micro, meso y macroporos) y la estabilidad estructural frente a procesos de degradación por manejo, por la erosión y por fuego (Ingelmo y Rubio, 2008). La enmienda influye sobre la porosidad que tiene potenciales hídricos bajos, cercanos a la capacidad de campo y tiene una menor repercusión a potenciales hídricos altos, cercanos a punto de marchitamiento. Así, los estudios sobre el tema, hablan de un incremento del agua útil del suelo entre el 30 y el 65% (Bustamante y col., 2008; Moreno Casco y Moral Herrero, 2008).

I.2.4.pH

El valor del pH o potencial hidrógeno informa de la proporción relativa de iones hidrógeno H^+ y de iones hidróxidos OH^- en la solución del suelo. El pH del suelo es elevado cuando el porcentaje de saturación de las bases de cambio es elevado y es reducido cuando está desaturado y abundan los iones H^+ retenidos en las posiciones de intercambio. La disponibilidad de nutrientes está ampliamente condicionada por el pH de la solución del suelo. El suelo tiene un gran poder tampón ante las variaciones de pH y se debe, en gran parte, a los compuestos orgánicos del complejo de cambio, a la abundancia y tipo de arcilla y a la abundancia de calcio y otras bases. Esta característica le da estabilidad a la actividad microbiana y a la nutrición de las plantas.

En general, los composts maduros tienden a estabilizarse en valores de pH neutros o ligeramente básicos. Así, en suelos ácidos los compost actúan elevando el pH con lo que mejoran las condiciones microbiológicas y la disponibilidad de nutrientes (Gallardo-Lara y Nogales, 1987). En suelos neutros o básicos la adición de enmiendas no varía apreciablemente el pH, pero mejora el poder tampón del suelo. Esta variación del poder tampón viene determinado por la modificación que se produzca en el complejo de adsorción por la adición de enmiendas.

I.2.5.Capacidad de cambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es la capacidad que tiene el suelo para intercambiar y retener determinados cationes. Es un proceso dinámico que se desarrolla en la superficie de las partículas causado por los desequilibrios eléctricos de las partículas del suelo. Los principales componentes del suelo que pueden cambiar cationes son las arcillas y la materia orgánica. Las causas de la capacidad de cambio de cationes de las arcillas son las sustituciones atómicas dentro de la red cristalina, la existencia de bordes (superficies descompensadas), disociación de los OH^- de las capas basales y los enlaces de Van der Waals. En las arcillas, además de en su superficie, los iones pueden entrar entre las láminas, sobretodo en aquellas con propiedades hinchables. Las causas de la capacidad de cambio de la materia orgánica son la disociación de los OH^- y de los $COOH$. Los compuestos húmicos juegan un papel fundamental en la formación del complejo de cambio por su interacción con los minerales de las arcillas y con los óxidos e hidróxidos metálicos como hierro y aluminio. De estas interacciones resultan complejos diferentes como los complejos metálicos solubles o insolubles en agua, los complejos humato-metálicos y los complejos que se forman por la adsorción de compuestos húmicos en superficie y en los espacios interlaminares de las arcillas. Esta interacción previene la descomposición y degradación creando una asociación a largo plazo que es la base para la estructura de los agregados y la base para la retención y disponibilidad de

nutrientes. En el conjunto del suelo, la contribución a la capacidad de campo del componente mineral y el orgánico varía ampliamente en función de la textura y de la composición mineralógica, se ha observado que en suelos agrícolas con pH comprendidos entre 6-8 la contribución de la MO a la CIC se sitúa entre el 40-50%, aunque, en general, esta proporción es menor en suelos arcillosos (Ingelmo y Rubio, 2008). La fracción orgánica contribuye sustancialmente a las posiciones de carga variable de la CIC, es decir, a aquellas que dependen del pH.

La adición de enmiendas a suelos incrementa la CIC normal de un suelo (Adani y col., 2006). Este incremento viene determinado por el grado de estabilidad y madurez de la MO añadida. Así, la MO procedente de periodos de maduración más largos, dan lugar a sustancias húmicas más heterogéneas y con mayor capacidad de intercambio catiónico (Ingelmo y Rubio, 2008).

En conclusión se obtiene que la mayoría de los estudios postulan que la adición de enmiendas orgánicas, mejoran la calidad del suelo, favorecen la agregación, mejoran la producción y crecimiento de los cultivos y estimulan la actividad microbiana (Carpenter-Boggs y col., 2000; Ferreras y col., 2006; Shiralipour y col., 1992). Por ello, existe un creciente interés por estudiar las consecuencias que tiene la aplicación de MO exógena al suelo en el comportamiento de los plaguicidas (Cox y col., 2000; Delgado-Moreno y Peña, 2007; Majumdar y Singh, 2007; Romero y col., 1998; Sánchez y col., 2003b).

I.3. PLAGUICIDAS

La denominación de plaguicidas incluye una amplia variedad de sustancias químicas muy diferentes en su composición y propiedades a pesar de su utilización común. Para los fines del Codex Alimentarius (Comisión creada en 1963 por la FAO, y la OMS), se entiende por plaguicida o pesticida, "cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción y/o almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos". El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de la fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra su deterioro durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes, nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos para animales.

I.3.1. Historia de los plaguicidas

Ya alrededor de 2550 a.C. los Sumerianos usaban compuestos sulfurados para el control de insectos. Aunque, tras pequeños avances, no es hasta el siglo XVII d.C. cuando la agricultura se hace más intensiva en Europa y aparecen los primeros libros y documentos dedicados íntegramente al control de plagas. Sin embargo, el uso de plaguicidas se masificó después de la Segunda Guerra Mundial, principalmente debido a la conocida internacionalmente revolución verde donde se introducen nuevos modelos de producción y cultivo que usan grandes cantidades de fertilizantes y plaguicidas duplicando la productividad de la agricultura respecto al resto de la economía. Aparecieron los primeros compuestos orgánicos de síntesis para el control de plagas como el DDT y el 2,4-D. Con el DDT aparecen los compuestos conocidos como organoclorados. En los años cincuenta surgen los primeros organofosforados y posteriormente los carbamatos. Estos últimos compuestos son usados actualmente a gran escala, mientras que los organoclorados están desapareciendo del mercado debido principalmente a su persistencia en el medio y a su toxicidad dado su potencial de bioacumulación. A nivel doméstico y para el control de insectos se ha extendido el uso de los piretroides (<http://www.pestmanagement.co.uk/lib/history.shtml>).

En 1946 se detecta el primer caso de resistencia de un insecto al DDT y en 1993 se conocen más de 504 especies de insectos resistentes a al menos un formulado químico. Asimismo, al menos 17 especies de insectos son resistentes a la mayoría de las clases de plaguicidas. Casos parecidos de resistencia también han sido descritos en hongos, plantas e incluso, resistencia en ratas a rodenticidas (Cate y Hinkle, 1994).

A pesar de estas desventajas, hay que destacar que los plaguicidas han sido también esenciales en el combate de enfermedades humanas y animales, como la malaria, la fiebre amarilla, el dengue y numerosas parasitosis externas e internas. Considerando además, su facilidad de obtención y aplicación, la rapidez de sus resultados y su reducido coste no es de extrañar que su aplicación se extendiera rápidamente realizándose un uso continuo e indiscriminado, con la consecuente aparición de efectos negativos para la salud humana, los ecosistemas y los recursos no renovables.

No obstante, los fitosanitarios fueron, son y seguirán siendo un importante medio para mejorar y proteger la producción agrícola sobre todo mientras no haya otras alternativas más eficaces. Dado que, a pesar de sus consecuencias negativas, su aplicación es indispensable en nuestro sistema de producción agrícola, es necesario realizar una aplicación lo más racional, sostenible e integradora posible de estos compuestos químicos. Por todo ello, los gobiernos desarrollan procesos de registro y

los científicos investigan el desarrollo de técnicas que permitan un uso más eficaz y sostenible de estos compuestos en el medio ambiente.

I.3.2. Clasificación de los plaguicidas

En la actualidad encontramos que no existe una única clasificación de plaguicidas debido a que la naturaleza de estos compuestos químicos es muy compleja por la gran cantidad de sustancias que abarca, por el tipo de plaga sobre la que se desea actuar y su diversidad en los mecanismos de interacción. Por ello, existen distintas formas de clasificar los plaguicidas.

I.3.2.1. Clasificación química de los plaguicidas

En primer lugar, los plaguicidas se pueden clasificar considerando sus características químicas como la estructura, presencia de grupos funcionales activos o considerando el carácter iónico, no iónico de la molécula. La figura I.6 muestra este tipo de clasificación y algunos ejemplos de plaguicidas para cada grupo.

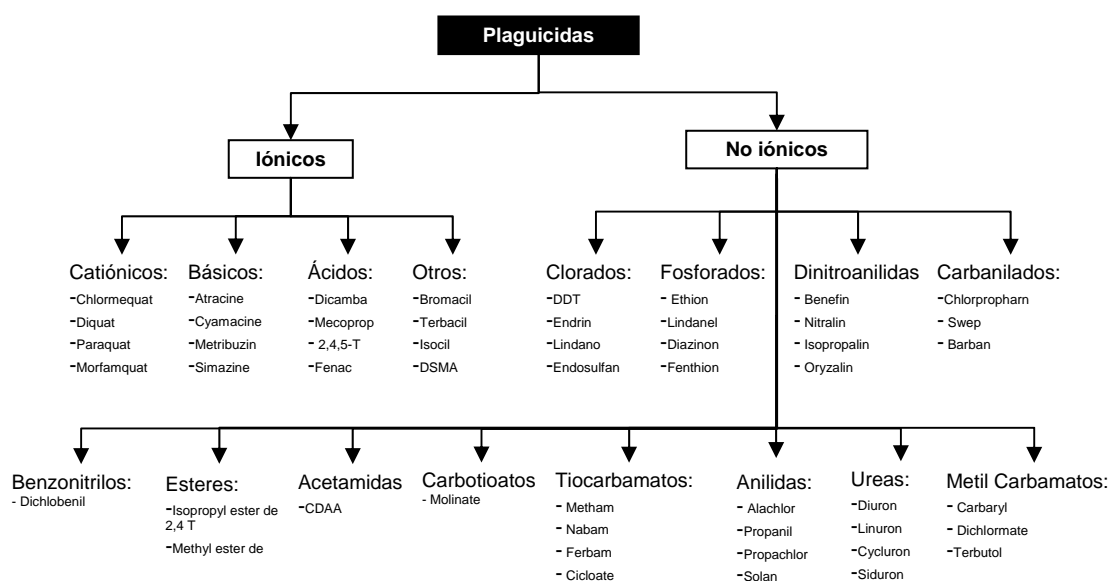


Figura I.6. Clasificación química de los plaguicidas según (Gevao y col., 2000).

I.3.2.2. Clasificación en función del blanco sobre el que inciden

Basándose en el blanco sobre el que actúan los plaguicidas, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) establece la clasificación que está recogida en la tabla I.2. (Ware, 1986).

Tabla 1.2.- Clasificación de los plaguicidas en función de su campo de acción (EPA).

<i>Tipo de plaguicida</i>	<i>Organismo objeto</i>	<i>Tipo de plaguicida</i>	<i>Organismo objeto</i>
Acaricidas	Ácaros	Herbicidas	Plantas
Antibióticos	Microorganismos	Insecticidas	Insectos
Alguicidas	Algas	Larvicidas	Larvas de insectos
Avicidas	Pájaros	Molusquicidas	Caracoles, babosas
Bactericidas	Bacterias	Nematocidas	Nematodos
Defoliantes	Hojas de plantas	Ovicidas	Huevos de insectos
Desinfectantes	Microorganismos	Pesticidas	Peces
Fumigantes	Plagas en edificios, suelos, etc	Repelentes	Insectos, pájaros
Fungicidas	Hongos		

Dentro de estos grandes grupos a continuación se van a describir los insecticidas y herbicidas, por ser los grupos que engloban los plaguicidas seleccionados en esta memoria de tesis doctoral, el insecticida imidacloprid y el herbicida diuron.

1.3.2.2.1. Insecticidas

Son agentes de origen químico o biológico utilizados para matar insectos, normalmente, mediante la inhibición de enzimas vitales. En el mundo existe más de 1 millón de especies conocidas de insectos de las cuales, unas 10.000 especies se alimentan de cultivos, y de ellas, aproximadamente 700 especies causan la mayor parte del daño a los cultivos de la humanidad, tanto en el campo como en almacenamiento. A partir de la II Guerra Mundial han surgido innumerables principios activos nuevos que actualmente se agrupan por su similitud química en diferentes grupos (Ware y Whitacre, 2004).

· **Organoclorados.** Se caracterizan, como su propio nombre indica, por la presencia de átomos de cloro en su molécula, además de carbono e hidrógeno. Su uso fue prohibido por la EPA en 1973, por ser un grupo de productos agroquímicos muy persistente (más persistentes cuanto mayor sea el número de átomos de cloro presentes en las moléculas) y de alta toxicidad, en consecuencia, en la actualidad se usan muy poco. A este grupo, pertenecen entre otros el DDT (Figura 1.7), DDD, metoxicloro...

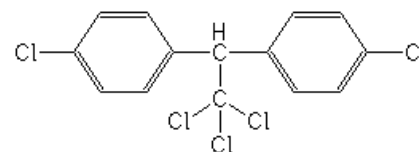


Figura 1.7. Molécula de DDT

- **Organofosforados.** Son aquellos que presentan un átomo de fósforo en su estructura y derivan del ácido fosfórico. Todos los organofosforados son ésteres del fósforo que tienen diferentes combinaciones de oxígeno, carbono, azufre y nitrógeno ligados. Su modo de acción es la inhibición de la enzima *colinesterasa*. Como clase generalmente son los más tóxicos de todos los plaguicidas para los vertebrados y la mayoría de ellos son

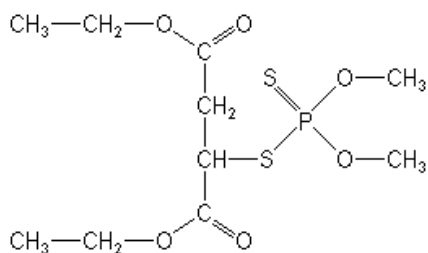


Figura I.8. Molécula de Malatión

químicamente inestables o no persistentes. Su alta toxicidad a limitado y retirado del mercado mucho de estos compuestos. Se dividen en tres grupos: alifáticos, presentan en su estructura una cadena carbonada (malatión, Figura I.8, dimetoato o acefato), fenólicos, presentan un anillo fenólico (paration o fenotrotion) y, por último, los derivados heterocíclicos (diazinon o metidation) (Barberá, 1976).

- **Carbamatos.** Derivan del ácido carbámico. Son más persistentes que los organofosforados en suelo, pero en general menos tóxicos. Al igual que los OPs, su modo de acción es la inhibición de la enzima *colinesterasa*. Varios de los insecticidas pertenecientes a este grupo tienen un gran impacto ambiental ya que afectan a nematodos y artrópodos. Algunos ejemplos son carbofurano, carbamato (Figura I.9) aldicarb o fenoxycarb.

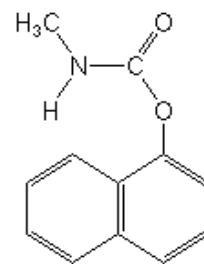


Figure I.9. Molécula de Carbamato

- **Piretroides.** Relacionados estructuralmente con las piretrinas de origen vegetal. Efectivos a bajas dosis y con un amplio espectro de actuación. Son muy tóxicos para organismos acuáticos. La última generación de piretroides es de especial interés debido a su efectividad a menor dosis de aplicación, en el rango de 0.01 a 0.05 kg de ingrediente activo/ha, y a su mayor fotoestabilidad en relación a generaciones precedentes. Algunos ejemplos son deltametrin, cipermetrin o esfenvalerato.
- **Nicotínicos.** Los nicotínicos son una de las clases más nuevas de insecticidas con un nuevo modo de acción, están relacionados estructuralmente con la nicotina natural. Son insecticidas sintéticos muy efectivos cuyo uso se ha ido incrementando debido a su gran especificidad hacia insectos (como *Drosophila*). Estos insecticidas nicotinoides actúan sobre el sistema nervioso central de los insectos, causando un bloqueo irreversible de los receptores postsinápticos nicotínicos de la acetilcolina. También se aplican con frecuencia en ectoparásitos de animales. A este grupo de insecticidas pertenece el imidacloprid, seleccionado en este estudio por su creciente uso.

I.3.2.2.1. Herbicidas

Los herbicidas representan actualmente el conjunto de medios químicos más importante para evitar el desarrollo de las plantas adventicias no deseables, con el fin de preservar la calidad y producción de las cosechas, sobre todo cuando otras alternativas existentes (lucha mecánica, térmica, eléctrica, biológica, etc.) no son viables o son menos eficaces en numerosos casos. Estos fitosanitarios pueden clasificarse (Barberá, 1976):

Por su finalidad:

- Totales. Destruyen toda la vegetación existente.
- Selectivos. Sólo destruyen malas hierbas y dejan indemne los cultivos.

Según el momento de su aplicación.

- De presiembra. Se aplican antes de la siembra
- De preemergencia. Se emplean después de sembrar pero antes de que emerja el cultivo.
- De post-emergencia, se usan con el cultivo más o menos desarrollado.

Por su modo de actuación sobre malas hierbas.

- De contacto. Requieren el contacto directo con la planta. (glifosato, paraquat)
- Residuales o de superficie. Son aquellos que permanecen en el suelo el tiempo suficiente para ser absorbidos por la semilla o por las raíces de la plántula, destruyendo la mala hierba en el momento de su germinación o nascencia.
- Sistémicos. Penetran en el interior de la planta, mezclándose con la savia y repartiéndose por toda ella. Actúan por translocación (diurón, sulfonilureas).

Sistema de aplicación.

- Total. Se aplica sobre todo el campo
- Dirigido o en bandas. Permite el ahorro de líquido y producto.

Según el mecanismo de acción de los herbicidas existen numerosos grupos entre los que destacamos los siguientes:

Bipiridilos. Son desviadores del fotosistema I. A este grupo pertenecen herbicidas tan importantes como el Diquat y paraquat (Figura I.10). Son herbicidas de contacto, no selectivos y de acción rápida. Los bipiridilos son cationes que se fijan fuertemente a los coloides del suelo. Paraquat posee una alta toxicidad para los mamíferos (Dosis letal (DL₅₀) oral para ratas es de 120 mg de ión paraquat kg⁻¹ de peso corporal) y su uso ha sido prohibido en un grupo de países. La toxicidad de

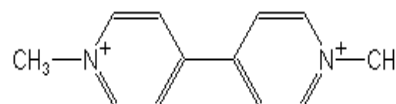


Figura I.10. Molécula del Paraquat

diquat en mamíferos es menor (DL_{50} oral para ratas es de 230 mg de ión diquat kg^{-1} de peso corporal). El uso repetido de los bipyridilos en cultivos perennes ha conducido al desarrollo de biotipos tolerantes de 13 especies de malezas (LeBaron y Gressel, 1982).

· **Triazinas.** Son inhibidores del fotosistema II. Dentro de este grupo encontramos atrazina (Figura I.11), simazina, cianazina, metribuzin...Tienen relativamente baja solubilidad en agua, su volatilidad y fotodescomposición son bajas. Comúnmente se aplican al suelo, donde son absorbidos por las raíces, aunque la mayoría de las triazinas pueden ser absorbidas foliarmente. Con la excepción de cianazina, la toxicidad para mamíferos es baja. La contaminación de las aguas superficiales y subterráneas con atrazina y por simazina, ha conducido a la prohibición o a restricciones de su uso en algunos países, El uso repetido de triazinas, especialmente en maíz y sorgo, ha conducido al desarrollo de biotipos resistentes de 40 especies de malezas de hoja ancha (LeBaron y Gressel, 1982).

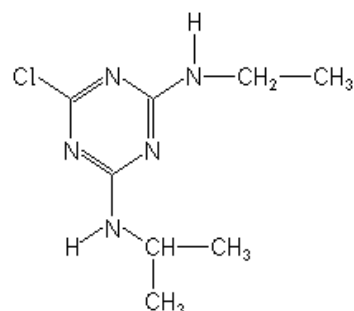


Figura I.11. Molécula de la Atrazina

Glifosato. Es el único herbicida que bloquea la síntesis de aminoácidos aromáticos. Es el herbicida de postemergencia no selectivo más extensamente usado. Glifosato (Figura I.12) solamente entra en la planta a través de los tejidos verdes de las plantas. Se fija moderadamente a los coloides del suelo y se degrada microbiológicamente en un plazo de uno a cuatro meses. Controla la mayoría de las malezas anuales y perennes, así como algunas especies leñosas. Glifosato penetra el follaje con relativa lentitud y es vulnerable al lavado por lluvia.

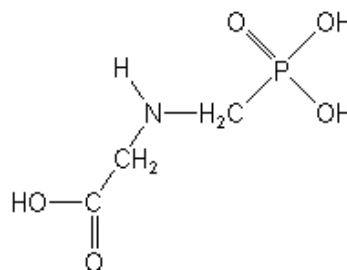


Figura I.12. Molécula de Glifosato

· **Ureas sustituidas y uracilos.** Al igual que las triazinas son inhibidores del fotosistema II. Diurón, clorotolurón, isoproturón, fluometurón (Figura 1.13) y linurón son algunos de los principales plaguicidas pertenecientes a este grupo. Su persistencia en el suelo tiende a ser menor que las triazinas. Su solubilidad en agua y adsorción a los coloides del suelo están influidos por el número de átomos de cloro en la molécula. Los uracilos tienen propiedades similares a las ureas sustituidas, pero

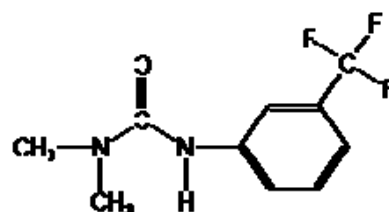


Figura I.13. Molécula del Fluometuron

tienden a ser lixiviados más fácilmente y son menos selectivos. Se han dado casos de contaminación del agua subterránea cuando se han usado intensiva y repetidamente.

Sulfonilureas. Son inhibidores de la síntesis de aminoácidos de cadena ramificada. Dentro de este grupo encontramos al bensulfuron, metil-clorsulfurón (Figura I.14), metsulfuron-metil, sulfometuron-metil, thifensulfuron,... Estos herbicidas desarrollados inhiben la acetolactato sintetasa y tienen dosis de aplicación muy bajas. Las sulfonilureas tienen muy baja toxicidad para los mamíferos, bajo riesgo al ambiente, se hidrolizan y se degradan por los microorganismos del suelo.

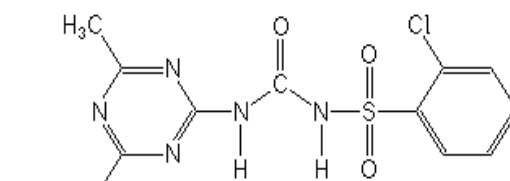


Figura I.14. Molécula del metil-clorsulfurón

I.3.2.3. Clasificación toxicológica de plaguicidas

Los plaguicidas se clasifican también atendiendo a su toxicidad. La clasificación toxicológica de los plaguicidas en España ha evolucionado a lo largo de los años, adaptándose a las exigencias internacionales. En 1976, se clasificaban en categorías de toxicidad creciente, definidas por las letras A, B, C y D. A partir de 1985, tras la entrada en vigor del Real Decreto 2216/1985 que aprueba el reglamento sobre Declaración de Sustancias Nuevas y Clasificación de Envasados y Etiquetado de Sustancias Peligrosas, se clasifican en Inocuos, Nocivos, Tóxicos y Muy tóxicos, marcando también otras características toxicológicamente importantes como: peligrosos para el medio ambiente, carcinogénicos, teratogénicos, etc. (B.O.E., 1983 y 1985). Para ello, previamente se estudia su toxicidad para las personas, mamíferos, peces, daphnias, algas, lombrices de tierra, artrópodos beneficiosos, microorganismos del suelo, etc. Estos estudios actualmente son exigidos por todas las organizaciones nacionales e internacionales para homologación y registro de los agroquímicos antes de ser autorizados.

La Organización Mundial de la Salud establece una clasificación según su peligrosidad (WHO, 2004), es decir, según su capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto. Esta clasificación se basa en la dosis letal media aguda (DL_{50}), por vía oral o dérmica de las ratas (Tabla I.1). Aunque un producto con una DL_{50} baja puede causar efectos crónicos por exposición prolongada.

Tabla I.3. Clasificación Toxicológica de los Plaguicidas (OMS)

Categoría	Clase	DL ₅₀ mg kg ⁻¹ peso corporal (ratas)			
		Oral		Dermal	
		sólido	líquido	sólido	líquido
Extremadamente Peligroso	Clase Ia	< 5	<20	<10	<40
Altamente Peligroso	Clase Ib	> 5	>20	>10	>40
Moderadamente Peligroso	Clase II	>50	>200	>100	>400
Ligeramente Peligroso	Clase III	>500	>2000	>1000	>4000

Además de estas categorías, existen otras tres clases de plaguicidas:

Clase U: incluye a aquellos productos que no implican un riesgo agudo cuando se usan normalmente.

Clase O: incluye a aquellos productos a los que no se les asigna ninguna categoría por considerarlos obsoletos o descontinuados.

Clase FM: incluye a los fumigantes gaseosos o volátiles. La clasificación de la OMS no establece criterios para las concentraciones aéreas en las cuales pueda basarse la clasificación. La mayoría de estos compuestos son de muy alta toxicidad y existen recomendaciones sobre límites de exposición ocupacional en muchos países.

I.3.3. Estado actual del uso de plaguicidas

Se calcula que en 1965 se utilizaban en el mundo unas 0,8-0,9 millones de toneladas de plaguicidas y, según el sumario de estadísticas alimentarias y agrícolas de la FAO, en el 2000 la cifra aumento hasta los 2,2 millones de toneladas, si bien, esta cifra no ha variado mucho desde 1990. En España, desde 1995 hasta 2005 el uso de fitosanitarios experimentó un incremento del 70,34 %, rompiendo con el fuerte descenso iniciado a finales de la década de los ochenta (Figura I.15). Aunque en un principio la aplicación de las reformas de la Política Agraria Común (PAC) de 1992 contribuyó parcialmente a la reducción de su consumo, los procesos de intensificación agraria y, sobre todo, el aumento de su especificidad y eficacia, han agravado el problema al aumentar su consumo y su toxicidad. A partir del año 2004, los datos vuelven a mostrar una tendencia a la baja con una disminución en el consumo de 6.023 t respecto al año anterior (que equivale a un descenso en kg ha⁻¹ del 12,6%).

Económicamente, el gasto en plaguicidas en España fue de 575 mill. de euros en el 2007 para un consumo de, aproximadamente, unas 95 mil toneladas, mientras que en el mercado europeo y mundial las cifras, en el 2006, fueron de 6.575 y 30.425 mill. de euros respectivamente (memoria ECPA 2007).

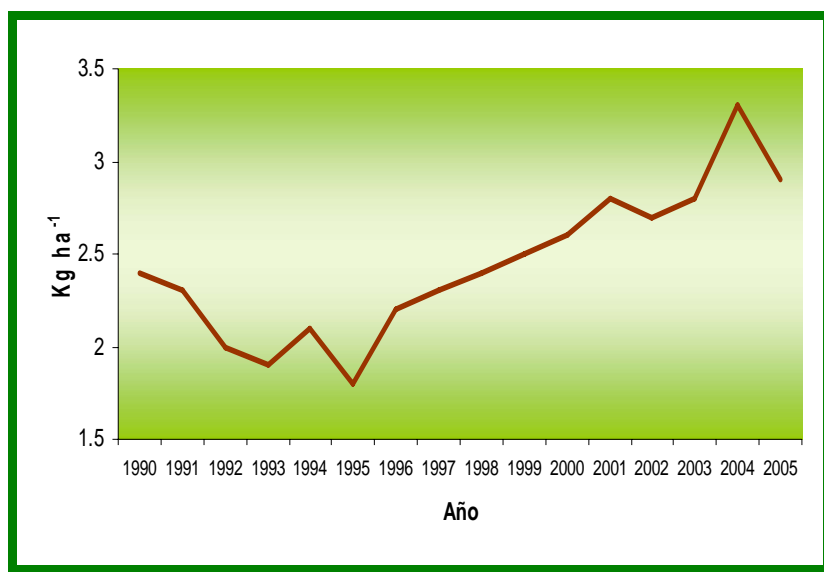


Figura I.15. Evolución de consumo de plaguicidas en España.

La ralentización en el creciente uso de plaguicidas puede deberse a que empieza a haber una pequeña concienciación sobre el uso indiscriminado de estos compuestos en los últimos años y al inicio de formas de producción ecológica y, sobretudo, de producción integrada. Además se usan plaguicidas más específicos y eficaces con dosis de aplicación del orden de $g\ ha^{-1}$. En líneas generales, el consumo de fitosanitarios y la superficie de aplicación, muestran una tendencia inversa, más consumo sobre menos superficie. Por otro lado, las razones climáticas también contribuyen a este descenso de mercado, ya que, en los últimos años, un invierno prolongado y un verano cálido y seco afectaron a los rendimientos de los cultivos.

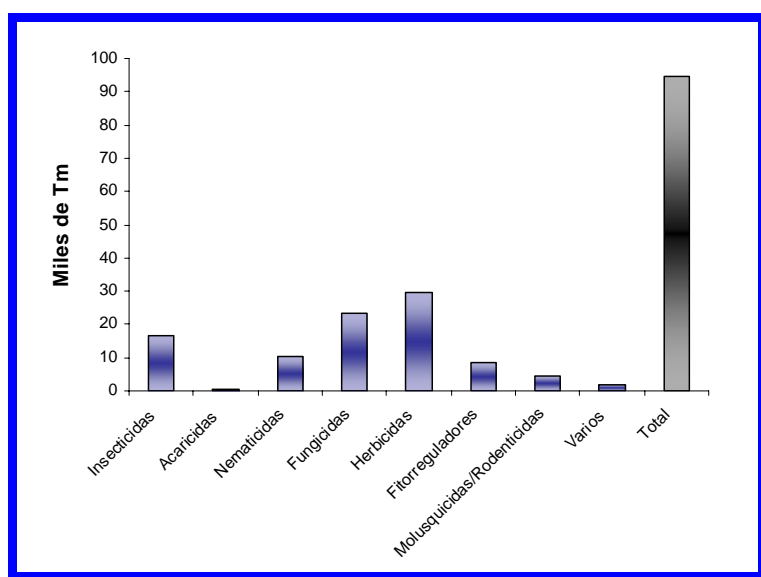


Figura I.16. Consumo de Plaguicidas en Europa en el 2007.

Por familias de plaguicidas, el consumo en Europa en el 2007, de las 95 mil toneladas consumidas, alrededor de 29 mil corresponden a herbicidas, seguidas de cerca por fungicidas e insecticidas, con un gasto de unas 23 y 16 mil toneladas respectivamente (Figura I.16).

Con éstas cifras de tan elevado consumo de agroquímicos en el mundo es inevitable que su uso tenga un importante impacto negativo en el medio ambiente.

I.3.4. Consecuencias negativas debidas al uso de plaguicidas

Se entiende por residuo de plaguicida a cualquier sustancia específica, tóxica o contaminante, presente en suelo, agua, alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, como consecuencia del uso de plaguicidas. En esta definición se incluye cualquier derivado de los plaguicidas, como los metabolitos e impurezas de importancia toxicológica. Se ha estimado que menos del 0,1 % de los plaguicidas aplicados a los cultivos alcanza su objetivo. Por lo que el resto, hasta un 99,9%, penetran en el medio ambiente y son susceptibles de contaminar suelos, aguas y aire, donde puede ocasionar daños a otros organismos como el ser humano (Pimentel, 1995). Estos compuestos en el medio ambiente están sujetos a una serie de procesos de conversión y transporte, por lo que se pueden encontrar en todos los compartimientos del medio ambiente, tales como sedimentos, aguas superficiales y subterráneas, atmósfera y suelos. La contaminación por estos agroquímicos en las diferentes matrices del medio ambiente puede llegar a ser reversibles con el tiempo. Por ejemplo, la contaminación del aire por químicos volátiles es transitoria y se puede dispersar fácilmente por el viento u otros elementos climáticos; la contaminación del suelo, ya sea puntual o dispersa afecta a un número grande de organismos en contacto con el suelo contaminado y otros compartimientos medioambientales relacionados como la hidrosfera. La contaminación de las aguas superficiales es muy importante pero tiene una mayor velocidad y probabilidad de recuperación por el movimiento rápido, la dilución por lluvias y la descomposición producida por los microorganismos, la luz solar y otros organismos. En cambio, la contaminación de las aguas subterráneas conlleva un proceso de reversibilidad muy lento y usualmente es más difícil de detectar, aún si la fuente de contaminación fuese removida.

Según datos de la OMS, anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas. Por ello, la preocupación por los problemas causados por la contaminación de aguas por plaguicidas está aumentando. Muchos países de la UE están haciendo grandes esfuerzos por investigar los niveles de contaminación de plaguicidas. Sobretudo, tras la entrada en vigor de la directiva 98/83/CE (que revisa la directiva 80/778/CE sobre aguas de consumo humano) que establece las concentraciones máximas admisibles de $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para un plaguicida

y de $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para la suma de todos los plaguicidas en aguas de consumo. Si bien hay que decir que estos límites se han establecido sin tener una base toxicológica sino analítica.

Según la Agencia Europea de Medio Ambiente (EEA), numerosos países miembros, excepto Suecia (Figura I.17), advierten sobre su vulnerabilidad por contaminación por plaguicidas en aguas subterráneas en sus informes sobre su situación medioambiental. Así, por ejemplo Austria, entre 1997 y 1999 detectó que el 15% de las muestras ensayadas superaban los límites de contaminación de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ de desetilatrazina y atrazina. En Francia, en el 35% de los lugares muestreados, estimaron niveles altos de contaminación y en un 13% de los muestreos esta contaminación es permanente, aunque estos datos solo cubren el 75% de la superficie francesa. En Dinamarca, en el 2001, se encontraron plaguicidas en el 27% de los lugares muestreados y un 8,5% presentaban valores por encima de los límites para agua potable. En el Reino Unido, en el 2000, alrededor del 9% del agua para consumo no superaba los límites mínimos de calidad ambiental.

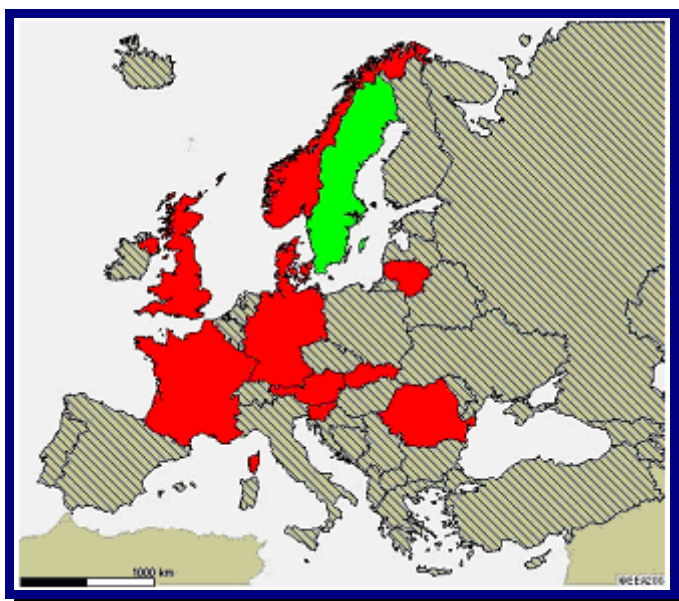


Figura I.17. Mapa Europeo de Países con riesgo de contaminación de aguas subterráneas. Rojo: peligro de contaminación. Verde: Sin riesgo. Gris: Sin pronunciamiento. (WATERBASE, EUROWATERNET; EEA, 2000).

Por su parte, muestreos llevados a cabo en 1999 por el gobierno estadounidense revelaron niveles de contaminación importantes a lo largo de sus recursos acuáticos. Concretamente más del 95% de las muestras tomadas en cursos de aguas superficiales y casi el 50% de las tomadas en pozos contenían al menos un plaguicida. Uno de los agroquímicos más encontrados fue atrazina, también encontrada en Nueva Gales del Sur, junto con plaguicidas como endosulfan, pronofos, dimetoato, fluometuron, clordano, prometrín y diuron (Arias-Estevez y col., 2008).

En España la contaminación procedente de la agricultura, por la aplicación de fertilizantes y plaguicidas, supone un motivo de preocupación, por la posibilidad de provocar graves problemas de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, principalmente debido a contaminación difusa y no a vertidos puntuales (Libro blanco del Agua, www.mma.es). De hecho, numerosos estudios advierten de la presencia de plaguicidas tanto en aguas superficiales como en aguas subterráneas (Carabias-Martínez y col., 2003; Claver y col., 2006). En zonas de agricultura intensiva, como Almería se han encontrado concentraciones de atrazina y algunos organofosforados (Chiron y col., 1995; Parrilla y col., 1993). Este riesgo de contaminación se hace más evidente cuando, precisamente en el sureste de España, estudios sobre salud pública advierten de la presencia de residuos de plaguicidas en adultos (Botella y col., 2004), jóvenes (Carreño y col., 2007) e, incluso en bebés, a través de concentraciones encontradas en las placentas de las madres (Lopez-Espinosa y col., 2007).

A pesar de esta realidad de contaminación, la aplicación de plaguicidas es una práctica muy bien extendida en la agricultura actual y los beneficios económicos de su aplicación son indiscutibles, por lo que cabe esperar un largo camino antes de reducir o sustituir el uso de plaguicidas como principal herramienta en la lucha contra las plagas. Por ello es indispensable conocer en profundidad su dinámica en el medio edáfico, conocer que parámetros rigen su persistencia y destino en el medioambiente, de modo que sea posible trazar estrategias para prevenir o minimizar sus principales adversos, sobre todo en zonas o ambientes más vulnerables.

I.3.5. Procesos que rigen la dinámica de plaguicidas en el suelo

Los plaguicidas pueden llegar al suelo por tres vías diferentes. Una es la aplicación directa sobre el suelo (López-Pérez G.C. y col., 2006), otra vía es debida al arrastre de los agroquímicos suspendidos en aire y, finalmente, cuando la aplicación es directa sobre las partes aéreas de la planta, gran parte se deposita directamente sobre el suelo, parte de la que cae sobre la planta es arrastrada por viento o lluvia y otra parte se puede incorporar al suelo a través de los restos vegetales que quedan tras recolectar el cultivo (Rial Otero y col., 2003).

Una vez que el plaguicida alcanza el suelo, los mecanismos que rigen su evolución son diversos y vienen regulados por diferentes procesos físico-químicos, los cuales dependen de las propiedades físico-químicas del plaguicida, del suelo, topografía y condiciones ambientales. Estos procesos los podemos agrupar en dos grandes grupos (Figura I.18):

(i) procesos que contribuyen a la persistencia en el suelo, donde se incluyen los procesos de adsorción y degradación (fotodegradación, descomposición química, degradación biológica).

(ii) procesos de transferencia a sistemas relacionados con el suelo. A este último grupo pertenecen procesos de difusión, escorrentía, lixiviación, volatilización.

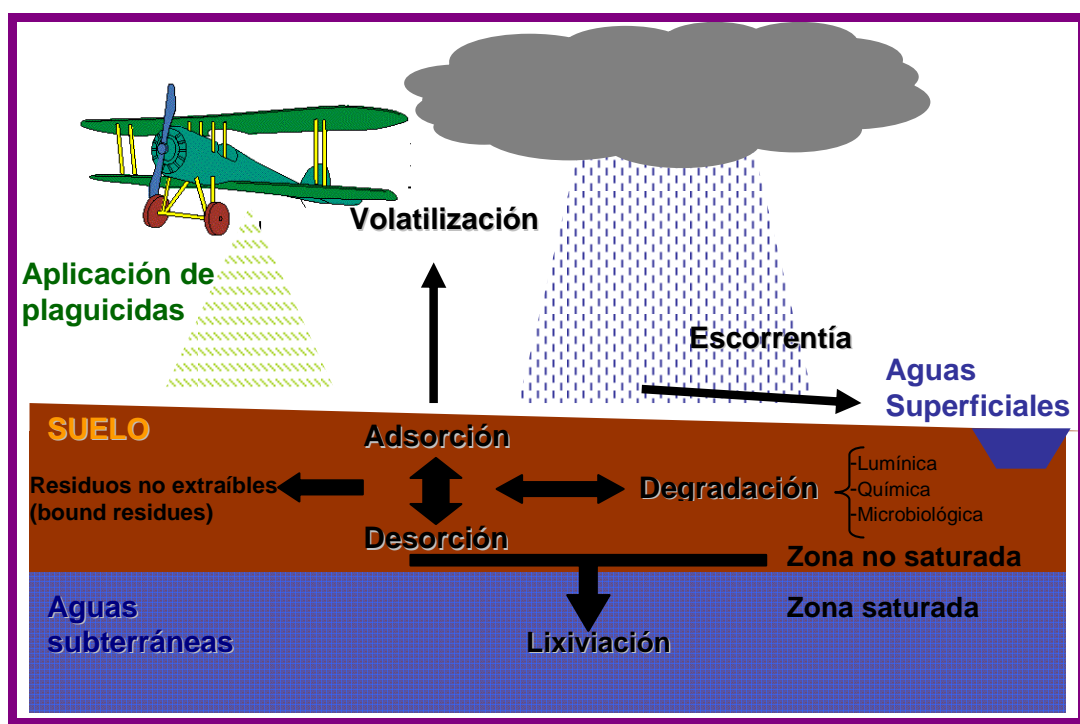


Figura I.18. Dinámica de plaguicidas en suelo.

I.3.5.1. Procesos que contribuyen a su persistencia en el suelo

I.3.5.1.1. Adsorción

La adsorción se define como un proceso por el cual un soluto, átomos, iones o moléculas, es atrapado o retenido en la superficie de un material, mientras que la desorción sería el proceso inverso. El soluto en nuestro caso es una molécula de plaguicida que puede tener carácter neutro o ser ionizable y el proceso de adsorción-desorción puede tener lugar en los macro y microporos del medio. La adsorción se puede considerar el proceso más importante puesto que juega un papel fundamental en el transporte, persistencia, transformación y bioacumulación de plaguicidas (Dios Cancela y col., 1992; Linn y col., 1993). Este proceso viene regido por un lado, por las propiedades físico-químicas del plaguicida descritas por Weber (1989) con el acrónimo SILVER (Solubilidad, Ionización - pK_a , pK_b -, Longevidad, Volatilización, Extractabilidad y

Reactividad) y por otro lado de las propiedades del suelo, estructura, contenido en arcilla, materia orgánica (MO), óxidos de Fe y Al y pH (Szeto y Price, 1991). Esto conlleva una heterogeneidad y variabilidad en las propiedades que pueden afectar a un plaguicida en un suelo que hace difícil el conocimiento de los mecanismos que produce la adsorción.

Cinéticas e isotermas de adsorción

En la actualidad, para cuantificar la capacidad de adsorción del suelo a escala de laboratorio se realizan, por un lado, cinéticas de adsorción, que estudian la adsorción en función del tiempo para conocer cuando se alcanza el equilibrio, y, por otro, se estudian las isotermas de adsorción, donde, a temperatura constante usando, se estudia la situación de equilibrio a diferentes concentraciones de soluto y considerando el tiempo de contacto sólido-solución donde se alcanza una situación de equilibrio.

Las cinéticas de adsorción son importantes puesto que, a través del uso de modelos matemáticos, nos ayudan a conocer la velocidad en que se adsorben los materiales y también dan una idea de el tipo de adsorción y los lugares donde se realiza la adsorción (Biggar y col., 1978; Cheung y col., 2000; Ho y McKay, 1999).

Por su parte, las isotermas de adsorción nos ayudan a establecer la capacidad adsorbente de algún material. Suele expresarse mediante diferentes ecuaciones, pero en general se considera que la concentración del plaguicida en el suelo es función de la concentración del plaguicida en solución.

$$C_s = K_f C_e^{1/n} \quad \text{Ec. I.1}$$

Donde C_s es la concentración del plaguicida en el suelo, C_e es la concentración en la fase acuosa, K_f se conoce como constante de Freundlich y $1/n$ corresponde con el exponente de Freundlich. Donde K_f es una constante de la capacidad del sorbente para adsorber un plaguicida y $1/n$ describe la linealidad de la isoterma. Según el valor de $1/n$, Giles y col. (1960) proponen cuatro tipos de isotermas (Figura I.19):

- a) Isotermas tipo "C". La relación entre la concentración de equilibrio y la adsorbida es la misma a cualquier concentración. En este caso $1/n=1$ y se habla de constante de partición o distribución (K_d).
- b) Isoterma tipo "L". La relación entre la concentración de equilibrio y la adsorbida disminuye cuando la concentración de plaguicida aumenta. En este caso $1/n<1$ e indica una progresiva saturación del sólido.

- c) Isotherma tipo "H". Es un caso particular de la tipo "L", donde se produce una adsorción inicial muy grande, se da cuando la afinidad entre el soluto y el solvente es muy grande.
- d) Isotherma tipo "S". Produce una curva sigmoïdal ($1/n > 1$). Es resultado de, al menos, dos mecanismos de adsorción opuestos. Es un caso típico en sustancias no polares que tienen poca afinidad por arcillas, pero tan pronto como la superficie de las arcillas está cubierta por el compuesto, otro tipo de moléculas son adsorbidas más fácilmente. Este fenómeno se conoce como adsorción cooperativa. Es un caso que también se da para surfactantes.

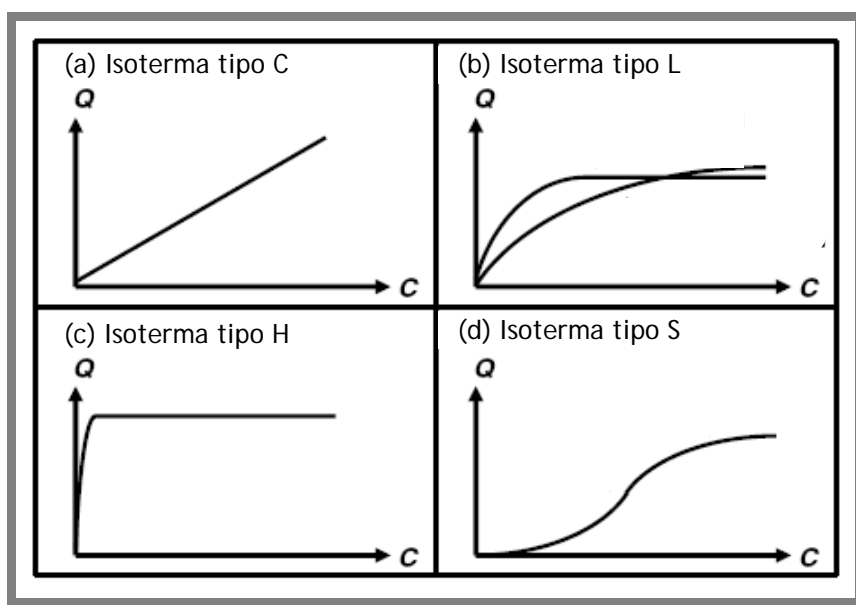


Figura I.19. Formas de las isothermas de adsorción ($C=C_e$; y $Q=C_s$, en ecuación I.1).

Las constantes de adsorción varían de un suelo a otro. Sin embargo, la adsorción de compuestos neutros, sobretodo plaguicidas no iónicos de baja solubilidad (solubilidad en agua $< 300 \text{ mg L}^{-1}$), ha sido muy estudiada (Gao y col., 1998) y parece venir influenciada principalmente por el contenido en MO del suelo (Spark y Swift, 2002). Entonces el valor de K_d o K_f puede normalizarse y se obtiene la constante de adsorción en función del carbono orgánico del suelo, K_{co} (Ecuación I.2), que expresa la cantidad de plaguicida adsorbido por unidad de masa de carbón orgánico del suelo. Sin embargo, esta descrito que esta normalización no es muy correcta cuando el valor del exponente de Freundlich es inferior a 0,7.

$$K_{co} = \frac{K_f \cdot d^n}{\% CO} \times 100 \quad \text{Ec. I.2}$$

En la Tabla I.4 muestra una clasificación de la movilidad de plaguicidas atendiendo a los valores de K_{oc} .

Tabla 1.4. Movilidad de los plaguicidas estimando los valores de K_{oc} (Claver y col., 2006)

Movilidad	Valor de K_{oc}
Extrema	<50
Alta	50-150
Media	150-500
Ligera	500-2000
Inmóvil	>2000

Aunque esta clasificación ayuda al proceso de registro de plaguicidas, se ha visto que la K_{oc} no puede tomarse como una constante universal puesto que la estructura y la naturaleza de la MO del suelo también tienen efecto en la capacidad adsorbente del suelo. Se han encontrado correlaciones positivas entre los valores de K_{oc} y la fracción aromática de la MO y con el contenido en ligninas y carbon vegetal (Ahangar y col., 2008; Ahmad y col., 2006; Romero y col., 2006). Por el contrario, las cadenas alifáticas, los carbohidratos y las proteínas se relacionan negativamente con la adsorción (Ahangar y col., 2008; Ahmad y col., 2006).

Así mismo, esta constante no es válida en los casos donde la relación arcilla/MO es alta, de modo que una gran parte de la adsorción sea debida a la arcilla. Por ello, también es de gran interés poder determinar un parámetro normalizado con el contenido de arcilla del suelo, K_{arc} similar al K_{co} (Ecuación 1.3).

$$K_{arc} = \frac{K_{f''d''}}{\% \text{ arc}} \times 100 \quad \text{Ec. 1.3}$$

En estos casos también habría que considerar la influencia de los distintos tipos de arcilla presentes en el suelo dado que también presentan capacidades adsorbentes muy diferentes.

Mecanismos de adsorción

Debido a la complejidad de los procesos que rigen la adsorción de plaguicidas (difusión, partición, intercambio iónico...) no es fácil determinar los mecanismos de su adsorción. Por ello es importante conocer las características físico-químicas del plaguicida y de los suelos a fin de acotar los principales mecanismos que rigen la adsorción de un plaguicida en un suelo determinado. Existen algunas revisiones que describen en profundidad estos mecanismos implicados en la adsorción de plaguicidas (Calvet, 1989). En general, las principales formas de interacción entre un plaguicida y un adsorbente son debidas a fuerzas de Van der Waals, formación de puentes de H, interacciones dipolo-dipolo, enlaces covalentes, protonación, interacciones con cationes metálicos e interacciones hidrofóbicas. Además, el proceso de adsorción

puede variar en forma y fuerza con el tiempo, originando residuos viejos o más persistentes en relación a los plaguicidas recién añadidos al suelo.

Proceso de Envejecimiento de residuos de plaguicidas (Aging Process)

Los procesos de adsorción son generalmente reversibles, sin embargo, si el xenobiótico persiste y permanece en contacto con el adsorbente este se hace más resistente a la extracción. Cinéticamente la adsorción de la mayoría de los compuestos orgánicos es un proceso físico dividido en dos fases: una fase inicial rápida, donde se produce la adsorción más importante en cantidad adsorbida; seguida de una parte más lenta que tiene lugar a escalas temporales de días, meses e, incluso, años (Pignatello y Xing, 1996). Numerosos trabajos han observado el incremento en la adsorción de plaguicidas con el envejecimiento (aging) de estos, es decir, con el aumento del tiempo de contacto soluto-sorbente (plaguicida-suelo) (Koskinen y col., 2002). En los ensayos de cinéticas de adsorción no se puede decir que se llega a un equilibrio de adsorción perfecto, por lo que los estudios de isotermas de adsorción en muestras tratadas con plaguicida recientemente pueden sobreestimar la disponibilidad de los residuos de plaguicidas envejecidos.

Los mecanismos de envejecimiento son escasamente conocidos. Se atribuyen a procesos de difusión lenta entre los pequeños poros de los agregados, procesos de partición hidrofóbica en las sustancias húmicas, secuestro en las superficies hidrofóbicas de los nanoporos y la adsorción en lugares de la materia orgánica del suelo de adsorción irreversible (Arias-Estevez y col., 2008). Este proceso reduce significativamente la bioaccesibilidad y la disponibilidad de los compuestos. Con el paso del tiempo los plaguicidas que no se han degradado ni desplazado se hacen más resistentes a la degradación y la extracción (Buraue y Bassmann, 2005; Nam y Alexander, 1998; Schnitzler y col., 2007). Así, estos procesos de adsorción o retención en el tiempo dan a la formación de lo que se conoce como residuos persistentes.

Residuos persistentes (Bound Residues)

Para determinar el grado de adsorción de un plaguicida y su potencial para ser degradado es útil diferenciar entre las distintas clases de residuos de plaguicidas en función de su grado de disponibilidad (Arias-Estevez y col., 2008). Estas clases vienen definidas y cuantificadas a través de procesos de extracción de plaguicidas con el uso de diferentes solventes cuya capacidad extractora va aumentando (Oi, 1999). Generalmente la sucesión de extractantes que se usan son en primer lugar agua, seguida de un solvente orgánico y, finalmente, un extractante más fuerte, que puede ser incluso un proceso de combustión (Fernández-Bayo y col., 2007b; Schnitzler y col., 2007). Dentro de estos grupos encontramos los conocidos como residuos

persistentes. La definición de este tipo de residuos a variado a lo largo del tiempo (Wanner y col., 2005b). En la actualidad se definen como aquellos residuos de plaguicidas que persisten en matrices como suelos, animales o plantas, tanto en su forma original o como metabolito, después de ser sometidos a un proceso de extracción. Este proceso de extracción no debe modificar substancialmente los compuestos o la matriz a la que están fijados (Burauel y col., 1998).

I.3.5.1.2. Degradación

Cuando un plaguicida es liberado al medio ambiente es susceptible de sufrir procesos de degradación, transformándose en compuestos más simples que el compuesto patrón. La degradación es fundamental para atenuar los niveles de residuos de plaguicidas en suelos (Guo y col., 2000). Hay tres tipos de descomposición:

- **Fotodegradación.** Degradación del plaguicida por efecto del espectro de luz ultravioleta o visible de la luz solar (fotólisis). Las fuentes de luz y su intensidad regulan el grado de descomposición de un compuesto. Cuando la radiación absorbida por la molécula da lugar a la formación de nuevas especies se habla de fotodegradación directa. Este tipo de degradación requiere que el espectro de absorción de la molécula coincida con el espectro de radiación ultravioleta. Si la radiación da lugar a la formación de especies excitadas o de radicales libres que son los que descomponen la molécula, la fotodegradación es indirecta. La descomposición fotoquímica en suelos viene limitada por la profundidad, textura, humedad, temperatura y contenido en MO del suelo (Romero y col., 1998; Sánchez y col., 2003a)
- **Degradación química.** El compuesto original se transforma mediante procesos de oxidación, reducción, hidroxilación, dealquilación, rotura de anillos, hidrólisis e hidratación, isomerización y reacciones con radicales libres (Romero y col., 2000). Estos mecanismos de degradación son similares a los mediados por los microorganismos y solo puede ser discernidos si se trabaja bajo condiciones de esterilidad. Suele depender de las características físico-químicas del suelo y del plaguicida. Por ejemplo, los plaguicidas de carácter ácido son más fácilmente degradados en su forma aniónica que en su forma neutra (Pons y Barriuso, 1998). Por otro lado, la naturaleza de la MO, la presencia de óxidos metálicos, arcillas, etc, puede catalizar o retardar las reacciones de degradación (Menniti y col., 2003; Romero y col., 1997; Sánchez y col., 2003b).
- **Degradación microbiológica,** Los microorganismos del suelo, bacterias, algas y hongos, obtienen alimento y energía para su crecimiento de una amplia

variedad de compuestos, entre ellos podemos encontrar los plaguicidas. Se pueden diferenciar dos procesos: (i) que los microorganismos usen el xenobiótico como fuente de carbono para su propio crecimiento, donde la mineralización sería la transformación completa en dióxido de carbono y (ii) cometabolización, cuando los microorganismos no usan el xenobiótico directamente para su crecimiento, pero es metabolizado con otra sustancia para su desarrollo (Briceño y col., 2007). La acción de los microorganismos del suelo sobre los plaguicidas es el mecanismo de descomposición más importante. Incluso puede llegar a ser un problema, cuando la microflora del suelo se adapte a metabolizar los plaguicidas y cada vez se necesiten más dosis para tener una misma eficacia del plaguicida o, incluso, disminuya su eficacia (Bending y col., 2001). Este tipo de degradación también dependerá de características del suelo y del compuesto, aunque también la biodisponibilidad del plaguicida va a ser fundamental para que pueda ser o no degradado. Está aceptado que aquellos agroquímicos que están adsorbidos son menos accesibles para los microorganismos por lo que su degradación y transporte estará limitado (Koskinen y col., 2001). Sin embargo, la degradación de los compuestos adsorbidos no puede ser obviada, así Park y col. (2003) observaron que en algunos suelos y bajo ciertas condiciones, las bacterias pueden alcanzar y degradar al menos parte del pesticida adsorbido. Así pues, la biodisponibilidad de un plaguicida va a depender de su distribución en los lugares de adsorción y de la fuerza con la que esté retenido. Dentro de este tipo de degradación podemos incluir la degradación debida a las enzimas del suelo. En el suelo encontramos numerosas enzimas que pueden ser intracelulares o extracelulares. Muchas de estas enzimas pueden tomar las sustancias agroquímicas como substratos transformándolos en otras sustancias (Burns, 1978).

I.3.5.2. Procesos de transferencia

Estos procesos son los responsables de la presencia de residuos de plaguicidas en agua, atmósfera, zonas polares, etc. y de los respectivos problemas para el medio ambiente.

I.3.5.2.1. Volatilización

Es la transferencia de los plaguicidas en forma gaseosa, a través de la interfase suelo-aire y es el principal mecanismo de transferencia de plaguicidas a la atmósfera. Todas las sustancias orgánicas son volátiles en algún grado dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentre, de la humedad del suelo y de la temperatura ambiente. La constante de Henry (H_c) se usa como referencia de la volatilidad de un plaguicida en suelo y se obtiene dividiendo la

presión de vapor por la solubilidad del producto en agua. Un valor alto de la constante indica una tendencia del plaguicida a volatilizarse. No obstante, algunos plaguicidas pueden ser transportados a la atmósfera por acción del viento, cuando se encuentran adheridos a partículas de suelo pequeñas o por fenómenos de difusión durante su aplicación. Este proceso depende principalmente de las propiedades físicas del plaguicida y es más importante en plaguicidas persistentes y con baja tasa de degradación (Scheunert, 1992). En general, las pérdidas por volatilización son mayores en suelos húmedos que en suelos secos, cuando las temperaturas son elevadas y cuando el plaguicida no se encuentra fuertemente adsorbido. Para la mayoría de plaguicidas las pérdidas por volatilización son insignificantes en comparación con las debidas a lixiviación o escorrentía. Además, en este apartado hay que añadir las pérdidas debidas a dispersión durante la aplicación pueden llegar a ser de hasta un 75% o mayores si las condiciones atmosféricas no son favorables (Pimentel, 1995). No obstante, para la mayoría de los plaguicidas con baja tasa de volatilización, la principal vía de desaparición suele ser por lixiviación o escorrentía.

I.3.5.2.2. Escorrentía

Este proceso es el responsable del arrastre de los residuos de plaguicidas a sistemas acuáticos superficiales. El agua de escorrentía que se produce cuando la cantidad de agua que llega al suelo es mayor de la que este puede infiltrar arrastra superficialmente a los residuos de plaguicidas disueltos y a aquellos unidos a partículas de suelo capaces de ser arrastradas por el agua. En aquellos climas de lluvias intensas en poco tiempo y en zonas de elevadas pendientes, el arrastre de plaguicidas por escorrentía será de mayor importancia. Aun así, las pérdidas de plaguicidas por escorrentía son generalmente del orden del 1 o 2% de la cantidad de compuesto aplicada o inferiores (Carter, 2000; Wauchope, 1978), y del 5% en condiciones extremas (Burgoa y Wauchope, 1995). En general, las concentraciones de plaguicidas observadas en las aguas de escorrentía de una superficie agrícola son mayores que en las aguas subterráneas (Brown y col., 1995).

I.3.5.2.3. Lixiviación

El agua que no escurre y se infiltra en el suelo es la que se conoce como agua de lixiviación. Esta es considerada como la vía principal y más rápida de desplazamiento de plaguicidas en la zona no saturada del suelo y la responsable de la contaminación de aguas subterráneas (Southwick y col., 1995). La velocidad y magnitud de este proceso está influenciada no solo por las propiedades del plaguicida, sino también por las propias del suelo, procesos hidrogeológicos del mismo y prácticas de manejo (Arias-Estevez y col., 2008). Un rápido movimiento de los plaguicidas a capas profundas viene explicado por la presencia de flujos preferenciales (Elliott y col., 2000; Sánchez y col., 2003c), cotransporte con

partículas coloidales del suelo (Hesketh y col., 2001) y una combinación de ambos procesos (Williams y col., 2000).

Especialmente en plaguicidas hidrofóbicos, los valores de K_{oc} sirven para cuantificar su potencial para ser lixiviados (Tabla 1.3). Aquellos plaguicidas con valores más bajos de K_{oc} son más susceptibles de ser lixiviados (Wauchope y col., 2002b), aunque plaguicidas con valores superiores a 1000 han sido encontrados en aguas subterráneas (Elliott y col., 2000). Otro indicador del potencial contaminante de un compuesto es el índice GUS (Groundwater Ubiquity Score) que se basa en estimaciones empíricas y ha sido validado con datos reales. Este indicador es calculado por medio de valores de movilidad y persistencia de los compuestos (Fushiwaki y Urano, 2001). De esta manera clasifica los plaguicidas como lixiviables ($GUS > 2.8$), no lixiviables (< 1.8) y plaguicidas de transición ($2.8 > GUS > 1.8$).

$$GUS = (\log DT_{50}) \times (4 - \log K_{oc}) \quad \text{Eq. 1.4.}$$

Finalmente, estos procesos de transferencia de plaguicidas en el medio son influenciados, por un lado, por aquellas propiedades intrínsecas del plaguicida y, por otro, por las propiedades del suelo (Linn y col., 1993). Además, hay que considerar otra serie de factores antrópicos y no antrópicos que indirectamente también afectan a su dinámica.

I.3.6. Factores que regulan la dinámica de plaguicidas en el suelo

I.3.6.1. Características del suelo que regulan la dinámica de los plaguicidas

El suelo se define como un ente natural organizado e independiente, con unos constituyentes, propiedades y génesis que son el resultado de la actuación de una serie de factores activos, clima, organismos, relieve y tiempo, sobre un material pasivo, la roca madre (edafologia.ugr.es). Es un sistema dinámico y abierto constituido por una fase sólida, líquida y gaseosa. La fase sólida está formada por componentes inorgánicos (arcillas, limos y arenas) y componentes orgánicos, cuya interacción durante el proceso de formación del suelo dan lugar a lo que se denomina estructura del suelo, donde encontramos porosidad de mayor o menor tamaño, siendo en estos poros donde las otras dos fases se localizan. Los plaguicidas se pueden localizar en cualquiera de estas tres fases y, según la afinidad que tengan por una u otra fase, éstos serán más o menos móviles o más o menos biodisponibles.

I.3.6.1.1. Textura del suelo

El suelo está constituido por partículas de diferente tamaño, forma y composición: Gravas ($\varnothing > 2000 \mu\text{m}$); arenas ($2000 - \varnothing - 50 \mu\text{m}$); limos ($50 - \varnothing - 2 \mu\text{m}$) y arcillas ($\varnothing < 2 \mu\text{m}$), clasificación según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (Figura 1.20). En el término textura se prescinde de los contenidos en gravas y es la fracción tierra fina, $\varnothing < 2000 \mu\text{m}$, la que se estudia en el laboratorio. Así, la distribución e interacción de estas partículas determinarán en gran medida la gran mayoría de las propiedades físicas y químicas: estructura, porosidad, aireación, permeabilidad, hidromorfía, retención de agua, lavado, capacidad de cambio, reserva de nutrientes... Propiedades que influyen en la dinámica de los contaminantes orgánicos. Así por ejemplo, los suelos arenosos son inertes desde el punto de vista químico, carecen de propiedades coloidales y de reservas de nutrientes, presentan mala estructuración, buena aireación, muy alta permeabilidad y nula retención de agua, por lo que suelen ser suelos que facilitan mucho el movimiento de plaguicidas a capas freáticas. Por el contrario los suelos arcillosos son muy activos desde el punto de vista químico, adsorben iones y moléculas, muy ricos en nutrientes, retienen mucha agua, bien estructurados, pero son impermeables y asfixiantes. Los suelos limosos tienen nula estructuración, sin propiedades coloidales, son impermeables y con mala aireación.

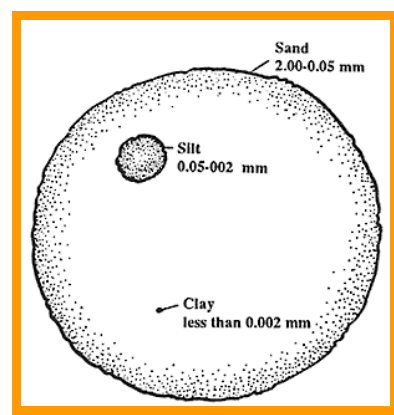


Figura 1.20. Tamaños de partícula

I.3.6.1.2. Coloides del suelo

El término coloides se aplica en general para aquellas partículas de tamaño $< 2 \mu\text{m}$. Dentro de estos coloides encontramos las arcillas, MO y los óxidos e hidróxidos de hierro.

● Minerales de arcilla

Las arcillas están constituidas por capas de tetraedros de sílice y octaedros de aluminio que se alternan en el espacio. El silicio en la capa tetraédrica está coordinado con cuatro átomos de oxígeno y el aluminio de la capa octaédrica con 6 grupos hidroxilo o átomos de oxígeno. Entre estas están la caolinita, varias micas, illitas, cloritas, vermiculitas, montmorillonitas y alofana. Son determinantes, junto con la materia orgánica en la adsorción de plaguicidas. Los factores que influyen en la capacidad de adsorción de los plaguicidas por los minerales de la arcilla son los siguientes:

- Naturaleza del silicato. Fundamentalmente su estructura y fuerza del enlace interlaminar. Así, cuando la fuerza es débil, las láminas permanecen débilmente unidas, lo que permite la entrada de moléculas orgánicas en el espacio interlaminar cuando la energía de interacción con la molécula de plaguicida supera dicha energía y permite asimismo la separación de las laminas, como ocurre en las vermiculitas y montmorillonitas.

- Densidad de carga laminar. Las arcillas en superficie presentan carga negativa neta que es atribuible al grado de sustituciones isomórficas en las capas octaédricas y tetraédricas y a la existencia de bordes rotos de dichas láminas que presentan grupos hidroxilo y cargas sin compensar en su superficie. Estas cargas van a estar influenciadas por el pH del medio, el cual contribuye a la disociación de los grupos hidroxilo de la superficie.

- Naturaleza de los cationes de cambio. La existencia de una carga residual negativa en las arcillas es compensada por una carga positiva equivalente de cationes, como H^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} los cuales son adsorbidos en sus superficies o se localizan en la solución circundante. Estos cationes son susceptibles de ser desplazados e intercambiados por otras sustancias que presenten cargas equivalentes. Este reemplazamiento se conoce como intercambio catiónico y ha sido descrito como uno de los mecanismos que rigen la adsorción de los plaguicidas en arcillas (Dios y col., 1990, 1992).

En general, las arcillas son particularmente importantes en la adsorción de solutos muy polares, sobretodo en suelos con poca materia orgánica (Wauchope y col., 2002a). También son capaces de adsorber compuestos no iónicos, los cuales suelen adsorberse por previa protonación de la molécula de plaguicida siempre que el pH del medio lo permita o bien se producen enlaces mediante interacciones electrostáticas relativamente débiles como las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y puentes a través de cationes y/o agua (Barriuso y col., 1994). Las arcillas, junto con la materia orgánica juegan un importante papel en la adsorción de plaguicidas (Dios Cancela y col., 1992; Romero y col., 1997). Sin embargo la adsorción de un compuesto en arcillas u otros coloides del suelo, no implica necesariamente una inmovilización del plaguicida puesto que estos coloides pueden ser arrastrados por el agua, favoreciendo el desplazamiento de los contaminantes a aguas subterráneas (Worrall y col., 1999) o en aguas superficiales a través de procesos de erosión (Cohen y col., 1995).

Materia orgánica

La matriz orgánica del suelo posee una actividad fisicoquímica variable y una alta reactividad, por ello actúa decisivamente en los fenómenos de adsorción de

plaguicidas. El contenido en MO como sorbente se puede correlacionar tanto con la adsorción de plaguicidas polares como con la adsorción de plaguicidas iónicos (Hamaker y Thompson J.M., 1972). Generalmente, la adsorción es el modo más importante de interacción entre MO y los plaguicidas. Para la mayoría de plaguicidas, principalmente los hidrófobos, el contenido en MO de un suelo y la naturaleza de esta es el factor más determinante en la adsorción de plaguicidas (Ahmad y col., 2001; Farenhorst, 2006). Como ya se observó en el apartado I.1.2.1, las sustancias húmicas son la fracción más importante de la MO del suelo, por lo que son la fracción más activa de la MO en suelos agrícolas y muy determinantes en la dinámica de plaguicidas. Su capacidad de formar complejos organominerales desempeña un papel importante tanto en el estado de agregación de las arcillas del suelo, como en la persistencia y degradación de plaguicidas en suelo (Porta y col., 2003). Las sustancias húmicas pueden interactuar con los plaguicidas modificando su adsorción, solubilización, catálisis en hidrólisis y dealquilación y su fotosensibilización (Senesi y Chen, 1989).

Por otro lado, en los últimos años, también la MOD ha sido objeto de gran interés porque se ha observado su capacidad de interactuar con contaminantes orgánicos y, por tanto, afecta a su dinámica en suelos y sistemas acuáticos (Gerecke y col., 2001; Li y col., 2005). La MOD es muy similar, estructuralmente y funcionalmente a los surfactantes, por lo que tiene la habilidad de disminuir la tensión superficial e incrementar la solubilidad de algunos compuestos orgánicos hidrofóbicos (Cho y col., 2002; Kile y Chiou, 1989; Wauchope, 1978). De hecho, numerosos estudios han observado este aumento del movimiento de plaguicidas debido a su interacción con la MOD (Baskaran y col., 1996; Flores-Céspedes y col., 2006; Lee y Farmer, 1989; Li y col., 2005). Así, la presencia de micelas incrementa varias veces la solubilidad aparente de compuestos orgánicos hidrofóbicos en agua (Guetzloff y Rice, 1996), lo que lleva a una mayor movilidad y menor adsorción de estos compuestos. Por ejemplo, (Cox y col., 2000) informaron sobre la formación de complejos estables entre la MOD y el 2,4-D incrementando su movilidad e, incluso, protegiendo la molécula de su biodegradación. Otros estudios hablan de la interacción entre la MOD y la superficie del suelo donde se pueden producir procesos de competición entre esta MOD y el plaguicida reduciendo así su adsorción (Celis y col., 1998; Flores-Céspedes y col., 2002). Sin embargo la MOD no siempre disminuye la adsorción e incrementa la lixiviación de plaguicidas, en otros casos esta MOD es adsorbida por el suelo creando nuevos lugares de adsorción de plaguicidas, incrementando su adsorción o puede darse el caso donde la MOD que ya ha interactuado con estos compuestos orgánicos hidrofóbicos en solución sea posteriormente adsorbida por el suelo (Celis y col., 1998; Flores-Céspedes y col., 2002; Totsche y col., 1997). La medida y naturaleza en la que la MOD interactuará con contaminantes orgánicos dependerá de factores tales como la naturaleza del compuesto orgánico, su peso molecular, polaridad y, además, de la polaridad y

configuración molecular de la MOD ((Chiou y col., 1986) y del pH, presencia de óxidos de Fe y Al y arcillas (Dalva y Moore, 1991).

I.3.6.1.3. Estructura del suelo

La estructura influye indirectamente en el movimiento de plaguicidas en suelo puesto que es determinante en la dinámica del agua. Así, en suelos con zonas de flujo preferencial, van a circular más rápidamente los plaguicidas disueltos (Kordel y Klein, 2006; Sánchez y col., 2003c), mientras que, un suelo con mala estructura va a impedir la infiltración y va a favorecer el arrastre superficial de los plaguicidas (Reichenberger y col., 2007).

I.3.6.1.4. pH

En general, los cambios en el pH del suelo tienen poco efecto en la adsorción de moléculas no iónicas, aunque muchos de los nuevos plaguicidas tiene carácter ácido y básico y, por tanto, están parcialmente ionizados a los pH normales del suelo (Kan y Tomson, 1990; Nicholls y Evans, 1991a; Nicholls y Evans, 1991b). Como se vió en la tabla I.4, los plaguicidas con constantes de equilibrio iónico cercanas al rango de pH del suelo tendrán una K_d aparente muy sensible al pH del suelo en que se encuentre debido a que la adsorción del plaguicida será una combinación de las especies ionizadas y no ionizadas, y la relación de ambas especies cambiará aproximadamente unas 10 veces por cada unidad de cambio de pH (Fontaine y col., 1991). La adsorción de ciertos herbicidas aumenta al bajar el pH. El pH también afecta a la carga superficial iónica, por lo que puede amplificar el efecto de intercambio catiónico (Werkheiser y Anderson, 1996). Por otro lado, el pH del suelo también puede influir en la solubilidad de la MO y puede disociar los grupos más ácidos, ésta disociación de la MO resulta en una MO más hidrofílica y reduce la capacidad de adsorción de compuestos más hidrofóbicos como es el caso del diuron (Sheng y col., 2005).

I.3.6.1.5. Capacidad de intercambio catiónico

La CIC es una propiedad del suelo fundamental para la adsorción de aquellos plaguicidas que poseen carga o tienen un marcado carácter polar. Además de la adsorción directa, la presencia de bases de cambio puede servir también como puentes de unión favoreciendo la adsorción de plaguicidas. Por otro lado, los compuestos orgánicos deben competir con las bases de cambio para llegar a los lugares de cambio y ser adsorbidas. El tipo de cationes de cambio influyen en el estado de hidratación de las arcillas. Cuando en el suelo se encuentran cationes de cambio con una esfera de hidratación pequeña (como el potasio), dejan más lugares donde los compuestos orgánicos pueden ser adsorbidos y, además, son más

susceptibles de desplazar el agua y formar interacciones entre los cationes y el xenobiótico (Li y col., 2006).

I.3.6.2. Propiedades del plaguicida que rigen su dinámica en el suelo

Los plaguicidas tienen una serie de características físico-químicas que van a definir su potencial para ser adsorbido, degradado y lavado.

I.3.6.2.1. Estructura química

Las características del plaguicida que están asociadas generalmente con la mayor adsorción son el peso molecular, tendencia a ionizarse y presencia de grupos químicos que incrementen la afinidad de la molécula por la superficie del suelo. Las moléculas de menor peso molecular son las que más fácilmente van a ser adsorbidas y las que tendrán más capacidad de internarse en los microporos de la estructura del suelo y la MO. Por otro lado, es importante conocer los grupos funcionales que forman el compuesto: grupos carboxilo (-COOH), grupos carbonilo (=C=O); grupos hidroxilo (-OH) y grupos amino (NH₂). Estos grupos funcionales van a determinar la capacidad y tipo de enlaces que el compuesto puede formar. Por ejemplo, la presencia de grupos carbonilo permite la interacción a través de fuerzas de Van der Waals; la presencia de iones, como en los plaguicidas iónicos, permite interacciones de intercambio iónico...(Spark y Swift, 2002).

I.3.6.2.2. Volatilidad

La volatilidad en el suelo mide la tendencia de escape de una molécula en el suelo, la cual depende de la constante de partición en el medio (K_d) y de su presión de vapor (Hornsby y col., 1996). Una manera sencilla para clasificar los plaguicidas en función de la volatilidad de un plaguicida es a través de la presión de vapor. Cuando el plaguicida presenta una presión de vapor $<1,0 \times 10^{-8}$ su afinidad por el suelo es alta y su potencial para volatilizarse es bajo, mientras que cuando es $>1,0 \times 10^{-3}$ ocurre lo contrario. La volatilidad de ciertos herbicidas e insecticidas ha hecho que sea posible encontrarlos a muy largas distancias de donde fueron aplicados, se han localizado en los círculos polares, y, además, han provocado daños a otros cultivos (Pimentel, 1995).

I.3.6.2.3. Solubilidad

Generalmente se habla de solubilidad en agua y determina la máxima concentración de un plaguicida que se puede encontrar en un volumen de agua. Es un factor clave puesto que está relacionada con la adsorción y persistencia. Cuando esta es baja ($<30 \text{ mg L}^{-1}$), el plaguicida es más fácilmente retenido, mientras que si es

elevada ($>30 \text{ mg L}^{-1}$), su riesgo potencial de ser lixiviados es alto, a menos que su velocidad de degradación o su coeficiente de partición sean elevados. Sin embargo, en aguas naturales, la coexistencia de otras sustancias en solución y las interacciones con el soluto pueden modificar la solubilidad de un soluto modificando así su comportamiento (Chiou y col., 1986). Por ejemplo, la solubilidad de los compuestos orgánicos puede venir afectada por la MO disuelta (MOD), como se ha observado en algunos estudios (Li y col., 2005).

I.3.6.2.4. Coeficiente de partición

En el caso de plaguicidas se emplea el coeficiente de reparto octanol:agua (K_{oa} o K_{ow}) que mide la hidrofobicidad de un compuesto y permite estimar la posible distribución del contaminante entre el suelo (materia orgánica) y el agua. Existe un fuerte correlación entre un K_{ow} elevado y una fuerte adsorción (Rodríguez-Cruz y col., 2007), por lo que si el coeficiente de partición es alto el plaguicida puede fijarse con firmeza a la materia orgánica, biota y sedimento y puede bioacumularse. En cambio, si es bajo, el plaguicida puede moverse en aguas superficiales, acuíferos y aire, y puede no fijarse a la materia orgánica.

I.3.6.2.5. Estado iónico (pK_a y pK_b)

Éste parámetro es significativo para los plaguicidas que se comportan como ácidos y como bases débiles, su pK_a y pK_b determinan el rango de pH en que se comportan como especies neutras o ionizadas. Generalmente los plaguicidas aniónicos son menos adsorbidos que los catiónicos y más susceptibles de ser lixiviados (Koskinen y col., 1996), porque en la materia orgánica y arcilla dominan las cargas negativas.

Por ejemplo, los herbicidas sulfoniluréicos son de carácter aniónico (pK_a entre 3 y 5), por lo que, de acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbach (Ecuación I.4) a valores de pH más elevados se espera que estos herbicidas estén más disociados en su forma aniónica por lo que su porcentaje de adsorción es inferior (Romero y col., 2006)

$$pKa = pH - \log \frac{(A^-)}{(HA)} \quad \text{Ec. I.5}$$

La tabla I.5 resume las formas en las que se pueden encontrar los plaguicidas para un rango de pK_a o pK_b y un rango de pH normal del suelo y sus posibles consecuencias ambientales.

Tabla I.5. Consecuencias ambientales de las propiedades ácidas o básicas de los plaguicidas (Hornsby y col., 1996).

Valores de pK_a o pK_b	Especie dominante del plaguicida a pH normales del suelo (5-8)	Consecuencias Ambientales
$pK_a < 3$	X^- (Anión)	❖ Tiene una movilidad alta en suelos, a no ser que forme complejos. Menos móvil en condiciones muy ácidas. No volátil
$pK_a > 10$	XH (Neutro)	❖ Se comporta como compuesto no iónico excepto en condiciones extremadamente alcalinas. Menos móvil que el anión y probablemente menos soluble que el anión. Volatilización posible
pK_a 3-10	Ratio X^-/XH	❖ Si el valor del pH es semejante al del pK_a , la movilidad, solubilidad y volatibilidad será muy sensible a las variaciones del pH
$pK_b < 4$	XH^+ o X^+ (catión)	❖ Bastante inmóvil, adsorción en la superficie de arcillas. Muy soluble; una adsorción extrema produce una vida media larga, pero pequeña actividad biológica. No volátil
pK_b 4-11	Ratio XH^+/X o $X^+/X(OH)$	❖ Si el valor de pH está cerca del pK_b , la movilidad, solubilidad y volatibilidad serán sensibles al pH; una adsorción extrema producirá un aparente efecto de acidez superficial en el suelo
$pK_b > 11$	X o X(OH) (Neutro)	❖ Se comporta como no iónico excepto en condiciones de extrema acidez. Mucho más móvil y menos soluble que los cationes. Posible volatilización

I.3.6.2.6. Persistencia

Se define como el tiempo que un plaguicida permanece en el medio, manteniendo su actividad biológica. La forma más usada de cuantificar la persistencia de un plaguicida es el tiempo de vida media ($T_{1/2}$), es decir, el tiempo necesario que transcurra para que la concentración de un compuesto se reduzca a la mitad y viene determinado por la velocidad a la que sufra procesos de degradación lumínica, química y biológica.

El tiempo de vida media se calcula a través de la ecuación I.5, donde k es la constante de degradación (similar a la de los radionúclidos) cuando se considera un decaimiento exponencial en la concentración del plaguicida (Hornsby y col., 1996).

$$T_{1/2} = \frac{\ln_e 2}{k} = \frac{0.69}{k} \quad \text{Ec. 1.6}$$

Esta expresión es independiente de la concentración inicial y del tiempo inicial. Su principal inconveniente es que es una expresión muy simplista puesto que está demostrado que el tiempo de vida media viene influenciado las condiciones climáticas, temperatura, humedad, características del suelo, etc. Un plaguicida introducido en el medio ambiente puede sufrir numerosos mecanismos de disipación que modificarán su velocidad de degradación. Por lo tanto, el tiempo de vida media es uno de los valores más imprecisos de asignar a un determinado plaguicida (Hornsby y col., 1996). La tabla 1.6 define los diferentes grados de persistencia de un plaguicida.

Tabla 1.6. Clasificación de la persistencia de plaguicidas

Grado de Persistencia	T _{1/2} (Días)
No persistente	<15
Baja	15-30
media	30-60
Alta	60-120
Extrema	>120

Plaguicidas muy persistentes y con alta capacidad de ser adsorbidos tienen un alto potencial de contaminar aguas superficiales, mientras que aquellos adsorbidos débilmente pero con alta persistencia son más susceptibles de contaminar aguas subterráneas (Claver y col., 2006). Mientras aquellos con baja adsorción y persistencia sólo son susceptibles de contaminar tanto aguas superficiales como subterráneas sólo si son precedidos por una fuerte lluvia o irrigación justo después de su aplicación. Por tanto, plaguicidas con valores intermedios de persistencia y adsorción son los considerados más seguros porque no son fáciles de lavar y son degradados rápidamente.

1.3.6.3. Otros factores

Además de los factores mencionados más arriba, son determinantes otros factores que influyen en mayor medida en la dinámica del agua y, como consecuencia, en la dinámica de los plaguicidas. Estos factores son:

- hidrogeología del suelo
- topografía

- Condiciones ambientales: temperatura, humedad, régimen de lluvias, viento,...
- cubierta vegetal
- Geología
- Factores antropogénicos: modo de aplicación, irrigación, época, dosis, frecuencia...
- Manejo del suelo

Por ejemplo, un incremento de la temperatura y viento aumenta la volatilización de los plaguicidas, así como la metabolización de plaguicidas y, como el proceso de adsorción es un proceso exotérmico, cuanto mayor sea la temperatura menor será la adsorción (Fernández-Bayo y col., 2007a). O la presencia de vegetales, sobre todo tubérculos, provoca una disminución del contenido en plaguicidas de un suelo, al asimilar estos parte de éstos productos, además, modifican el flujo de agua en el suelo, disminuyen los procesos de erosión, difusión y escorrentía (Vincent y col., 2007). Por otro lado, la presencia de vegetación puede disminuir la fotólisis y la volatilización de estos compuestos (La disminución de la humedad de un suelo incrementa la capacidad de adsorción de plaguicidas).

Finalmente, puesto que la acción del hombre es capaz de modificar muchos de los factores y propiedades mencionados anteriormente, su intervención va a ser determinante a la hora de prevenir o potenciar la contaminación por plaguicidas. Por eso, el manejo que se le de al suelo y el uso que se haga de los plaguicidas también va a tener su respectivo impacto en su dinámica ambiental. El modo de aplicación (dosis, forma, frecuencia, irrigación...) de los plaguicidas influye mucho en su percolación. Así, una frecuencia de aplicación elevada unida a una fuerte irrigación puede aumentar considerablemente la lixiviación de plaguicidas (Troiano y col., 1993; White y col., 1986). Por otro lado, existen manejos agrarios que pretenden incrementar la capacidad de adsorción de un suelo, como es la adición de enmiendas. En el presente la adición de enmiendas orgánicas es una práctica muy común con la intención de reducir el riesgo de contaminación de aguas por escorrentía y/o lavado (Albarrán y col., 2002; Morillo y col., 2002).



CAPÍTULO 2
MATERIALES Y MÉTODOS

I. Materiales y Métodos

II.1. Suelos

Se utilizaron 10 suelos agrarios procedentes de diferentes zonas de España. Todos tienen diferentes propiedades pero se caracterizan, fundamentalmente, por poseer un bajo contenido en materia orgánica. De los 10 suelos, 9 pertenecen a regiones de clima mediterráneo y uno está localizado en el noroeste de España, donde predomina clima atlántico. Las muestras de suelo fueron obtenidas de la capa arable (0-20 cm), lugar donde se van a dar la mayoría de los procesos que regulan la dinámica de plaguicidas. La localización de los suelos y su clasificación se expone en la Figura II.1.



Nomenclatura	Provincia	Localidad	Clasificación
Qa	Murcia	Cieza	Arenosol Albico
I	Murcia	Santomera	Litosol
Xk	Murcia	Torrepacheco	Xerosol Cálxico
Bc	Jaen	Guarroman	Cambisol Crómico
Vc	Jaen	Jabalquinto	Vertisol Crómico
Ag	Jaen	Bailen	Acrisol Gleico
Jc	Granada	Fuentevaqueros	Fluvisol Calcárico
Bk	Granada	Iznalloz	Cambisol Cálxico
Re	Granada	Lujar	Regosol Eutrico
Bh	Pontevedra	Pontevedra	Cambisol Húmico

Figura II.1. Localización geográfica y clasificación de los suelos seleccionados

De esos 10 suelos, se seleccionaron dos para estudiar en profundidad el efecto de la aplicación de los vermicomposts agroindustriales sobre los procesos de adsorción y degradación de los plaguicidas ensayados. Estos dos suelos fueron un suelo franco arenoso (Bc) y un suelo franco-arcillo-limoso (VC), ambos localizados en la provincia de Jaen, que se diferencia por poseer propiedades texturales, contenido en carbono orgánico y pH apreciablemente diferentes.

II.1.1. Suelo BC. Cambisol crómico



Figura II.2. Suelo Bc. Cambisol crómico

La descripción del perfil del suelo (Delgado, 1983) se expone a continuación:

Ficha técnica del suelo Bc.	
Ubicación	Carretera Guarroman-Linares, paraje Cerro Pelao
Coordenadas	UTM 4410-42230
Altitud	380 m
Posición fisiográfica:	Pendiente convexa
Forma del terreno circundante	De fuertemente ondulado a colinado
Microtopografía	no apreciable
Pendiente	15%
Orientación	Este
Uso del suelo	Cultivo de cereales en el punto de muestreo, en la mayor parte de la zona encinar adehesado para ganado bovino
Material de partida	Granito

Drenaje	Clase 3, moderadamente bien drenado debido a capas arcillosas con baja permeabilidad
Condiciones de humedad	Húmedo a partir de los 17 primeros cm
Pedregrosidad	Clase 0
Afloramientos rocosos	Clase 0
Erosión	Por su falta de estructura en la superficie el riesgo de erosión hídrica es muy elevado.
Salinidad en superficie	Clase 0. No existe

Descripción de los horizontes:

● Ap (0-15 cm). Color 10YR6/2 y en húmedo 10YR 5/2. Textura franco arcillo-limosa. Estructura en bloques angulares gruesos, fuerte, adherente, plástico, extremadamente firme y duro. Superficies de presión, frecuentes poros intersticiales, *exped* (grietas). Fuertemente calcáreo. Límite neto y plano con el horizonte subyacente.

● Au1 (16-38 cm). Color 10YR 4/2 en seco y en húmedo. Textura arcillo-limosa. Estructura con tendencia prismática que da lugar a bloques angulares muy gruesos, fuerte, adherente, plástico firme y duro. Superficies de presión en caras de agregados. Porosidad escasa con pocos poros intersticiales, verticales y *exped*. Fuertemente calcáreo. Límite difuso y plano con el horizonte subyacente.

● Au2 (39-80 cm). Color 10YR 4/2 en seco y húmedo. Textura arcillo-limosa. Estructura en bloques angulares gruesos, fuerte, adherente, plástico, muy firme y duro. Superficies de presión continuas sobre caras de agregados. Porosidad escasa con pocos poros intersticiales continuos, verticales y oblicuos, principalmente *exped* y muy pocos tubulares y muy finos. Fuertemente calcáreo. Límite neto y plano con el horizonte subyacente.

● AC (81-120 cm). Color 10YR 4/2 en seco y húmedo, con manchas blancas. Textura franco-arcillo-limosa. Estructura en bloques angulares, medianos, fuertes, adherentes, plástico, muy firme y duro. Superficies de presión en caras de agregados. Porosidad escasa con pocos poros intersticiales, continuos verticales y algunos oblicuos, *exped*. Muy pocos poros tubulares muy finos, frecuentes ($\approx 20\%$), nódulos grandes de 1 a 3 cm, blandos, esféricos, de color blanco, de carbonato cálcico. Fuertemente calcáreo. Límite neto y plano con el horizonte subyacente.

● C1 (121-158 cm). Color 10YR 4/2 en seco y 2,5 YR 7.5/4 en húmedo ($\approx 30\%$). Textura arcillo limosa. Estructura bloques angulares de finos a medianos. Fuerte, adherente, plástico, muy firme y duro. Superficies de presión en caras de agregados.

Porosidad muy escasa con pocos poros intersticiales continuos, verticales y oblicuos, exped. Nódulos de carbonato en un 15%. Fuertemente calcáreo. Límite neto y plano con el horizonte subyacente.

● C2 (>159 cm). Color 2,5 YR 6/6 en seco y húmedo. Textura arcillo-limosa. Estructura en bloques angulares de finos a medianos, fuerte, adherente, plástico, muy firme y duro. Superficies de presión sobre caras de agragados. Porosidad muy escasa con pocos poros intersticiales verticales, exped y fuertemente calcáreo.

II.1.2. Suelo Vc. Vertisol crómico



Figura II.3. Suelo Vc. Vertisol crómico

La descripción del perfil del suelo (Delgado, 1983) se expone a continuación:

Ficha técnica del suelo Vc	
Ubicación	Carretera A-302, a 3 km de Jabalquinto
Coordenadas	UTM son 4367-42113
Altitud	320 m
Posición fisiográfica	Pendiente cóncava en una vaguada
Forma del terreno circundante	Fuertemente ondulado
Microtopografía	Microrelieve “gilgai” que se aprecia en las parcelas limítrofes y que se enmascara por el arado
Pendiente	Clase 3. Inclinado 10%

Orientación	NW
Uso del suelo	Olivar en la zona de muestreo, en parcelas limítrofes cereal, girasol, garbanzo, etc.
Material de partida	margas miocenas
Drenaje	Clase 2. Imperfectamente drenado por tener una textura muy arcillosa
Condiciones de humedad	Húmedo desde los 38 cm hasta los 158 cm
Pedregosidad	Clase 0. Ninguna
Afloramientos rocosos	Clase 0. Ninguno
Erosión	Hídrica laminar y en surcos, ligera
Salinidad en superficie	Clase 0. No existe

Descripción de los horizontes:

- **Ap1 (0-17 cm).** Color 10YR 6/4 en seco y 10YR 4/4 en húmedo. Textura franco arenosa con grava. Estructura en bloques subangulares finos, débil, no adherente, no plástico, muy friable y blando. No cútanos ni superficies de presión. Porosidad abundante, frecuentes poros intersticiales, exped. Frecuentes gravas ($\approx 17\%$) de tamaño $< 0,5$ mm, forma angulosa, esférica, principalmente de cuarzo, aunque también ortosa. No calcáreo. Límite plano y neto con el horizonte subyacente.
- **Ap2 (18-32 cm).** Color 10YR 5,5/4 en seco y 10YR 4/4 en húmedo. Textura franco-arenosa con grava. Estructura en bloques angulares finos a medianos, moderada, adherente, no plástico, muy friable y blando. No cútanos. Frecuentes poros intersticiales continuos, caóticos, exped y muy pocos tubulares y vesiculares. Pocas gravas ($\approx 15\%$), semejantes al horizonte anterior. Límite neto, ligeramente ondulado con el horizonte subyacente.
- **Bw (32-50 cm).** Color 7,5YR 5/6 en seco y 7,5YR 4/6 en húmedo, manchas color rojizo. Textura franco-arcillo-arenosa con poca grava ($\approx 10\%$). Estructura en bloques angulares medianos, fuerte, ligeramente adherente, plástico, friable y duro. No cútanos ni superficies de presión, porosidad escasa, con pocos poros intersticiales. No calcáreo. Límite difuso y plano con el horizonte subyacente.
- **BC (33-68 cm).** Color 7,5YR 5/6 en seco y 7,5YR 4/6 en húmedo. Textura franco-arenosa con poca grava ($\approx 10\%$). Estructura en bloques angulares gruesos, fuerte, ligeramente plástico, friable y muy duro. No cútanos, un superficies de presión. Porosidad similar al horizonte anterior. No calcáreo. Límite difuso y plano con el horizonte subyacente.

● C (>69 cm). Con tres subhorizontes. En general, color 7,5YR 6,5/6 en seco y 7,5YR 5/6 en húmedo. Textura franco-arenosa con gravas (\approx 15-17%). Estructura en bloques angulares gruesos a pequeños, de moderada a fuerte, ligeramente adherente, ligeramente plástico, friable y duro. No cútanos ni superficies de presión. Porosidad de las mismas características que el horizonte anterior, con algunos trozos de granito a mayor profundidad. No calcáreo.

II.1.3. Métodos analíticos de caracterización de suelos

II.1.3.1. Preparación de muestras

Los suelos fueron recogidos en campo hasta una profundidad de 15 cm. Una vez tomadas las muestras, éstas fueron transportadas al laboratorio y extendidas para ser secadas al aire en el interior de un invernadero (Figura II.4). Después fueron disgregados con un rodillo y parte de los suelos fueron tamizados a través de un tamíz de luz de malla de 2 mm.



Figura II.4. Secado de muestras

En cada uno de los suelos seleccionados se realizaron la mayoría de los siguientes análisis:

II.1.3.2. Textura.

Se pesan 100 g de la fracción <2mm de muestra y se tratan con peróxido de hidrógeno y con polifosfato sódico. Basándose en la ley de Stokes, se dispersa el suelo en 1000 mL de agua destilada en una probeta y al cabo de unos tiempos tabulados se recogen 20 mL a una profundidad determinada. De esta manera se extraen, en primer lugar, los limos gruesos+limos finos+arcillas, en segundo lugar los limos finos+arcillas y en tercer lugar las arcillas. Se secan las muestras y por peso se obtienen los porcentajes en una balanza de precisión (Soil Conservation Service, 1972).

II.1.3.3. Carbono Orgánico Total (COT)

Se pesan entre 0,5 y 1 g de suelo molido en función de la cantidad de materia orgánica, se le añade 10 mL de dicromato potásico 1 N, 20 mL de ácido sulfúrico, tras 30 minutos de reposo se añaden 200 ml de agua y 10 ml de Ácido fosfórico. Luego se valora el exceso de dicromato no reducido mediante una solución de sal de Mohr 0,5N (sulfato ferroso-amónico) usando como indicador difenilamina (M.A.P.A., 1986).

II.1.3.4. Carbono Extraíble Total (CET) y Ácidos Húmicos (AH).

Para extraer los ácidos húmicos y fúlvicos se pesan 10 g de muestra y se añaden 30 mL de pirofosfato 0,1 M y pH 7,1, posteriormente se mantiene en baño de agua a 37°C durante 24 h y se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 15 min. El sobrenadante se filtra a través de una membrana bacteriológica Millipore de 0.45 μm y se valora el CET. El extracto anterior se acidifica con ácido sulfúrico y se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 15 minutos y se retira el sobrenadante con los ácidos fúlvicos. El precipitado se redisuelve con NaOH 0,5N. La determinación del CET y AH a 0,098 g de dicromato potásico puro, se añade 1 mL del extracto anterior y 4 ml de ácido sulfúrico. Tras disolver, calentar y reposar la solución se lleva a un volumen final de 10 ml y se mide en un espectrofotómetro Shimadzu UV Nod. 680 a una longitud de onda de 590 nm (M.A.P.A., 1986).

II.1.3.5. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

Se pesan 5 g de suelo, luego este se satura en sodio mediante lavados sucesivos con acetato sódico 1 N (pH 8,2) y centrifugación durante 10 minutos a 2000 r.p.m. De la misma manera se retira el exceso de sodio con lavados del suelo con etanol 96% hasta alcanzar una conductividad eléctrica menor a 20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en el sobrenadante. Finalmente, se retira el sodio adsorbido con tres lavados de acetato amónico 1N (pH 7) que se depositan en un matraz de 100 ml. El sodio se valora mediante fotometría de llama (M.A.P.A., 1986).

II.1.3.6. Capacidad de retención de agua del suelo.

Las muestras de suelo saturadas en placas porosas durante 24 horas se introducen en dos cámaras de presión. Una de presión de 33 kPa (capacidad de campo del suelo) y otra de 1.500 kPa (punto de marchitamiento del suelo). Una vez alcanzado el equilibrio, las muestras se introducen en pesas sustancias y se pesan y luego se dejan secar las muestras durante 24 horas en una estufa a 100°C y se vuelven a pesar, previamente se habían pesado cada uno de los pesa sustancias (M.A.P.A., 1986).

II.1.3.7. pH

Se pesan 10 g de suelo y se añaden 25 ml de agua destilada. Agitar durante 10 minutos y dejar reposar 30 minutos. El pH se determinó en un pH-metro CRISON pHmetro 2001 (M.A.P.A., 1986).

II.1.3.8. Area superficial

El area superficial fue determinada por la adsorción del vapor de agua (Keeling, 1961).

II.1.4. Características físico-químicas de los suelos

La tabla II.1 resume las principales propiedades físico-químicas y químicas de las capas arables de los diferentes suelos ensayados:

Tabla II.1. Características de los suelos

Suelo	Arena g kg ⁻¹	Limo g kg ⁻¹	Arcilla g kg ⁻¹	Textura	pH	CIC <i>cmol_c kg⁻¹</i>	COT g kg ⁻¹	CET	AH	Area superficial <i>m²g⁻¹</i>	P seco %
Qa	840	33	127	Arenosa franca	8.2	4.5	5.7	1.1	0.9	13.42	98.6
I	168	449	383	Franco-arcillo-limosa	7.8	-	13.8	-	-	-	-
Xk	100	350	550	Arcillosa	7.5	12.8	11.5	-	-	86.6	92.7
Bc	699	170	131	Franco-arenosa	6.0	12.9	3.6	2.2	1.1	49.5	98.1
Vc	140	506	354	Franco-arcillo-limosa	8.2	28.8	9.3	5.5	3.8	127	96.3
Ag	644	139	217	Franco-arcillo-arenosa	5.4	13.8	2.4	1.3	1	57.9	98.2
Jc	291	540	169	Franco-limosa	8.2	12.3	8.9	3.4	2	37.9	98.3
Bk	108	477	415	Arcillo-limosa	7.6	22.7	18.7	-	-	-	-
Re	469	342	189	Franca	5.9	22.6	7.8	-	-	71.6	98.1
Bh	740	130	130	Franco-arenosa	5.6	-	31	14.5	9.6	42.5	98.3

II.2. Vermicomposts

II.2.1. Residuos agroindustriales seleccionados

Los residuos orgánicos escogidos para los diferentes estudios que conforman esta Tesis Doctoral procedieron de industrias vitivinícolas, alcohólicas y oleícolas. Los residuos fueron seleccionados en función de su producción, desarrollando una metodología que permitiese poder llevar a cabo de forma eficaz su proceso de vermicompostaje. Los residuos fueron tratados en su forma original o mezclados con otros residuos para mejorar las condiciones de vermicompostaje (relación C/N, estructura, etc). Los residuos sometidos al proceso de vermicompostaje fueron:

1. Orujos agotados o tortas de orujos (O) procedentes de la desalcoholización de los orujos frescos y suministrados por la empresa Movialsa, Campo de Criptana, Ciudad Real.



Figura II.5. Orujos agotados

2. Orujos agotados mezclados con residuos de lías (OL). Las lías procedentes de la desalcoholización de los orujos frescos y lías y suministrados por la empresa Movialsa, Campo de Criptana, Ciudad Real. La mezcla fue en proporción 1:1 para incrementar el contenido en nitrógeno del sustrato.

3. Lodos de vinazas mezclado con sarmiento (LvS). Los lodos de vinaza procedentes de la depuración de las vinazas generadas durante la destilación de alcohol a partir de vino, orujos frescos y lías y suministradas por la Estación Depuradora de Vinazas, Tomelloso, Ciudad Real. Sarmientos de vid procedentes de la poda de cepas de viñas de la zona de Sanlúcar de Barrameda (Cádiz) y suministradas por la empresa Gonzalez Byass, Jerez de la Frontera. La proporción de la mezcla fue 2:1 con lo que se mejora la estructura del sustrato y la relación C/N.



Figura II.6. Lodo de vinaza

4. Alperujo mezclado con estiércol (AE). Alperujo procedente de la empresa oleícola (ROMEROLIVA, Deifontes, Granada) y estiércol mezcla caprino-ovino, suministrado por la Unidad de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín (Granada). La mezcla se realizó en proporción 4:1 para aumentar el contenido de nitrógeno.

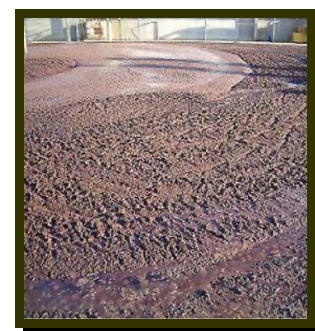


Figura II.7. Alperujo

II.2.2. Análisis de los residuos agroindustriales, vermicompostados y sin vermicompostar.

Para cada sustrato inicial y su correspondiente vermicompost se tomaron muestras al azar y fueron determinadas las siguientes propiedades para su caracterización. (Goering y Van Soest, 1970; Khazaal y col., 1994; M.A.P.A., 1986)

II.2.2.1. Determinación del pH y conductividad eléctrica (CE)

Un extracto acuoso de relación residuo:agua destilada (1:25) se agita durante 30 min. En el sobrenadante se determina en pH en un pHmetro Beckman Mod. SS-2 y la conductividad eléctrica en un conductivímetro Crison Mod. 525 (M.A.P.A., 1986).

II.2.2.2. Carbono orgánico total (COT).

Medida mediante combustión directa de la muestra utilizando un autoanalizador de carbono orgánico total para muestras sólidas Primacs de Skalar.

II.2.2.3. Carbono hidrosoluble

Se agita 1 g de muestra en baño de agua a 50°C durante 1h con 10 mL de agua destilada, se centrifuga a 3000 rpm durante 10 min y se filtra a través de filtros de 0,45 µm. Se coloca 1 mL del extracto en un tubo pirex, se añade 1 mL de dicromato potásico 1N y 2 mL de H₂SO₄ y se mantiene a 150°C durante 30 min. Se determina en frío mediante un espectrofotómetro a 590 nm (M.A.P.A., 1986).

II.2.2.4. Carbono extraíble total (CET), ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF).

La extracción de las sustancias húmicas se realizó mediante una solución 0,1M de Na₄P₂O₇ y 0,1 N de NaOH bajo atmósfera de nitrógeno, para lo cual se agitan durante 2 horas 5 g de los sustratos orgánicos con 100 mL de la solución extractante, se centrifuga a 6000 rpm durante 30 minutos y se filtra a 0,45 µm. El carbono contenido en el extracto constituye el carbono extraíble total (CET). Los ácidos húmicos precipitan por acidificación del extracto a pH 1,0 con ácido sulfúrico, y se centrifugan, en el sobrenadante se encuentran los ácidos fúlvicos. El contenido de carbono de las distintas fracciones obtenidas (CET, AH, AF) se determinó mediante oxidación ácida con dicromato y valoración posterior con sulfato ferroso amónico (Dabin, 1971).

II.2.2.5. Nitrógeno kjeldahl total (NKT).

Se utilizó una variante de la técnica Kjeldahl mediante la cual las muestras orgánicas se digieren con ácido sulfúrico y catalizadores que facilitan la transformación del nitrógeno en ión amonio, el cual posteriormente es destilado en medio alcalino y valorado (Jackson, 1970). Se pesa 2, 1 o 0,5 g de residuo en función del contenido en N en un matraz Kjeldahl seguido de 1,5 g de la muestra catalizadora, más bolitas de vidrio y 5 ml de sulfúrico concentrado. Se agita suavemente el matraz para que el ácido moje perfectamente el contenido. Se calienta para efectuar la digestión elevando la temperatura y se mantiene la mezcla en ebullición durante 30 min. Una vez enfriados se lleva a un volumen determinado (50 ml ó 100 ml) con agua destilada y se mide en espectrofotómetro a 650 nm.

II.2.2.6. Polifenoles.

Se pesan 200 mg de muestra finamente molida y se añaden 10 ml de una solución de acetona:agua (1:1), acidificada con ácido fórmico. En hielo la muestra se somete a ultrasonido durante unos 10 minutos, se agita durante 24 horas a 4°C, se centrifuga a 3000 r.p.m. a 4°C durante 30 minutos y se filtra a través de papel Whatman. A 1 ml de sobrenadante se le adicionan 0,5 ml de reactivo de Folin Ciocalteau y 2,5 ml de una solución de Na₂CO₃ al 20% (p/v), se mezcla en un agitador y se mantiene a temperatura ambiente durante 35 minutos. Se centrifuga la muestra a temperatura ambiente durante 20 min a 3000 rpm y se determina en espectrofotómetro a 725 nm (Khazaal y col., 1994).

II.2.2.7. Ligninas.

Se determina a partir de la lignina ácido detergente (LAD), fracción que contiene diferentes constituyentes de la pared celular, aunque no exclusivamente lignina. Para ello, en dos sacos de poliéster, libres de nitrógeno, cenizas, desecados y tarados, se pesan 0,5 g de muestra. Se someten a digestión a 100°C durante 60 min. con detergente ácido (bromuro de cetiltrimetilamonio) y se sumerge en ácido sulfúrico al 72% durante 3 horas. Se lavan los sacos con agua destilada caliente hasta obtener un pH neutro en el agua de lavado, se aclaran con acetona para retirar el agua, se desecan al aire y se completa la desecación a 103±1°C. Se pesan y se incineran en un horno de mufla a 550°C para determinar el contenido en cenizas. El residuo libre de cenizas constituye la fracción denominada LAD (Goering y Van Soest, 1970).

II.2.3. Preparación de las literas

En el proceso de vermicompostaje se utilizaron lombrices cliteladas y no cliteladas de la especie *Eisenia andrei* (Bouché, 1972), procedentes de un stock ubicado en el Departamento de Protección Ambiental de la Estación Experimental del Zaidín, Granada. El proceso se desarrolló durante 6 meses a escala piloto según metodología descrita por Elvira y col. (1998), en cuatro literas, cada una de ellas con los sustratos descritos en el apartado II.2.1.



Figura II.8. *Eisenia andrei*



Figura II.9. Litera para proceso de vermicompostaje.
Cordón de amortiguación (lado izquierdo)

Se utilizaron literas de madera de 0,75 m² con una pendiente del 5% para facilitar el drenaje. Cada litera fue rellena con una capa conteniendo original y, a ambos lados de cada sustrato, se colocó una banda (cordón de amortiguación) de 10 cm de ancho consistente en estiércol ovino-caprino donde fueron inoculadas las lombrices (Figura II.9). Esta banda sirvió para promover la aclimatación gradual de las lombrices a los nuevos sustratos y como fuente de inóculo de microorganismos. La inoculación se hizo con individuos en diversos estados de desarrollo (juveniles, semicliteladas y cliteladas) hasta una biomasa total de lombrices equivalente al 10% del peso seco de cada sustrato. Durante el periodo experimental no se adicionó sustrato adicional, se mantuvo la humedad entre el 80 y el 85% con riegos periódicos. Todas las literas fueron colocadas bajo cubierta, en un invernadero de temperatura no controlada. Para determinar la evolución de la biomasa, a intervalos mensuales se tomaron tres muestras al azar de 15 x 15 cm de superficie de cada uno de los sustratos contenidos en las literas. Las lombrices contenidas en cada muestra, fueron separadas manualmente, lavadas y pesadas después de secarlas rápidamente sobre papel de filtro. Posteriormente fueron reincorporadas a la litera. De las 3 muestras de cada tratamiento, se tomó una submuestra, la cual fue almacenada en botes plásticos y conservada a 4°C para su posterior análisis. La figura II.10, muestra la evolución de la biomasa de lombrices en los distintos sustratos durante el proceso.

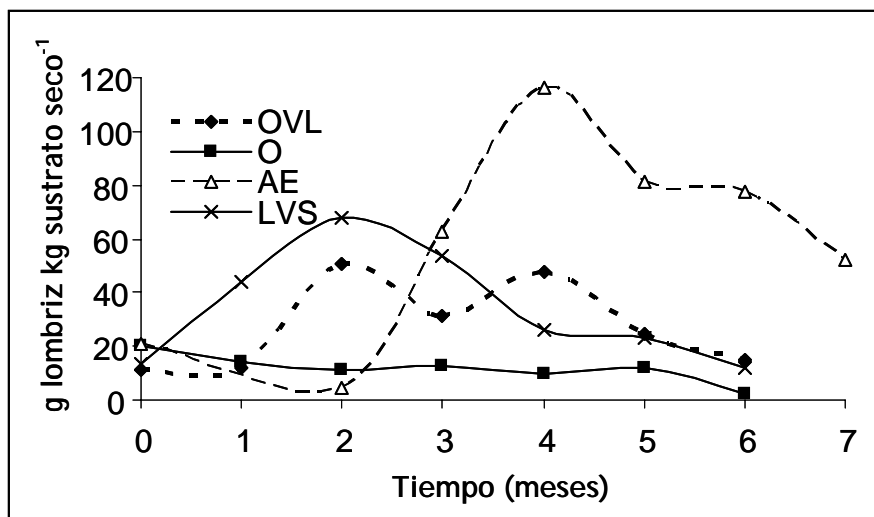


Figura II.10. Evolución de biomasa de *Eisenia andrei* en el tiempo en los distintos sustratos.

La acción combinada de las lombrices inoculadas y de los microorganismos durante el proceso de vermicompostaje dio lugar a cambios apreciables en las propiedades químicas de los diferentes sustratos orgánicos (tabla II.2). La menor eficacia en el desarrollo de las lombrices en el orujo y el orujo con lías (Figura II.10) puede ser atribuida a la presencia en ellos de elevadas concentraciones de compuestos recalcitrantes tales como las ligninas cuya concentración es más del doble que en el resto de los sustratos. Éstas no son tóxicas para las lombrices aunque tampoco son fácilmente asimilables por ellas (Hartenstein, 1982) lo que hace que su desarrollo y la biotransformación de los sustratos no sean

Tabla II.2. Propiedades de los residuos orgánicos.

Residuo	pH	g kg ⁻¹				C/N	HR	Polifenoles g kg ⁻¹	Ligninas g kg ⁻¹
		COT	CET	AH	AF				
O	6.4	475	33	2.6	29.9	25	7	2.9	502
OL	6.3	492	61	15	45.5	25	12	6.7	447
LvS	6.3	482	64	16	48.5	17	13	17.7	168
AE	6.6	483	227	86	141	38	47	19.3	200
O -V ^s	6.8	344	62	35	27.5	22	18	1.0	434
OL -V ^s	7.3	280	96	65	42.3	14	34	1.2	372
LvS -V ^s	7.3	295	247	146	101	11	84	1.2	255
AE -V ^s	8.6	292	201	75	126	15	69	1.3	200

V^s: vermicompostado, HR: razón de humificación = CET/COT x 100

El proceso de vermicompostaje aumentó el pH de los sustratos orgánicos ensayados, disminuyendo los niveles de carbono orgánico (COT). Esta pérdida del contenido en COT fue debida a la mineralización de cada residuo, siendo mayor en la

mezcla de orujos y lias (43%) y menor en el orujo agotado (27%). Los valores de CET y AH aumentaron durante el proceso de vermicompostaje, en todos los residuos ensayados excepto en la mezcla de alperujo y estiércol (AE). Cada vermicompost obtenido presentó menor relación C/N y mayor razón de humificación (HR) que el sustrato orgánico inicial. Ello dejó patente que el proceso de vermicompostaje desarrollado se mostró muy eficaz para aumentar la estabilidad, humificación y polimerización de la materia orgánica contenida en cada sustrato orgánico, efecto ya evidenciado en estudios previos utilizando otros residuos orgánicos urbanos o agroindustriales (Benitez y col., 1999, 2002; Elvira y col., 1998; Nogales y col., 1999, 2005). Además de ello, uno de los efectos más importantes que se observó en el proceso de vermicompostaje fue la disminución acusada de sustancias tóxicas, como polifenoles, contenidas en los residuos orgánicos ensayados.

II.3. Análisis cromatográfico de los plaguicidas y sus metabolitos

II.3.1. Condiciones cromatográficas

Los análisis cromatográficos se llevaron a cabo en un Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (CLAR) con un detector de diodos en cadena (CLAR-DAD) modelo 1100 Series, marca Agilent (Alemania). Se usó una columna analítica Zorbax Rx-C8 (150x2,1 mm. d.i.) empaquetada con diisopropyl n-octyl (5 μ m) y una precolumna (eclipse XDB-C8, 12,5x2,1 d.i.) empaquetada con el mismo material. El software empleado por el equipo para el control de las condiciones cromatográficas e integración fue Chemstation para LC3D (Agilen Technologies, 1990-2002).

La fase móvil usada en el CLAR fue diferente en función de los compuestos que se pretendían determinar. Todas las soluciones y muestras usadas fueron pasadas a través de filtros hidrofílicos de polipropileno de 0,45 μ m (PALL, Life Sciences).

■ Para la determinación simultánea de imidacloprid (I), diurón (D), metsulfurón-metil (M), sulfometurón-metil (S) y flazasulfurón (F), la fase móvil fue 55:45 (v:v) de 0.005M ácido sulfúrico:acetonitrilo. Los tiempos de retención fueron de 2,95, 5,97, 4,35, 4,85, y 7,13 minutos respectivamente para I, D, M, S y F (Figura II.11).

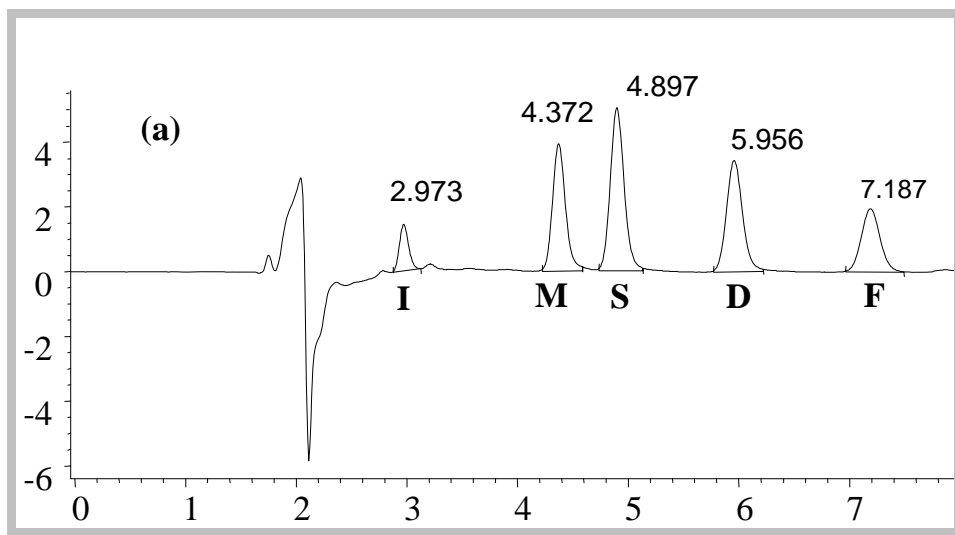


Figura II.11: Cromatograma de determinación simultánea de I, M, S, D y F

■ Para el análisis simultáneo de imidacloprid y diurón la fase móvil fue de 60:40 (v:v) de 0.005M ácido sulfúrico:acetonitrilo en la que los tiempos de retención fueron de 3,24 y 7,76 min respectivamente (Figura II.12).

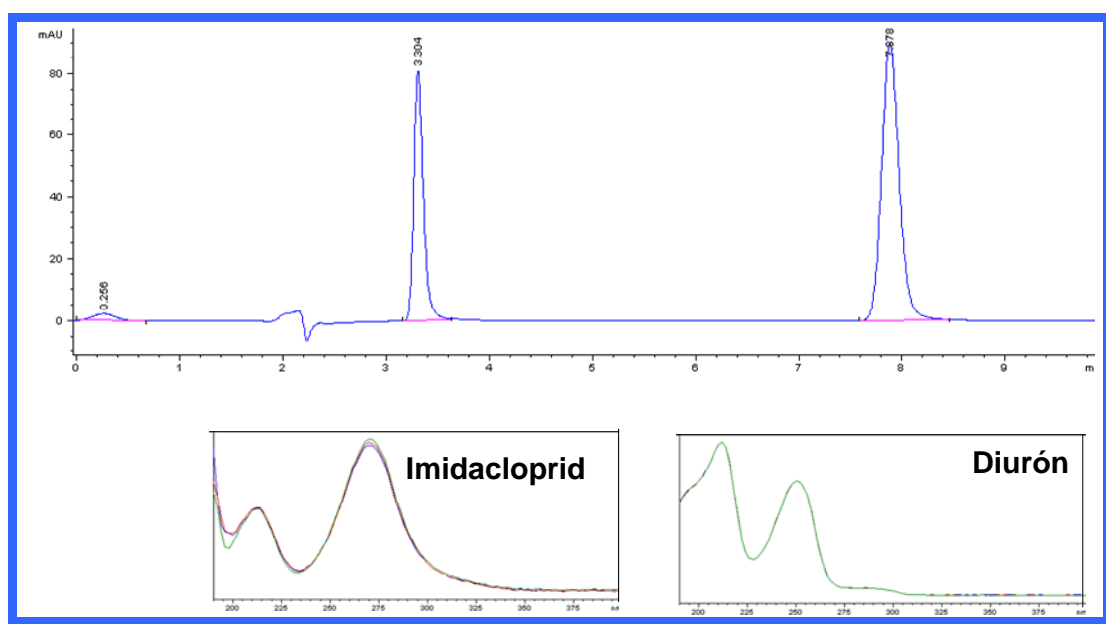


Figura II.12: Cromatograma para la determinación simultánea de I y D y sus espectros.

■ La misma fase móvil, 0,005 M ácido sulfúrico:acetonitrilo (60:40) fue usada para la detección simultánea de diurón y sus metabolitos DPMU, DPU y DCA, en este caso los tiempos de retención fueron de 7,94, 6,23, 4,81 y 8,75 min, respectivamente (Figura II.13).

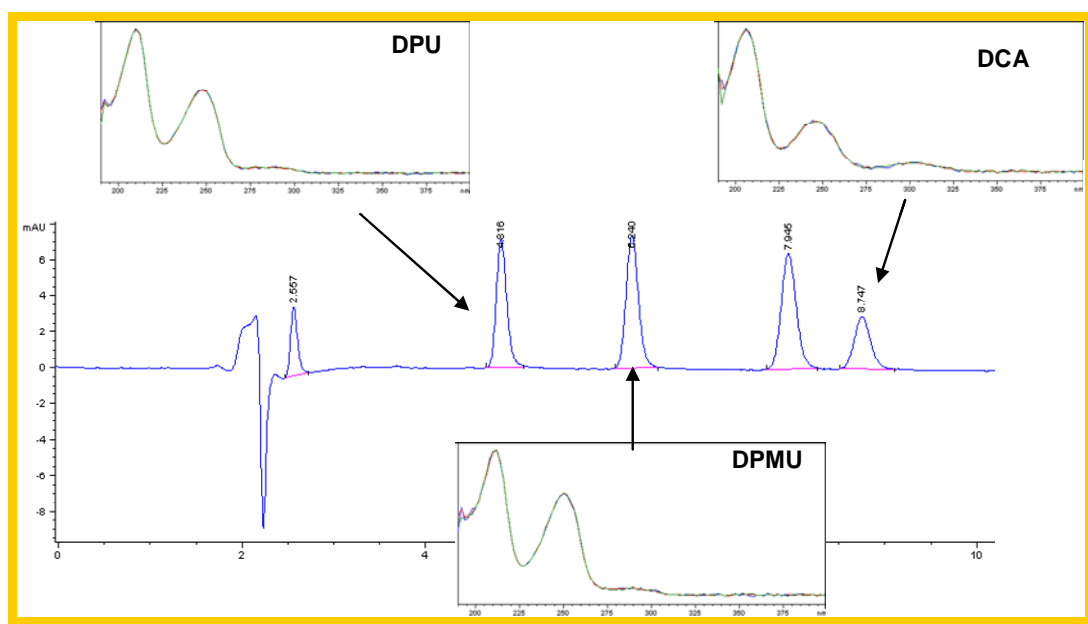


Figura II.13: Cromatograma de determinación simultánea de diurón y sus metabolitos y sus espectros.

■ Para la detección simultánea de Imidacloprid y su metabolito ácido 6-cloronicotínico (CNA) la fase móvil fue de 70:30 (v:v) de 0,005 M ácido sulfúrico:acetonitrilo y sus tiempos de retención fueron 4,88 y 4,58 min, respectivamente (Figura II.14).

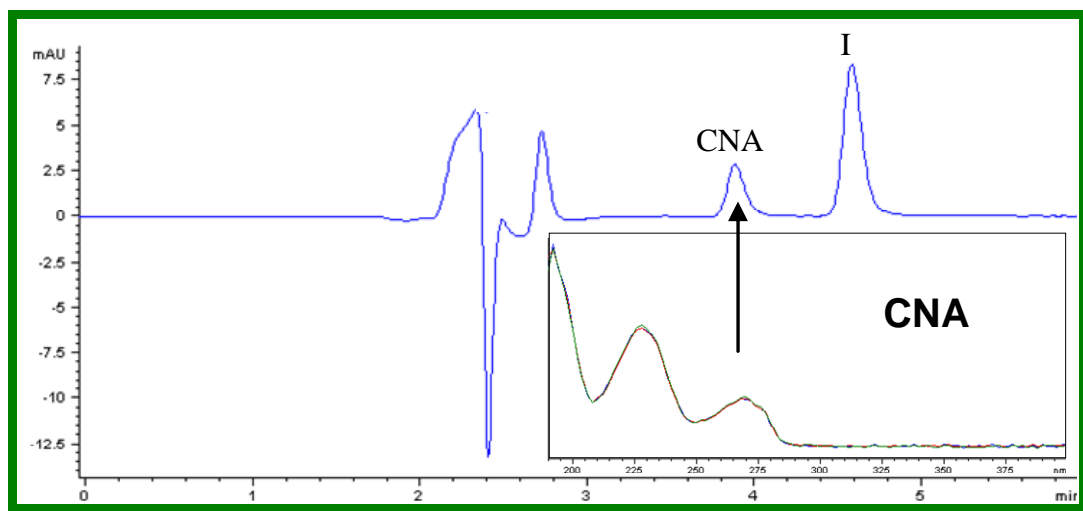


Figura II.14. Cromatograma de detección simultánea de I y CNA y su espectro.

El resto de condiciones de operación del aparato fueron:

- Velocidad de flujo: 0.2 mL min⁻¹.
- Temperatura de la columna: 40°C
- Volumen de inyección de muestra: 10μL.
- Longitudes de onda de detección de los distintos plaguicidas fueron:

Imidacloprid y CNA, 270 nm,
 Metsulfurón-metil, Sulfometurón-metil y Flazasulfurón, 237 nm,
 Diurón, DPMU, DPU y DCA, 254 nm.

- Los espectros fueron detectados entre los 190 y los 400 nm.

II.3.2. Curvas de calibrado

Se prepararon soluciones patrón en acetonitrilo de I, M, S, D y F con una concentración inicial teórica de 431,64, 398,00, 17,76, 417,3 y 51,48 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. La calibración se obtuvo a partir de inyecciones por triplicado de 6 diluciones de las soluciones patrón en agua mili-Q a concentraciones de 5, 2,5, 1, 0,5, 0,25 y 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por otro lado, las rectas de calibración de D, DPMU, DPU, DCA, I y CNA se obtuvieron a partir de inyecciones por triplicado de las diluciones de las soluciones patrón en agua mili-Q a las concentraciones de 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,25 y 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. La concentración de las soluciones patrón para D, DPMU, DPU, DCA, I y CNA fueron 409,50, 415,80, 393,90, 392,04, 384,16 y 398,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

La linealidad del método instrumental, la sensibilidad analítica y los límites de detección y cuantificación fueron calculados a partir de los datos obtenidos en la calibración, usando un modelo estadístico de regresión lineal por mínimos cuadrados, cuyas ecuaciones están resumidas en la tabla II.3 (Cuadros y col., 1993). Los resultados están recogidos en la tabla II.4 junto con los parámetros de la recta de regresión y su coeficiente de determinación que fue superior a 0,999 en todos los casos.

Tabla II.3. Ecuaciones usadas para calcular las características del método analítico en el CLAR.

Nombre	Ecuación	Nombre de los parámetros
Recta de Regresión	$R = a + bC$	R= Respuesta instrumental
Linealidad	$L(\%) = \left(1 - \frac{S_b}{b}\right) \times 100$	C= Valor de concentración a = ordenada en el origen b=pendiente
Sensibilidad	$S = \frac{S_{R,C}}{b}$	S_b =Desviación estándar de la pendiente
Límite de detección estadístico	$LDE = \frac{3S_{R,C}}{b} \sqrt{\frac{n-2}{n-1}}$	$S_{R,C}$ = Desviación estándar de la recta de regresión
Limita de cuantificación estadístico	$LDC = \frac{10S_{R,C}}{b} \sqrt{\frac{n-2}{n-1}}$	n= número de parejas de valores usados para la recta de regresión

Tabla II.4. Parámetros analíticos de las rectas de regresión empleadas para la determinación de los plaguicidas.

Pesticidas	b (ng μL^{-1})	S_b	a (ng μL^{-1})	S_a ($\times 10^{-2}$)	R^2	$S_{R,C}$ ($\times 10^{-2}$)	Linealidad (%)	Sensibilidad (ng $\mu\text{L}^{-1} \times 10^{-5}$)	LOD ^b (ng $\mu\text{L}^{-1} \times 10^{-5}$)	LOQ ^c (ng $\mu\text{L}^{-1} \times 10^{-5}$)
Imidacloprid	244,06	0,23	-4,78	0,85	1,00	0,48	99,90	1,98	5,77	19,24
Metsulfurón-metil	135,81	0,23	-3,97	0,13	1,00	0,07	99,83	5,33	1,55	5,17
Sulfometurón-metil	185,36	0,23	-4,56	36,27	1,00	20,66	99,87	114,56	324,38	1081,28
Flazasulfurón	93,97	0,24	-1,13	0,12	1,00	0,07	99,75	0,74	2,16	7,20
Diurón	277,47	0,23	-7,04	0,24	1,00	0,14	99,91	0,49	1,43	4,77
Diurón*	292,77	0,00	1,51	0,38	1,00	1,17	100,00	3,99	11,68	38,95
DPMU	277,45	0,07	3,29	19,40	1,00	59,96	99,97	216,11	633,43	2111,43
DPU	224,47	0,18	0,69	49,18	1,00	151,86	99,92	676,51	1982,87	6609,56
DCA	147,85	0,01	-1,39	2,41	1,00	7,44	99,99	50,33	147,53	491,77
Imidacloprid*	86,19	0,02	-0,09	5,07	1,00	15,56	99,98	180,56	529,24	1764,12
CNA	264,51	0,00	-0,01	0,54	1,00	1,66	99,99	6,26	18,36	61,20

* Valores calculados en las rectas de calibrado para las fases móviles de 60:40 y 70:30 (ácido sulfúrico 0,005 M:acetonitrilo) para diurón e imidacloprid respectivamente

II.4. Principales plaguicidas del estudio

De los plaguicidas usados en los ensayos previos para evaluar la capacidad adsorbente de los residuos vermicompostados, imidacloprid y diurón mostraron ser los mejor adsorbidos por los residuos y sus vermicompost y por lo tanto los mas convenientes para este estudio.

II.4.1. Imidacloprid

Las propiedades físico químicas de este insecticida están resumidas en la tabla II.5.

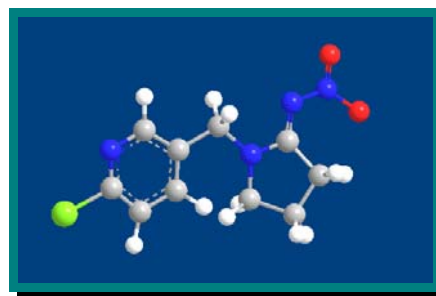


Figura II.15. Molécula de Imidacloprid

Tabla II.5. Propiedades físico-químicas de imidacloprid (Tomlin, 2003)

Nombre Genérico	Imidacloprid	Nombre químico (CAS)	1-[(6-chloro-3-pyridinyl)-methyl]-N-nitro-2-imidazolidinamine
CAS RN	138261-41-3	Punto de fusión	144°C
Fórmula estequiométrica	C ₉ H ₁₀ Cl N ₅ O ₂	K _{oa}	3,72 (21°C)
Masa molecular	255,7 g mol ⁻¹	Presión de vapor	4·10 ⁻¹⁰ Pa (20°C)
Solubilidad en Agua	610 mg L ⁻¹ (20°C)		

Imidacloprid es un insecticida de acción sistémica por la raíz y con una notable acción por contacto y por ingestión (Zang y col., 2000). Se usa para tratamiento en suelo, de semilla y foliar en cultivo algodónero, arroz, cereales, patatas, hortalizas, frutas pomáceas, pecanas y prados, para el control de insectos chupadores, insectos del suelo, moscas blancas, termitas, insectos de los prados y escarabajos de patata de Colorado, con largo control residual. Además es usado como repelente de aves al ser aplicado a las semillas. Imidacloprid no tiene efecto sobre ácaros o nemátodos (Tomlin, 2003).

II.4.1.1. Toxicidad

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), imidacloprid es moderadamente tóxico, Clase II (WHO, 2004). Su toxicidad es más evidente cuando

es asimilado por ingestión que por vía cutánea o por inhalación. Su DL_{50} oral es de 450 $mg\ kg^{-1}$ de peso corporal en ratas. No existen evidencias de que cause cáncer en animales de laboratorio a largo plazo ni humanos, por ello la EPA lo clasifica como de clase E (E.P.A., 1994). También produce daños ecológicos ya que es tóxico para especies beneficiosas como las abejas, depredadores del escarabajo de la patata y parasitoides de la mosca blanca. También tiene efectos negativos sobre las lombrices. En *Eisenia foetida* se ha observado una CL_{50} de 2-4 ppm (Luo y col., 1999).

Algunos de sus metabolitos pueden ser más tóxicos que el propio imidacloprid. Así, por ejemplo, se ha descrito que la olefina, un metabolito que aparece en plantas es más tóxico para los insectos, además el metabolito desnitro, es menos tóxico para los insectos pero tiene mayor efecto sobre el sistema nervioso de los mamíferos (Nauen y col., 1998). También se ha observado que el 2-imidazolina o etilenurea, produce daños genéticos y, junto con nitratos, es capaz de inducir tumores (Cox, 2001). Por otro lado, su bajo K_{oa} indica que no tiene capacidad para acumularse en los tejidos biológicos y moverse a través de la cadena alimentaria.

II.4.1.2. Imidacloprid en el medio ambiente

No se han encontrado datos sobre contaminación de imidacloprid en aguas subterráneas y superficiales, excepto en casos de contaminación puntual (Krohn y Hellpointner, 2002). Imidacloprid está considerado según la EPA como un plaguicida con alto potencial de lixiviación y contaminación de aguas subterráneas, además de ser peligroso en escorrentía superficial (Cox, 2001). Esto es debido a su alta solubilidad y su bajo K_{oa} que le dan un carácter hidrofílico. Sin embargo, ensayos de lixiviación en laboratorio y otros ensayos de campo clasifican al imidacloprid como un plaguicida inmóvil que queda retenido en la zona radicular del suelo (Krohn y Hellpointner, 2002).

Los procesos de adsorción son los que van a influir en mayor medida el movimiento de imidacloprid en suelo. El valor medio de la K_{oc} es de 225 ± 82 , lo que lo clasifica como un plaguicida de movilidad media en suelos. En general, se ha visto que cuanto mayor es el tiempo de residencia del plaguicida en el suelo y menor es su concentración, más fuertemente es enlazado a las partículas del suelo (Cox y col., 1998a, 1998c; Oi, 1999). Cox y col. (1998b) observaron que la desorción de imidacloprid sufre histéresis, por lo que, en general, imidacloprid parece ser mantenido en la zona radicular del suelo y no lixivarse a aguas subterráneas.

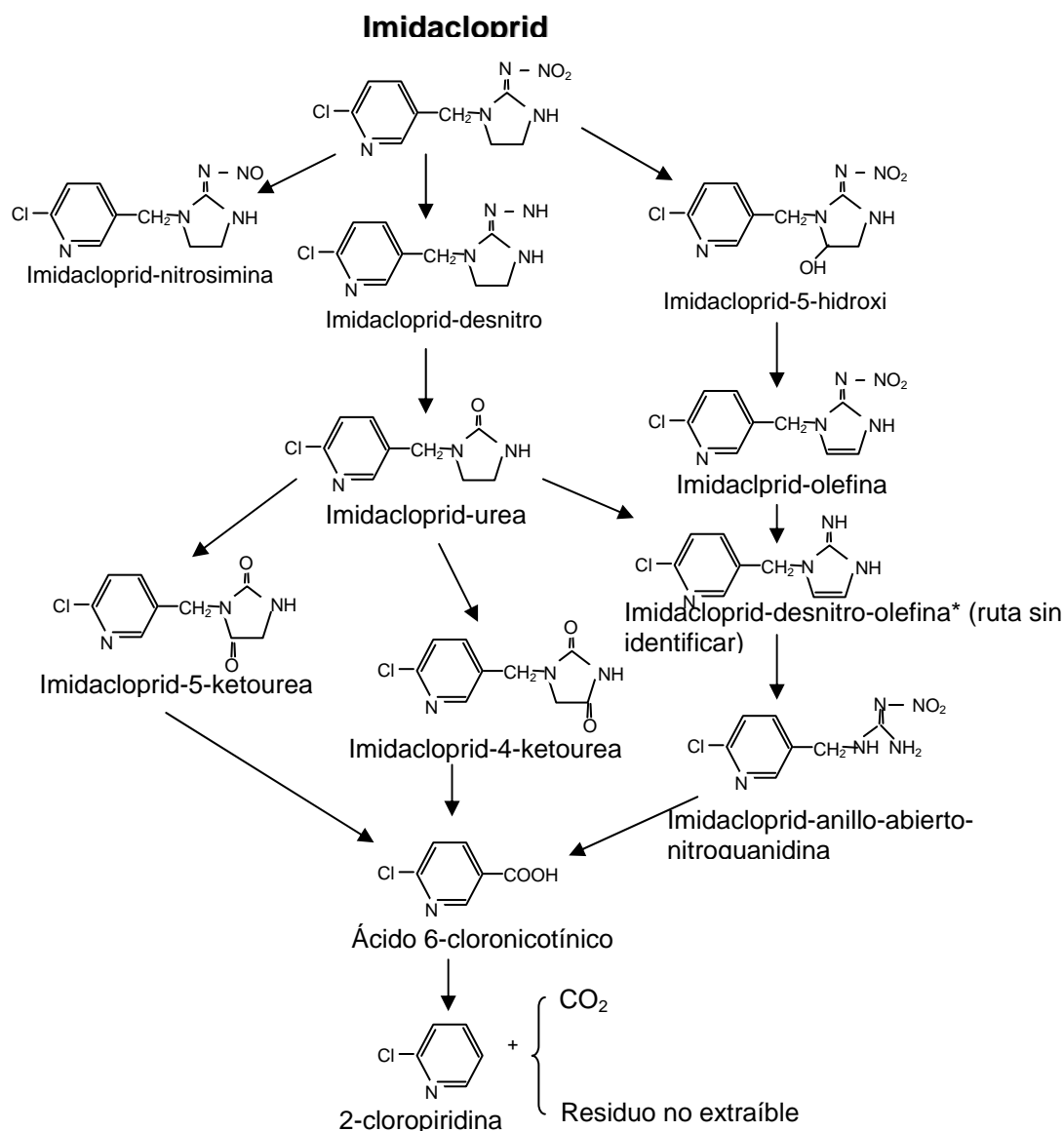


Figura II.16. Vías metabólicas de degradación de imidacloprid (Krohn y Hellpointner, 2002).

II.4.1.3. Degradación

Imidacloprid es muy sensible a la fotodegradación. En el aire, debido a su baja presión de vapor, solo puede encontrarse cuando es aplicado como spray. En este caso la mayoría del compuesto pasará de estado gaseoso a aerosol y, por la influencia directa de la luz solar, será degradado rápidamente. Por otro lado, en invernaderos, donde la luz solar es filtrada por la cubierta, este proceso de disipación del plaguicida se verá reducido (Garratt y col., 2007). Imidacloprid no es persistente en ambientes acuáticos, donde también es fotodegradable. Así, por ejemplo, cuando es irradiado en solución acuosa su vida media se reduce a tan solo minutos o hasta pocos días (Weiping y col., 2006). En soluciones neutras o ácidas imidacloprid es estable o se hidroliza muy lentamente. Sin embargo, en soluciones

alcalinas su hidrólisis aumenta. Tanto por hidrólisis y fotodegradación el principal metabolito formado es el imidacloprid-urea (Weiping y col., 2006)

La degradación de imidacloprid en suelos es continua aunque no es rápida. La vida media de imidacloprid en suelos está entre 40 y 124 días aproximadamente (Cox y col., 2004a; Rouchaud y col., 1994; Rouchaud y col., 1996; Sarkar y col., 2001), aunque otros estudios tienen valores por encima de 1 año, según sean las condiciones del suelo, clima, irrigación... (Cox, 2001). La vía metabólica de degradación más importante de Imidacloprid es la oxidación de anillo de imidazolina, la reducción o pérdida de grupo nitro y la hidrólisis hasta formar ácido 6-cloronicotínico (Figura II.16) tras el cual se produce la mineralización completa y/o la formación de residuos no extraíbles (Tomlin, 2003). Existe la teoría de que pueda haber metabolitos cuya concentración y vida media sea tan baja que no sea posible su detección. De hecho, durante la degradación de imidacloprid no existe una acumulación de metabolitos que supere el 10% de la cantidad aplicada, lo que indica que es el primer paso en la degradación el que controla la velocidad media de su transformación y mineralización completa.

II.4.2. Diuron

En la Tabla II.6 se encuentran resumidas las principales propiedades físico-químicas del herbicida diurón.

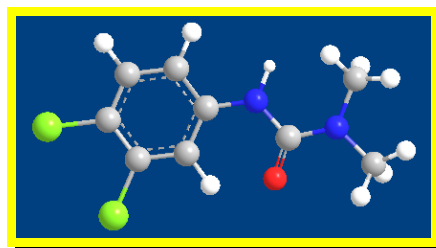


Figura II.17. Molécula de Diurón.

Tabla II.6. Propiedades físico-químicas de diuron (Tomlin, 2003).

Nombre Genérico	Diuron	Nombre químico (CAS)	N'-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilurea
CAS RN	3330-54-1		
Fórmula estequiométrica	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	K _{oa}	700±50 (25°C)
Masa molecular	233,1 g mol ⁻¹	Presión de vapor	1,1·10 ⁻⁶ Pa (20°C)
Solubilidad en Agua	42 mg L ⁻¹ (25°C)	Punto de fusión	158-159°C

Diurón es un herbicida sistémico absorbido principalmente por la raíz que se transloca por el xilema inhibiendo la fotosíntesis. Bloquea la transferencia de electrones a nivel del fotosistema II. Se usa para el control total de musgos y malas hierbas en zonas no cultivadas a dosis de 3 kg ha⁻¹año⁻¹. Además lleva a cabo un control selectivo de malas hierbas en múltiples cultivos como, espárrago, árboles

frutales, viñedos, cultivos de olivos, algodón, caña de azúcar, cereales, soja, maíz... (Tomlin, 2003), a dosis de $1,8 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$.

II.4.3.1. Toxicidad

La EPA clasifica toxicológicamente al diuron como clase III, es decir, sustancia tóxica y ligeramente peligrosa (Malato y col., 2002; Tomlin, 2003) y lo incluyó como sustancia carcinogénica en 1997. Actualmente es considerado por la Unión Europea como sustancia peligrosa prioritaria dentro del marco de la prevención de contaminación de aguas. Por lo tanto, su uso va a ser suprimido en Europa durante los próximos 20 años (Directiva 2000/60/CE). Mientras tanto, su uso está limitado al tratamiento de zonas no agrícolas como carreteras y ferrocarriles y como alguicida.

Diuron es ligeramente tóxico en aves e invertebrados acuáticos y moderadamente en peces, su DL_{50} oral en ratas es de 3400 mg kg^{-1} (Giacomazzi y Cochet, 2004). Por esta baja toxicidad la OMS lo clasifica toxicológicamente como clase U (WHO, 2004). Su degradación genera metabolitos más tóxicos (Tixier y col., 2000). Uno de estos metabolitos es la 3,4 Dicloroanilina (DCA), clasificada como sustancia venenosa de clase II según la OMS.

II.4.3.2. Diuron en el medio ambiente

Diurón es un herbicida ampliamente distribuido en el mundo debido a uso agrícola y no agrícola. Así ha sido encontrado en aguas superficiales y subterráneas en países tales como Estados Unidos, Francia, Alemania y España (Claver y col., 2006; Cox, 2003; Lennartz y col., 1997). Además, su uso como antialgas, lo convierte en una fuente de contaminación para ambientes acuáticos. De este modo, se han encontrado niveles elevados de diurón en aguas de Japón y Holanda (Lamoree y col., 2002; Okamura y col., 2003).

Diurón es moderadamente persistente en suelos (Cox, 2003). Su persistencia en suelos va desde el mes hasta el año, aunque estudios realizados en Canadá y Hawai han detectado residuos de diurón después de tres años de su aplicación en campo (Cox, 2003). Se ha observado que la aplicación continuada de este compuesto reduce su tiempo de vida media desde los 81d hasta los 37d, efecto que no es observado en otros herbicidas (Rouchaud y col., 2000). Por otro lado, ensayos en laboratorio han demostrado que los principales metabolitos del diuron, como la DCA se pueden acumular en el medio (Tixier y col., 2000; Tixier y col., 2001). La presencia de diuron en suelos, es capaz de desestabilizar las comunidades ecológicas microbianas, incluyendo algas y hongos, eliminando especies o inhibiendo la actividad microbiana (Cox, 2003; Prado y Airoidi, 2001).

II.4.3.3. Degradación

Diurón tiene una velocidad de degradación química muy baja a pH neutros. Esta degradación química de diurón puede ser catalizada por la presencia de materia orgánica disuelta en la fase acuosa (Giacomazzi y Cochet, 2004). También es degradado mediante fotólisis (Malato y col., 2002). Pero la principal vía de degradación de este plaguicida es la degradación biológica, ya sea aeróbica (Sorensen y col., 2003) o anaeróbica (Attaway y col., 1982) (Figura II.18).

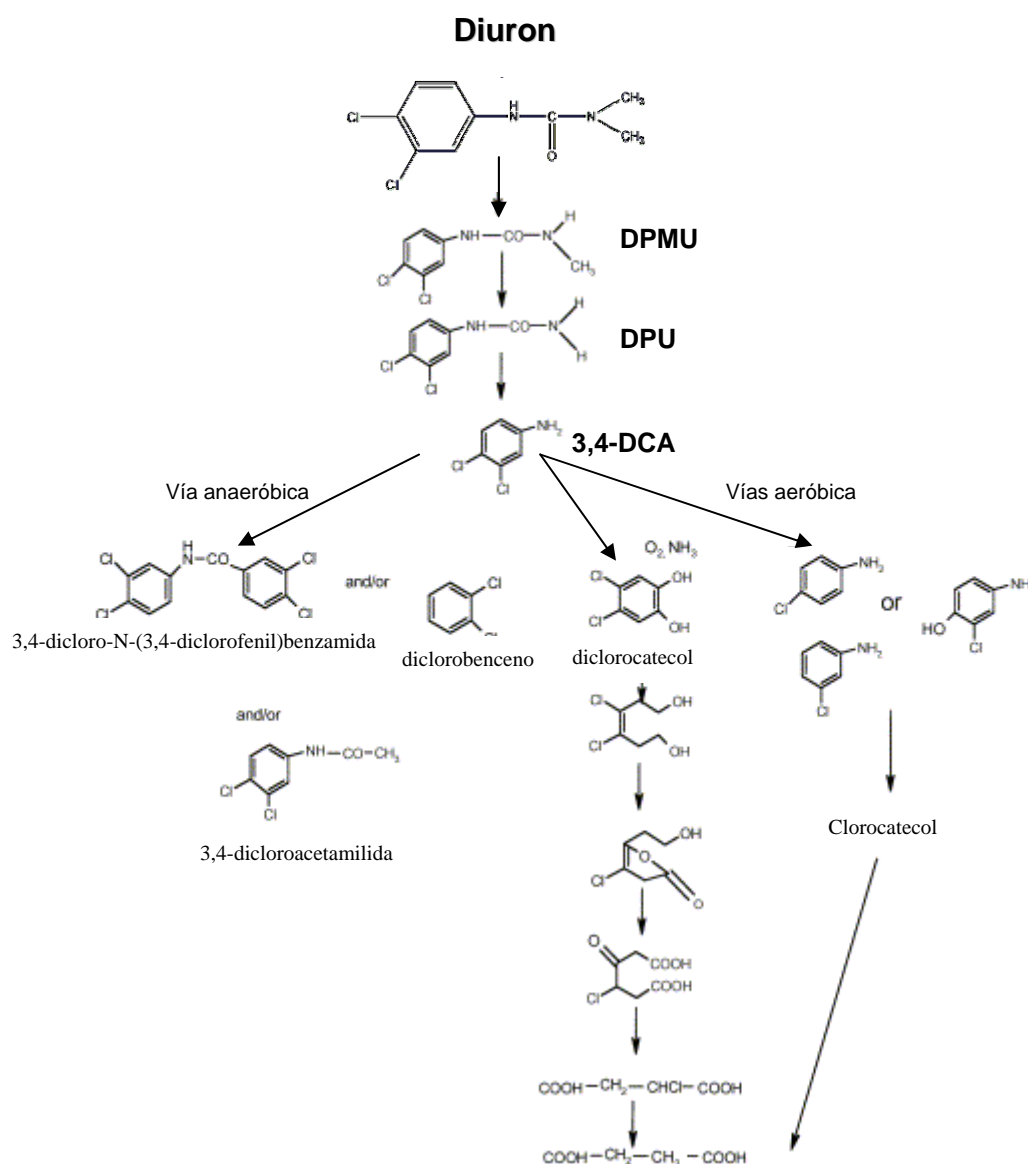


Figura II.18. Vías metabólicas de degradación de Diurón (Giacomazzi y Cochet, 2004).

Los principales metabolitos que encontramos en las fases iniciales de degradación de diurón son 3-(3,4-diclorofenil)-1-metilurea (DPMU), 3,4-diclorofenilurea (DPU) and 3,4-dicloranilina (DCA). El efecto más importante en el

proceso de degradación de diuron y que lo hace muy peligroso es que, sea cual sea la vía de descomposición de la molécula uno de los metabolitos que se producen es la DCA.



CAPÍTULO 3
***EFECTO DEL PROCESO DE VERMICOMPOSTAJE
SOBRE LA CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE
PLAGUICIDAS POR RESIDUOS AGROINDUSTRIALES***

Este capítulo estudia el uso de residuos orgánicos procedentes de la industrias del vino y del alcohol (sarmientos, orujo agotado, lías y lodos de vinazas) y del aceite de oliva (alperujo), como adsorbentes para el control de plaguicidas. Para ello se estudió la capacidad de estos residuos orgánicos de adsorber plaguicidas y el efecto sobre esta capacidad que tiene el proceso de vermicompostaje. Los plaguicidas aplicados fueron imidacloprid, un insecticida, y diferentes herbicidas, diurón, metsulfurón-metil, sulfurón-metil, y flazasulfurón. Se observó que el proceso de vermicompostaje fue más eficaz en aquellos residuos con menos contenido en ligninas. En general, la capacidad de adsorción de los residuos ensayados tanto en su forma natural como en la vermicompostada fue baja para los herbicidas aniónicos y mayor para los plaguicidas más hidrofóbicos. Las isothermas de adsorción de de confidor (imidacloprid 20% p/v) y diurokey (diurón 80%, p/p) en los todos lo residuos usados se ajustan bien al modelo de Freundlich ($R^2 > 0,933$). Loa valores más elevados de la constante de Freunlich (K_f) corresponden con el residuo de orujo agotado, sin vermicompostar o vermicompostado, debido al elevado contenido en ligninas de este residuo.

Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes

ESPERANZA ROMERO*, AMPARO SALIDO, CELIA CIFUENTES,
JESÚS-DIONISIO FERNÁNDEZ and ROGELIO NOGALES

Departamento de Agroecología y Protección Vegetal, Estación Experimental
del Zaidín (CSIC), C/Profesor Albareda, 1, 18008 – Granada, Spain

(Received 10 October 2004; in final form 8 April 2005)

The aim of this work was to study the use of organic wastes from olive oil (*alperujo*), winery, and alcohol industries (vine shoots, spent grape marc, lees cake, and biosolids vinasse) as sorbents for pesticide control. The pesticide sorption capability of these organic wastes and the effect of vermicomposting process was also studied. The insecticide imidacloprid and different herbicides (diuron, metsulfuron-methyl, sulfuron-methyl, and flazasulfuron) were applied. The vermicomposting process was more effective for the agro-industrial wastes with a low lignin content. The sorption capacity of these wastes, natural or previously vermicomposted, was low for the anionic herbicides with respect to hydrophobic pesticides. Adsorption isotherms by the different wastes of confidor (imidacloprid 20% w/v) and diurokey (diuron 80% w/w) fit the Freundlich model ($R^2 > 0.933$). The larger K_f values ($231\text{--}138 \mu\text{g}^{1/n-1} \text{mL}^{-1} \text{g}^{-1}$) correspond to the spent grape marc, untreated or vermicomposted, due to the high lignin content of this waste.

Keywords: Urea and sulphonylurea herbicides; Imidacloprid insecticide; Olive oil and winery wastes; Vermicomposting; Sorption capability

1. Introduction

The soil sorption capability of pesticides by soils is mainly governed by the organic-matter (OM) content [1]. In the Mediterranean countries, because of the low OM content, the addition of exogenous organic materials to soil can be necessary in order to increase the pesticide retention and prevent pollution of surface and ground waters [2]. Organic amendments can modify sorption and diffusion of pesticides in soil. These modifications can be related to the origin, nature, and evolution of organic wastes as well as soil and pesticide characteristics [3, 4].

On the other hand, olive oil, wine, and alcohol production are important industries in the Mediterranean countries. These industries generate a huge amount of waste, and its disposal is regarded as a serious environmental issue. The main waste from the extraction of olive oil in the 'continuous centrifugation two-phase process' is

*Corresponding author. Fax: +34-958-129600. Email: eromero@eez.csic.es

a two-phase olive-mill waste or alperujo (A). The main wastes from the winery and alcohol industries are vine shoots (VS), spent grape marc (GM), lees cake (L), and, after the depuration of vinasse, biosolids vinasse (BV). Recently, different solutions have been proposed for the efficient re-use of these wastes previously biostabilized and matured, via composting or vermicomposting, such as the addition to soils in remediation techniques or for agricultural purposes [5, 6].

The importance of composting and vermicomposting processes to stabilize and mature organic wastes [7, 8] and the advantages of the final products to improve the quality of the agricultural soils has been well documented [6, 9]. Both processes also preclude several drawbacks such as the phytotoxicity and inhibition of the soil microbiota, often observed when the organic wastes are directly added to the soil [10].

The selected pesticides, imidacloprid (I), metsulfuron-methyl (M), sulfuron-methyl (S), diuron (D), and flazasulfuron (F), belong to different chemical classes (figure 1) and have different chemical properties. The sulfonylurea herbicides (M, S, and F) control a wide spectrum of broadleaf weeds and annual grass. Their sorption by soils is generally low, with a greater leaching potential in alkaline than in acid soils [11]. Diuron is a systemic herbicide used in many crops, and imidacloprid is a systemic insecticide used to control sucking insects and soil insects [12]. Diuron, is described as a ureic herbicide with a moderate persistence in soil, and as 'transition' pesticide [13], with a Gustafson index [14] of 2.6. Imidacloprid, in alkaline soils with a low content of organic carbon, is described as a 'leacher' pesticide [15, 16]. Leaching of this chloronicotinyl insecticide in soil columns was higher when treated with formulations than with analytical grade material [17]. Furthermore, these chemicals are being used for plant protection in agriculture intensive systems, so soil and water contamination by these compounds is highly probable.

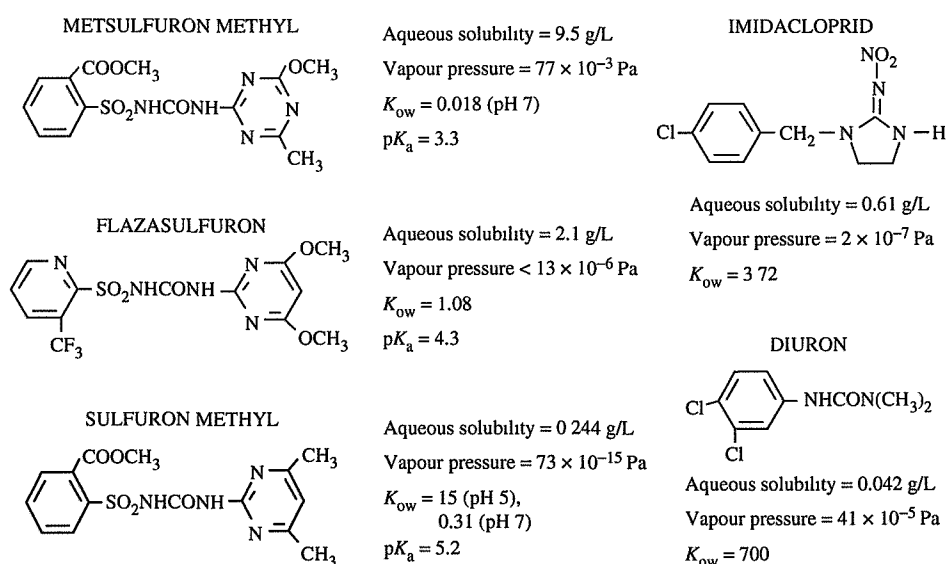


Figure 1. Structures and main chemical properties of the pesticides.

Previous studies with alperujo have revealed significant changes in the behaviour of pesticides when the soils were amended with this organic waste [18, 19]. Nevertheless, there is a lack of information on the use of wastes from the winery or alcohol industries, for the same purposes. In addition, the potential use of natural and vermicomposted wastes from the olive oil, winery, and alcohol industries as materials for pesticide sorption before their addition to the soils has not been methodically studied. This investigation constitutes the main objective of this paper in order to select the appropriate soil organic amendment for pesticide retention.

2. Experimental

2.1 Chemicals

I, M, S, D, and F, all with a purity higher than 97.5%, were obtained from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Commercial formulations of 'I' (Confidor 20% w/v from Bayer), and 'D' (DiuroKey 80% w/w from Industrial Química Key, s.a.) were also tested. Analytical-grade 96% sulphuric acid from Panreac (Barcelona) and HPLC-grade acetonitrile from Scharlau Chemie (Barcelona) were used. Water was purified with a Milli-Q water purification system (Millipore, MA).

2.2 Wastes used as pesticide sorbents

The vermicomposting process with *Eisenia andrei* of the different wastes described above was carried out for 8 months on a pilot-scale as reported elsewhere [7]. Four vermicomposting beds, three with wastes from winery and alcohol industries, and the fourth with the two-phase olive-mill waste, were prepared: GM: spent grape marc alone; GML: spent grape marc mixed with lees cake in a 1:1 ratio to increase the nitrogen content of the substrate; BVS, biosolid vinasse mixed with vine shoots in a 2:1 ratio to improve the structure and C/N ratio; and AM, alperujo mixed 4:1 with manure. These initial substrates and their corresponding vermicomposts were assayed as pesticide sorbents.

pH, total organic carbon (TOC), total extractable carbon (TEC), humic acids (HA), fulvic acids (FA), total Kjeldahl nitrogen (TKN), total polyphenols, and total lignin were determined using validated methods [20–22] in the initial substrates and their vermicomposts. Analytical results are shown in table 1.

2.3 Chromatographic analysis

An Agilent (Germany) Series 1100 liquid chromatograph equipped with a diode-array detector was used. A Zorbax Rx-C8 150 × 2.1 mm i.d. analytical column packed with diisopropyl *n*-octyl (5 μm) and a guard cartridge Eclipse XDB-C8 (12.5 × 2.1 mm i.d.), packed with the same material were used. The operating conditions were: mobile phase, acetonitrile:sulphuric acid 0.005 M (pH 3) (45:55 v/v); flow rate 0.2 mL min⁻¹; column temperature 40°C; detection wavelengths, 270 nm for I, 237 nm for M, S, and F, and 254 nm for D; injection volume 10 μL. Stock solutions of I (431.64 μg mL⁻¹), M (398 μg mL⁻¹), S (47.76 μg mL⁻¹), D (417.3 μg mL⁻¹), and F (51.48 μg mL⁻¹) in acetonitrile were prepared. The retention times for I, M, S,

Table 1. Some characteristics of the organic sorbents.

Sorbents	pH	TOC (g kg ⁻¹)	TEC (g kg ⁻¹)	HA (g kg ⁻¹)	FA (g kg ⁻¹)	C/N	HR ^a (%)	Polyphenol (g kg ⁻¹)	Lignin (g kg ⁻¹)
GM	6.4	475	33	2.6	29.9	25	7	2.9	502
GML	6.3	492	61	15	45.5	25	12	6.7	447
BVS	6.3	482	64	16	48.5	17	13	17.7	168
AM	6.6	483	227	86	141	38	47	19.3	200
GM-V ^b	6.8	344	62	35	27.5	22	18	1.0	434
GML-V ^b	7.3	280	96	65	42.3	14	34	1.2	372
BVS-V ^b	7.3	295	247	146	101	11	84	1.2	255
AM-V ^b	8.6	292	201	75	126	15	69	1.3	200

^aHR. humification rate = TEC/TOC × 100 ^bV vermicomposted.

D, and F were 2.95, 4.35, 4.85, 5.92, and 7.13 min, respectively. The calibration graph, from triplicate injection of six calibration solutions in Milli-Q water at 5, 2.5, 1, 0.5, 0.25, and 0.1 µg mL⁻¹, obtained by the least-squares method, were linear over the concentration range tested ($R^2 > 0.999$). The peak symmetry was higher than 0.73, and the resolution calculated ($R_s > 2.07$) gives an indication of optimum separation. The relative standard deviation (RSD) obtained for seven injections on different days, for a standard solution containing all the pesticides at 0.25 µg mL⁻¹, were $0.27 \pm 2.35\%$, $0.27 \pm 0.67\%$, $0.26 \pm 0.80\%$, $0.26 \pm 0.50\%$, and $0.27 \pm 2.35\%$, respectively.

2.4 Sorption experiment

To determine the sorption capability of the initial substrates and the vermicomposts, 0.5 g of each one, air-dried and ground, was placed into 50 mL glass tubes and added to 20 mL of an aqueous standard solution containing 2 mg L⁻¹ of each pesticide. The tubes were agitated on a rotary shaker for 24 h at $15 \pm 1^\circ\text{C}$ to achieve equilibrium, centrifuged at 3000 rpm for 20 min, and the supernatant filtered on 0.45 µm membranes for analysis by HPLC. The standard solution containing all the pesticides was run in parallel as a control. The amounts of pesticide adsorbed were calculated from the difference between the supernatant concentration in each sample and the control. This process was repeated twice. Blanks not containing pesticide were used for each waste. Under the same conditions, sorption isotherms at 0.6, 1.2, 2.5, and 5 mg L⁻¹ using two commercial formulations of the pesticides, which showed the highest sorption capacities, were carried out.

3. Results and discussion

The vermicomposting process significantly altered the physical and chemical properties of different assayed substrates (table 1) due in part to the growth and reproduction of *E. andrei* in each substrate. The peak biomass in the growth curve of the earthworms followed the sequence: AM (116 g kg⁻¹ in the fourth month) > BVS (68 g kg⁻¹ in the third month) > GML (50 g kg⁻¹ in the second month), and finally GM (13 g kg⁻¹ in the second month). A low biomass was recorded after 8 months of vermicomposting in all organic substrates assayed. The lower efficacy observed in the substrates,

GM and GML, would be attributed to the presence of high contents of recalcitrant compounds, as lignin, which makes the optimum development of the inoculated earthworms and the adequate biotransformation of these substrates difficult.

Vermicomposting causes an increase in pH values and a reduction in TOC content (table 1). The loss of TOC, due to OM mineralization in each waste, was as follows: GM-V (27%), GML-V (43%), BVS-V (38%), and AM-V (39%). The TEC and HA values increased after vermicomposting, except in the AM waste. As a consequence of these changes, the vermicomposted products showed a lower C/N ratio and higher humification rate (HR), which would imply a higher degree of stability, humification, and polymerization of the OM contained in these final products [7, 23]. The polyphenols were reduced in the vermicomposted products, showing the high effectiveness of this process to degrade these kinds of toxic compounds. The total lignin content decreased in GM-V and GML-V, whereas an increase in this compound was observed in BVS-V.

Figures 2(a) and 2(b) show the adsorbed pesticide percentages for the initial substrates and the vermicompost products. In the initial substrate, the higher percentages correspond to the non-ionic pesticides imidacloprid and diuron, with the lowest water solubility. In contrast, lower percentages were found in the anionic sulphonylurea herbicides (M, S, and F). According to the Henderson-Hasselbach concept, this behaviour can be attributed to the pK_a values of these pesticides (figure 1) with pH values of 6.3, equivalent to the values of the non-vermicomposted wastes (table 1); the S and F molecules remain around 10% and 1% undissociated; and metsulfuron-methyl is completely dissociated. At higher pH values, as in the final products (table 1), all these herbicide molecules are expected to be completely dissociated, with a subsequent decrease in percentage sorption (figure 2b). On the other hand, the competitive sorption of water molecules by the soil from the solution can

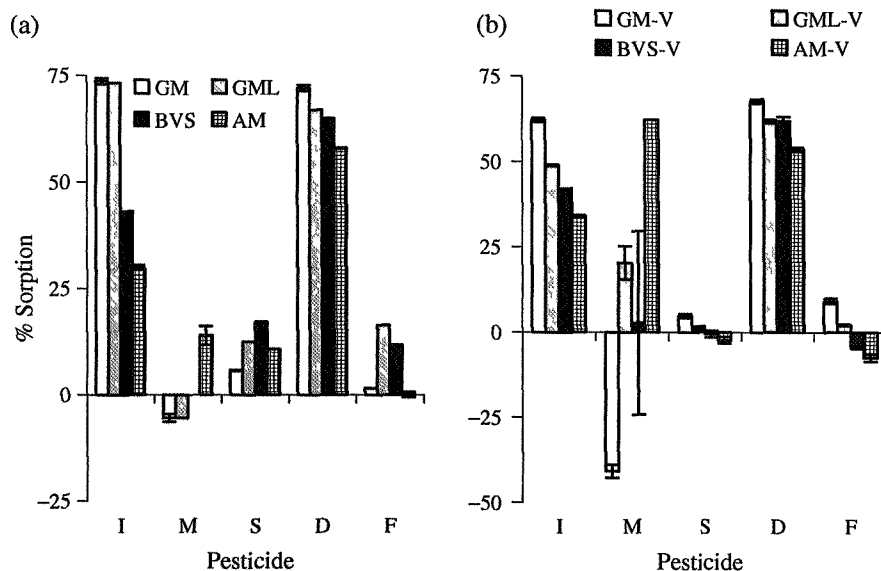


Figure 2. (a) Sorption percentages of imidacloprid (I), metsulfuron-methyl (M), sulfuron-methyl (S), diuron (D) and flazasulfuron (F) by the initial substrates and (b) their correspondent vermicomposts.

contribute to the negative sorption observed. The large standard deviation and the negative values in the sorption of metsulfuron-methyl (figure 2b) can also be explained by the appearance of an interference peak at 4.4 min in the chromatogram of the standard solution containing all the pesticides. This peak shows a similar UV spectrum to that obtained for the flazasulfuron molecule. Studies of the stability of the standards of I, M, S, D, and F in aqueous solution confirm the degradation of flazasulfuron with the presence of a metabolite at 4.4 min with the same UV spectrum of the interference peak.

Figures 3(a) and (b) show the sorption isotherms in the initial substrates and vermicomposted products used as sorbents of confidor (CF) and diurokey (DK), two formulations of I and D pesticides which showed the highest affinity for tested organic sorbents. Sorption isotherms fit well with the Freundlich model (equation (1)); the corresponding data are shown in table 2.

$$X = K_f C_e^{1/n} \quad (1)$$

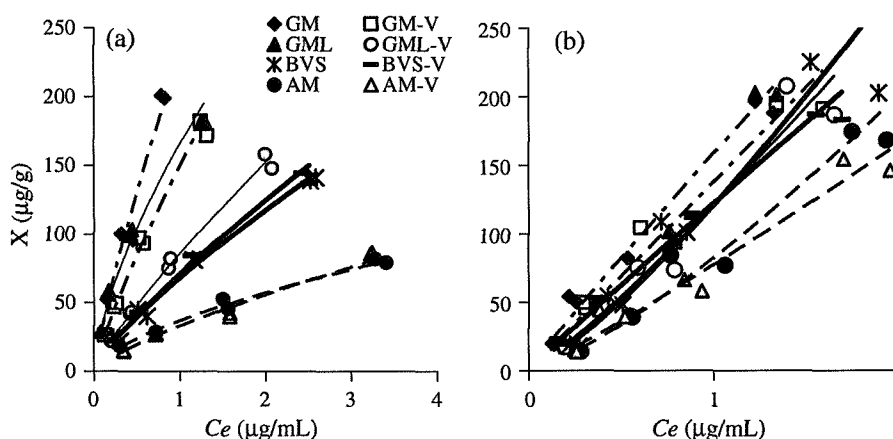


Figure 3. Amount sorbed (X) of (a) confidor and (b) diurokey at the corresponding equilibrium concentrations (C_e) by the initial substrates and their correspondent vermicomposts.

Table 2. Freundlich sorption coefficients (K_f and $1/n$), the determination coefficient and normalized K_{oc} values for the sorption of confidor and diurokey in the initial substrates and the vermicomposted products.

Wastes	Confidor (CF)				Diurokey (DK)			
	$K_f^a \pm SE$	$1/n \pm SE^b$	R^2	K_{oc}	$K_f^a \pm SE$	$1/n \pm SE^b$	R^2	K_{oc}
GM	231 ± 18.49	0.83 ± 0.05	0.980	486	158 ± 19.35	0.94 ± 0.09	0.956	333
GML	166 ± 8.92	0.67 ± 0.03	0.984	337	147 ± 7.91	1.28 ± 0.05	0.988	299
BVS	62 ± 3.14	0.78 ± 0.05	0.973	129	121 ± 12.18	1.24 ± 0.12	0.948	251
A + M	37 ± 0.85	0.63 ± 0.02	0.990	77	82 ± 5.79	1.29 ± 0.09	0.971	170
GM-V	149 ± 4.76	0.83 ± 0.02	0.995	433	138 ± 10.80	0.99 ± 0.07	0.972	401
GML-V	86 ± 1.27	0.83 ± 0.02	0.998	307	121 ± 8.87	1.15 ± 0.08	0.975	432
BVS-V	71 ± 1.63	0.82 ± 0.03	0.994	241	122 ± 7.47	0.96 ± 0.06	0.978	414
AM-V	33 ± 1.04	0.76 ± 0.04	0.985	113	77 ± 0.79	1.09 ± 0.12	0.933	264

^a Units of $K_f = (\mu\text{g}^{1/n-1} \text{mL}^{-1} \text{g}^{-1})$ ^b SE standard error of the mean

Confidor gave sorption L-type isotherms ($1/n < 1$), while DK described C-type ($1/n \sim 1$) and S-type ($1/n > 1$) isotherms according to the Giles classification [24]. In general, the sorption capacity of both untreated and vermicomposted organic wastes, assessed from K_f values, follows the order: GM > GML > BVS > AM; confidor showed greater differences for K_f values.

Sorption of confidor by vermicomposts decreased 35%, 48% and 16% respective to the initial substrates GM, GML and AM, respectively. However, there was an increase of 14% in the case of BVS-V. These changes were lower for diurokey (table 2). The reductions in K_f values could be related to the decrease in TOC values (table 1) as described by other authors [3]. However, in the vermicompost BVS-V, the K_f values increased; thus, one must consider the increments obtained in the HA, FA and lignin contents. Since the TOC content of these wastes is similar, the dispersion of K_{oc} values, determined as $K_{oc} = K_f / \text{TOC} \times 100$, ranged to the same extent as K_f [25].

Correlations between K_f values and chemical parameters of these wastes, untreated or vermicomposted (given in table 1), reveal a significant negative correlation with FA, and more significant for DK ($r = -0.88$, $p < 0.01$) than for CF ($r = -0.75$, $p < 0.05$). Nevertheless, there is no significant correlation with the HA fraction nor with the humification rate (HR). K_f values also correlate negatively with the TEC ($r = -0.74$ (CF), $r = -0.77$ (DK), $p < 0.05$) and indicate the inverse relationship between the pesticide sorption and the dissolved organic carbon content. The TOC content, polyphenols content, and C/N ratio were not correlated significantly. Significant positive correlations were obtained with lignin content for CF ($r = 0.93$, $p < 0.01$) and DK ($r = 0.83$, $p < 0.05$), which explain 86% and 68% of the variability in K_f , respectively.

The humification rate (table 1) indicated the formation of humic-like substances during vermicomposting. The sorption capacity of hydrophobic pesticides increases with the humification degree of soil OM or the evolution of exogenous OM added to the soils [3]. This increase in pesticide sorption with the humification degree was not observed, except for confidor in BVS-V (table 2). The extent of sorption is also related to the composition, structure, and functional properties of the humic-like substances in composts and vermicomposts [4].

On the other hand, the lignin content in all cases is higher than HA or FA. The surface area due to the degree of polycondensation of this material and the presence of a variety of functional group with different reactivity, like aromatic ring bearing polyphenols, hydroxyl constituents, carbonyl, etc. [26], could explain the significant relationship obtained in the confidor and diurokey sorption. In fact, pesticides can be incorporated into lignin and form unextractable residues that resist solubilization [26, 27]. This supports the greater sorption capacity of these pesticides by GM and GML that have lignin contents of 502 g kg^{-1} and 447 g kg^{-1} , respectively. The lower K_f values in the vermicomposts GM-V and GML-V could be attributed to the loss during vermicomposting of lignin (14% and 17%, respectively) and total organic carbon (TOC) (27% and 43%, respectively).

The initial substrates BVS and AM show a lower lignin content ($168\text{--}200 \text{ g kg}^{-1}$) and consequently lower K_f values. Nevertheless, after vermicomposting, there is an increase in K_f values for confidor in BVS-V, which was not observed for diurokey. In both cases, the loss of TOC (38–39%) cannot be the only explanation for this sorption behaviour. For confidor, the increment in BVS-V can be related to the increase

in TEC, HA, FA, and lignin content. In the case of AM-V, the lignin content remains constant after vermicomposting, and the slight reduction observed in the K_f values for both pesticide formulations can be due to the lower TEC, HA, and FA recorded in this vermicompost.

The humification process of these wastes in soil could modify the sorption capacity of these pesticides. Thus, the evolution of these wastes in the amended soil, previous to the addition of the pesticides, will also be studied.

4. Conclusions

The vermicomposting process was more effective for agro-industrial wastes with a low lignin content. The sorption capacity of wastes from olive oil, winery, and alcohol industries, natural or previously vermicomposted, were low for the anionic herbicides with respect to hydrophobic pesticides. Non-ionic pesticides are retained mainly in the lignin fractions of these wastes.

Acknowledgements

This study was financed by the 'Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología' (CICYT) through project REN2003-04693 and the 'Consejería de Educación y Ciencia' of Junta de Andalucía (project CAO01-007). E. Romero and J.D. Fernández thank the Science and Technology Ministry of Spain the 'Ramón y Cajal' research contract and the FPI doctoral grant, respectively. The authors also thank T. Summerville, for the English correction of this manuscript.

References

- [1] G.C. Dtos, E. Romero, F. Sánchez-Rasero. *J. Soil Sci.*, **43**, 99 (1992).
- [2] L. Sánchez, E. Romero, A. Peña. *Chemosphere*, **53**, 843 (2003).
- [3] E. Iglesias-Jimenez, E. Poveda, M.J. Sánchez-Martín, M. Sánchez-Camazano. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 117 (1997).
- [4] V. D'Orazio, E. Loffredo, G. Brunetti, N. Senesi. *Chemosphere*, **38**, 183 (1999).
- [5] E. Romero, E. Benítez, R. Nogales. *Water Air Soil Pollut.*, **165**, 153 (2005).
- [6] E. Benitez, R. Melgar, H. Sainz, M. Gómez, R. Nogales. *Soil Biol. Biochem.*, **32**, 1829 (2000).
- [7] C. Elvira, L. Sampedro, E. Benítez, R. Nogales. *Bioresour. Technol.*, **63**, 205 (1998).
- [8] E. Benitez, R. Nogales, C. Elvira, G. Masciandaro, B. Ceccanti. *Bioresour. Technol.*, **67**, 297 (1999).
- [9] C. Garcia, J.A. Pascual, E. Mena, T. Hernández. *Bioresour. Technol.*, **95**, 215 (2004).
- [10] G. Ait Baddi, J.A. Albuquerque, J. González, J. Cegarra, M. Hafidi. *Int. Biodeter. Biodegrad.*, **54**, 39 (2004).
- [11] I.D. Black, R.N. Pederson, A. Flynn, M. Moerkerk, C.B. Dyson, R. Kookana, N. Wilhelm. *Austr. J. Exp. Agric.*, **39**, 465 (1999).
- [12] C.D.S. Tomlin. *The Pesticide Manual*, 11th Edn, British Crop Protection Council, Alton, UK (1997).
- [13] P.A. Hargreaves, B.W. Simpson, L.J. Rudle, R. Packett, D.M. Hogarth. *Conference of the Australian Society of Sugar Cane Technologists*, pp. 287–293, Editorial Services, Brisbane, Australia (1999).
- [14] D.I. Gustafson. *Pesticides in Drinking Water*, Van Nostrand Reinhold, New York (1993).
- [15] E. López Capel, R.M. Wilkins, F. Flores-Cespedes, M. Grazia Camisa. Comparison of sorption and degradation of imidocloprid in soils from a green house and an open field in Spain, paper presented at the The BCPC Conference: Pests and Diseases, Proceedings of an International Conference, Vol. 1, pp. 381–386, Brighton, UK (2000).
- [16] R. Wilkins. *Fresenius Environ. Bull.*, **9**, 638 (2000).
- [17] S. Gupta, V.T. Gajbhiye, Kalpana, N.P. Agnihotri. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **68**, 502 (2002).

- [18] L. Sánchez, L. Delgado, R. Melgar, R. Nogales, A. Peña. Modificación de la adsorción de terbutilazina en suelos por enmiendas con residuos de la agro industria del olivar, paper presented at the 8° Symposium Nacional de Sanidad Vegetal: Un nuevo Marco, pp. 395–404, CAP, Junta de Andalucía, Seville, 2003.
- [19] A. Albarrán, R. Celis, M.C. Hermosin, A. López-Piñero, J. Cornejo. *Chemosphere*, **54**, 717 (2004).
- [20] MAPA (Métodos oficiales de análisis) Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Tomo III, Madrid (1986).
- [21] K. Khazaal, J. Boza, E.R. Ørskov. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **49**, 133 (1994).
- [22] H. Goering, P. Van Soest. *USDA Agriculture Handbook*, pp. 1–12, USDA-ARS, Washington, DC (1970).
- [23] F. Tittarelli, A. Trinchera, F. Intrigliolo, A. Benedetti. In *Microbiology of Composting*, H. Insam, N. Riddech, S. Klammer (Eds), pp. 397–406, Springer, Berlin (2002).
- [24] C.H. Giles, J.H. McEwan, S.W. Nakhwa, D. Smith. *J. Chem. Soc.*, **111**, 3973 (1960).
- [25] E. Romero, M. Barfouse, F. Sánchez-Rasero, A. Peña, C. de la Colna, G. Dios. *J. Environ Qual.*, **26**, 466 (1997).
- [26] B.M. Lange, N. Hertkorn, H. Sandermann. *Environ Sci. Technol*, **32**, 2113 (1998).
- [27] H. Sandermann. *Pest Manage. Sci.*, **60**, 613 (2004).



CAPÍTULO 4

*EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ADSORCIÓN DE
IMIDACLOPRID Y DIURÓN EN OCHO SUELOS AGRÍCOLAS
PROCEDENTES DEL SURESTE DE EUROPA MEDIANTE
EL USO DE DIFERENTES MODELOS CINÉTICOS*

Resumen

Los estudios sobre las cinéticas de adsorción son muy importantes para la comprensión de los procesos y parámetros involucrados en la adsorción de contaminantes en suelos. Las cinéticas de adsorción de imidacloprid y diurón en 8 suelos de diferentes características, todos con bajo contenido en carbono orgánico, fueron investigadas. La cinética de reacción de pseudo-segundo orden se correlaciona muy bien con la cinética experimental ($R^2 > 0,98$), en todos los suelos. La cantidad adsorbida de diurón fue superior a la presentada por imidacloprid. Debido al bajo contenido en carbono orgánico de los suelos, no se encontró una correlación entre el carbono orgánico y la cantidad adsorbida o alguno de los parámetros cinéticos para ninguno de los plaguicidas. La adsorción de imidacloprid se correlacionó con el contenido en arena, limo y con la capacidad de intercambio catiónico, mientras que ninguna correlación fue encontrada para diurón. Por tanto, las cinéticas de adsorción tuvieron lugar mediante diferentes mecanismos influenciados principalmente por el carácter químico del plaguicida. La determinación de los parámetros cinéticos mediante tres de los cuatro modelos utilizados (cinética de reacción de pseudo-segundo orden, ecuación de Elovich y modelo de Weber-Morris) demostraron ser de utilidad para distinguir los procesos que controlan la cinética de ambos pesticidas.

Evaluation of the Sorption Process for Imidacloprid and Diuron in Eight Agricultural Soils from Southern Europe Using Various Kinetic Models

J. D. FERNÁNDEZ-BAYO,* R. NOGALES, AND E. ROMERO

Department of Environmental Protection, Estación Experimental del Zaidín (CSIC) C/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada, Spain

Kinetic studies are of great concern for understanding the processes and parameters involved in the sorption of pollutants by soils. Sorption kinetics of imidacloprid and diuron in eight soils of different characteristics, with very low organic carbon content were investigated. Pseudosecond-order kinetic reactions closely correlate with the experimental kinetic ($R^2 > 0.98$) in all soils. The sorbed amount of diuron was higher than that for imidacloprid. The low OC content of these soils correlated neither with the sorbed amount nor with the kinetic parameters for both pesticides. Imidacloprid sorption was correlated with silt and sand content and cation exchange capacity (CEC); meanwhile for diuron, no correlation was found. Thus, sorption kinetics take place throughout different mechanisms related mainly to the chemical character of the pesticides. Sorption kinetic parameters determined using three of the four models selected (pseudosecond-order kinetic reactions, Elovich equation, and Weber–Morris models) have been shown to be worthy to distinguish the process controlling the sorption kinetic of both pesticides.

KEYWORDS: Soil; sorption kinetic; imidacloprid; diuron; texture; organic matter; surface area; modeling

INTRODUCTION

Sorption is the most promising option for removing organic compounds from aqueous streams and for controlling their behavior in soils (1). The sorption of pesticides in soils has been studied in apparent equilibrium systems at constant temperatures (2, 3). However, the pesticide-sorbent reaction may require days, weeks, or months to raise the equilibrium levels (4). The sorption kinetic is important since it controls the efficiency of the process. The literature presents various mathematical models where pesticide sorption has been treated as first-order processes, pseudofirst-order processes, and so forth (5) in order to recognize the time required to reach equilibrium, to investigate the mechanisms involved, and to identify the sorption type and matrix sorption capacity as well as the order and rate of the reaction (6). The sorption process, which is usually rapid initially and slows down later until it reaches the equilibrium stage, can be divided into three stages. The first stage is associated with the diffusion of the pesticide to the sorbent's surface, which is called film mass transfer or boundary diffusion of solute molecules. The second stage, known as particle diffusion, is a slower process because of the diffusion of the solute within internal mesopores, micropores, or capillaries of the sorbent's internal structure, except for small sorbed amounts that appear

on the external surface. The third stage is the sorption of the solute in the interior surface of the sorbent through mass-action-controlled mechanisms where a rapid uptake occurs (5, 7, 8).

Sorption of some pesticides has also been shown to increase with the aging of soil residues (9–11). This phenomenon affects the distribution of chemicals within sorption sites and may lead to unexpected persistence of these compounds in the environment and a decrease in the potential risk of leaching to deeper layers (12). This increment in sorption with time has been related to the pesticide sorption kinetic and diffusion processes. For these reasons, kinetic studies are of great interest in understanding the mechanisms related to the situation and persistence of chemicals in the soil. These studies are also important because the simulation models use sorption parameters to predict the location of pesticides in the field and in the registration process because of the high sensitivity of these models to sorption parameters (1). Some of the discrepancies found between the simulated fate with the theoretical model and pesticide behavior in the field may be related to the sorption kinetics and diffusion processes of these chemicals in the soil. However, relatively few studies relating to the sorption kinetic of pesticides in soils can be found (6, 13–15).

The objective of this work is to study the sorption kinetics of imidacloprid and diuron in eight different agricultural soils with low organic carbon (OC) content from Spain. This type of soil is common in southern Europe where 74% of this agricultural area is made up of soils with less than 2% OC content in the top soil (16). Different kinetic models were

* To whom correspondence should be addressed. Estación Experimental del Zaidín (CSIC), C/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada, Spain. Tel: 0034 958 181600, ext. 126. Fax: 0034 958 129600. E-mail: jesus.bayo@eez.csic.es.

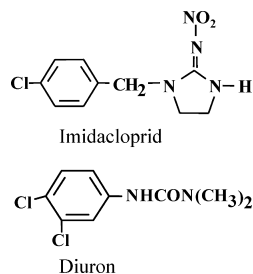


Figure 1. Pesticide molecules.

Table 1. Soil Characteristics

soil	sand-silt-clay %	OC %	pH	CEC cmol _c kg ⁻¹	surf. ^a area m ² g ⁻¹
S1	84-10-6	0.26	7.9	4.51	13.4
S2	70-17-13	0.36	6.0	12.86	49.5
S3 ^b	14-51-35	0.93	8.2	28.77	127.0
S4	64-14-22	0.24	5.4	13.82	57.9
S5	29-54-17	0.89	8.2	12.28	37.9
S6 ^c	10-35-55	1.15	7.5	12.85	86.6
S7	47-34-19	0.78	5.9	22.61	71.7
S8	74-13-13	2.50	5.6	20.54	42.5

^a Surface. ^b Dominant exchangeable cation in S3 is Ca²⁺ (43.35 cmol_c kg⁻¹).

^c The carbonate content in S6 is 40.08%.

applied to determine the kinetic parameters, sorption mechanisms, and the potential rate-controlling stage. Two commercial formulations of imidacloprid, a systemic chloronicotinic insecticide, and diuron, a phenylurea herbicide, commonly used in southern Europe in both greenhouse and field crop systems, were selected.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals. Confidor 200 SL 20% w/v (Bayer) is the commercial formulation of imidacloprid (1-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-N-nitro-2-imidazolidinimine), with a water solubility of 610 mg L⁻¹ and *K*_{ow} of 3.72 (20 °C). Diurokey 80% w/w (Industrial Chemical Key S.A) is the commercial formulation of diuron (*N'*-(3,4-dichlorophenyl)-*N,N*-dimethylurea), with a water solubility of 42 mg L⁻¹ and *K*_{ow} of 700 (25 °C) (Figure 1) (17). Previous assays did not show differences in sorption behavior when active ingredients were used; some data are already published (18).

Soils. Eight agricultural soils, with different characteristics, from the provinces of Jaen (S₁, S₂, S₃, and S₄), Granada (S₅ and S₆), Murcia (S₇), and Pontevedra (S₈) were used. Soil properties (Table 1) of the samples from the first 20 cm, which were air-dried and sieved (<2 mm sieve), were determined following validated official methods (19). Surface area was determined using the Keeling method (20). Mineralogy of the soil samples was investigated by X-ray diffraction (XRD) using an Analytical X'Pert Pro diffractometer equipped with an X'Celerator detector. Experimental conditions were fixed at 45 kV and 40 mA for Cu Kα radiation. Bulk sample patterns were recorded in powder mounts and clay fraction patterns in oriented mounts.

Kinetic Studies. Duplicate 5 g soil samples were placed in 25 mL glass tubes and mixed with 20 mL of an aqueous standard solution containing diuron and imidacloprid at 2.5 mg L⁻¹. The tubes were shaken at 15 ± 1 °C on a rotary shaker for 10, 20, and 40 min, and for 1, 2, 6, 12, 24, 48, and 72 h, and centrifuged at 1811g for 20 min at 15 °C. The supernatant was analyzed using High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) as described below. The standard solutions containing the pesticides were run in parallel for control purposes. Blanks without pesticides were used for each sample. The sorbed pesticide amounts were calculated on the basis of the difference between the supernatant concentration in each sample and the control solutions.

Chemical analysis. A High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) Series 1100 (Agilent, Germany) equipped with a diode-array detector was used. An analytical column (Zorbax Rx-C8 150 × 2.1 mm i.d.) packed with diisopropyl *n*-octyl (5 μm) and an Eclipse XDB-

C8 (12.5 × 2.1 mm i.d.) guard cartridge packed with the same material were used. The operating conditions are described elsewhere (21). Aqueous samples were passed through 0.45 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) filters (PALL, Life Sciences) for analysis.

Sorption Kinetic Models. *Hyperbolic Model.* This model in its linear form (eq 1) allows us to work out some sorption parameter values by adjusting it to the experimental data:

$$\frac{1}{q_t} = \left(\frac{B}{q_{\max}} \times \frac{1}{t} \right) + \frac{1}{q_{\max}} \quad (1)$$

where q_t is the sorbed quantity (μg g⁻¹) at time t , q_{\max} (μg g⁻¹) is the maximum sorbed amount, t is the solid-solution contact time (h), and B is an empirical constant.

Pseudosecond-Order Kinetic Reaction Model. This model considers that sorption capacity could be proportional to the number of active sites occupied on the soil (eq 2):

$$\frac{dq}{dt} = k \cdot (q_{\max} - q_t)^2 \quad (2)$$

where q_t and q_{\max} were defined as in the hyperbolic model, and k is the reaction-rate constant (μg g⁻¹ min⁻¹). Separating the variable in eq 2, integrating it with the appropriate boundary conditions, and rearranging the terms, the following linear equation was obtained:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k \cdot q_{\max}} + \frac{t}{q_{\max}} \quad (3)$$

Elovich Equation. This equation considers that the sorption kinetic takes place in two phases: a fast initial reaction associated with the movement of the pesticide to the most accessible parts of the sorbent followed by a slower reaction due to particle diffusion in and out of the sorbent's micropores (6, 22). The linear form is written as follows (eq 4):

$$q = \frac{1}{Y} \ln(X \cdot Y) + \frac{1}{Y} \ln t \quad (4)$$

where q is the sorbed quantity, in μg g⁻¹, at time t , and X and Y are constants from the experiment carried out. The intercept [$1/Y \ln(X \cdot Y)$] coincides with the sorbed quantity (μg g⁻¹) during the fast phase, which was considered as the amount of pesticide adsorbed in 1 h, while the slope ($1/Y$) represents the slow sorption related to the duration of the second phase (23).

Weber-Morris Model. This equation considers that most of the sorption processes vary proportionally with $t^{1/2}$ (eq 5).

$$q = k \cdot t^{1/2} + C \quad (5)$$

In line with the other models, q (μg g⁻¹) is the amount of pesticide adsorbed per unit mass of soil at time t , where C is the intercept (μg g⁻¹), and k is the intraparticle diffusion rate constant (μg g⁻¹ min^{-1/2}).

Statistical Analysis. The results were statistically analyzed using Statgraphic Plus 5.1. (Statistical Graphics Corp, Princeton, NJ).

RESULTS

Sorption Kinetics. Sorption of imidacloprid and diuron by eight agricultural soil samples at different contact times was carried out (Figure 2). For both pesticides, sorbed amounts increased rapidly during the first minutes of solid-solution contact time, followed by much slower progress toward an apparent equilibration. In all soils, apparent equilibrium was reached within 6 h and then remained almost constant or showed slight increments. Nevertheless, during the initial contact time (from 0 to 1–2 h), the increments in the sorption of imidacloprid were smaller than those of diuron, especially in the case of S1, S2, and S4 soils, indicating that diuron sorption is more time-dependent. This dependency was also found by Nkedi-Kizza (24). Soil samples also showed larger sorption capacity for diuron, indicating greater affinity for this more hydrophobic

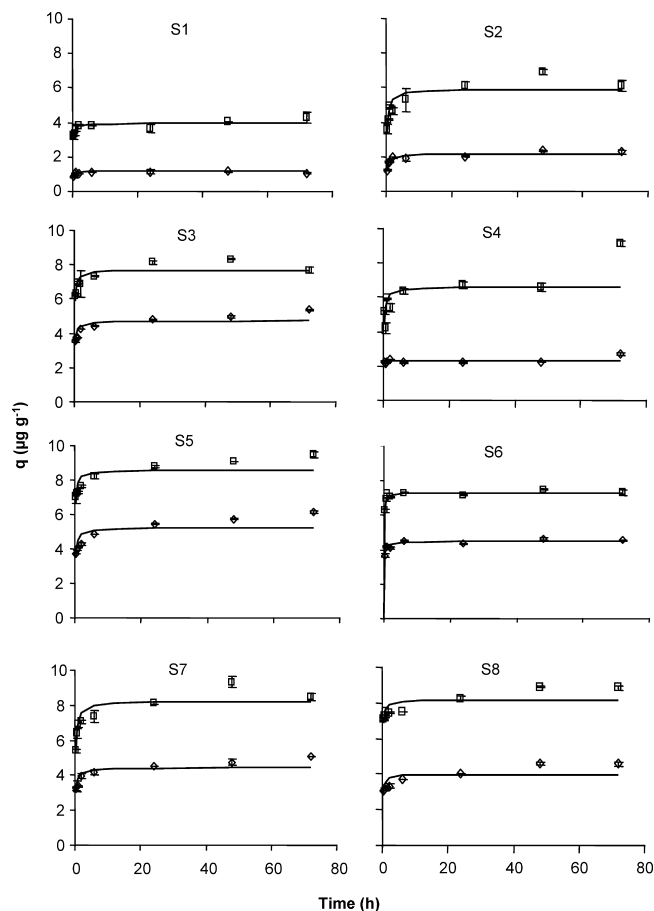


Figure 2. Sorption kinetics of imidacloprid (◇) and diuron (□) in the 8 soils. Symbols represent the experimental data, and lines represent the theoretical curves described by the hyperbolic model.

Table 2. Sorption Parameters from the Hyperbolic Model and Pseudosecond-Order Reaction Equation Applied to Express the Sorption Kinetics of Imidacloprid and Diuron on Eight Soils

soil	imidacloprid				diuron					
	hyperbolic model	q_{\max}^a	R^2	$k^b \times 10^{-3}$	R^2	hyperbolic model	q_{\max}^a	R^2	$k^b \times 10^{-3}$	R^2
S1	1.20	0.80	1.36	8.9	0.98	3.95	0.76	4.22	5.2	0.99
S2	2.17	0.93	2.30	9.8	0.99	5.91	0.87	6.55	6.9	0.99
S3	4.73	0.74	5.29	3.7	0.99	7.69	0.76	7.88	50.2	0.99
S4	2.32	0.11	2.57	5.9	0.98	6.63	0.44	8.31	1.0	0.98
S5	5.24	0.72	6.07	2.7	0.99	8.60	0.70	9.40	2.9	0.99
S6	4.49	0.85	4.59	15.6	0.99	7.32	0.87	7.31	128.1	0.99
S7	4.44	0.73	4.97	3.6	0.99	8.22	0.89	8.80	3.3	0.99
S8	4.00	0.63	4.53	4.3	0.99	8.19	0.55	8.96	3.1	0.99

^a q_{\max} units in $\mu\text{g g}^{-1}$. ^b k units in $\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$.

pesticide. In order to investigate the sorption process, kinetic parameters, and the sorption rate-controlling stage, different kinetic models were applied to experimental data.

Hyperbolic Model. This empirical model was previously applied to the study of the sorption of picloram and cyanazine by soils (25, 26). The determination coefficients (R^2), used to evaluate the appropriateness of fit, were low for imidacloprid and diuron (Table 2), with the lowest values ($R^2 < 0.70$) found for soil samples S4 and S8. The lack of fit for both pesticides could be related to the sorption increment observed during the solid–solution contact time (Figure 2). When a shorter contact time was considered (24 h), the R^2 values actually increased. Thus, for soil sample S1, R^2 values for imidacloprid and diuron

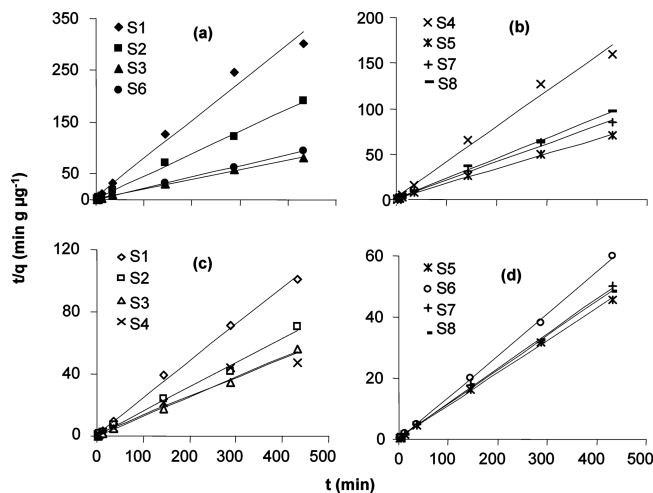


Figure 3. Pseudosecond-order sorption parameters of imidacloprid (a and b) and diuron (c and d) in the eight soils.

rose from 0.80 to 0.94 and from 0.76 to 0.81, respectively. However, for soil sample S4, with low OC content and the lowest R^2 value, a reduction in the solid–solution contact time did not improve R^2 values. Consequently, the hyperbolic model cannot explain the sorption kinetics of imidacloprid and diuron in the eight soil samples over the whole range of contact times.

Pseudosecond-Order Kinetic Reaction. Taking into account the previous results and assuming that sorption capacity could be proportional to the number of active sites occupied on the soil, this model was applied. The representation of t/q_t versus t (Figure 3) allowed us to work out q_{\max} and k values from the slope and intercept, respectively (27). The pseudosecond-order reaction fairly accurately described the experimental data, with R^2 values of over 0.98 (Table 3). Values of q_{\max} were slightly higher than those obtained with the hyperbolic model but displayed larger variations for diuron.

There was no correlation between q_{\max} for imidacloprid and the OC content (Figure 4a). Nevertheless, three different groups were observed. The first group, with the lowest q_{\max} and lowest OC values, corresponded to S1, S2, and S4 soil samples (sorbed amount of imidacloprid ranged from 10% to 25%). The second group, with higher q_{\max} values and a sorbed rate of 40–50%, corresponds to soil samples with higher OC content (S3, S5, S6, and S7 soil samples). In the third group, with the highest OC content, is the sandy loam soil sample S8, where the q_{\max} value was lower than could be expected given its OC content of 2.5%. This could be attributed to its high sand content or to the different nature of its OC. The q_{\max} values for imidacloprid significantly correlated with silt content ($r = 0.84$, $P < 0.01$) and was inversely related to sand content ($r = 0.74$, $P < 0.05$) (Figures 4b and c). A relatively close correlation between q_{\max} values and cation exchange capacity (CEC) of the soils was obtained ($r = 0.97$; $P < 0.01$) except for the S5 and S6 soils, which had a higher sorption capability than those expected, given their CEC values (Figure 4d).

The kinetic rate constants (k) for imidacloprid and diuron were different (Table 2). The highest sorption rate constant (k) for imidacloprid corresponds to the clay soil S6 ($k = 15.6 \times 10^{-3} \text{ g } \mu\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$). The lowest k values were found in S3, S5, S7, and S8 soil samples ($k < 5 \times 10^{-3} \text{ g } \mu\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$), with OC contents close to or higher than 1%. Intermediate k values correspond to S1, S2, and S4 soil samples with very low OC content (<0.36%). A significant inverse correlation was observed between the reaction rate constant k and q_{\max} values

Table 3. Elovich Equation Parameters, Determination Coefficients (R^2) and Percentages of Imidacloprid and Diuron Sorbed in the Fast Phase by the Soil Samples

soil	imidacloprid				diuron			
	$[(1/Y) \ln(X \cdot Y)] (\mu\text{g g}^{-1})$	% ^a	1/Y	R^2	$[(1/Y) \ln(X \cdot Y)] (\mu\text{g g}^{-1})$	% ^a	1/Y	R^2
S1	0.99	87	0.07	0.75	3.52	97	0.14	0.72
S2	1.64	81	0.16	0.84	4.42	72	0.51	0.90
S3	3.87	81	0.31	0.97	6.67	82	0.36	0.87
S4	2.22	102	0.04	0.27	5.27	78	0.59	0.78
S5	4.10	75	0.44	0.99	7.37	84	0.46	0.99
S6	4.03	93	0.14	0.68	6.83	95	0.15	0.55
S7	3.55	78	0.38	0.95	6.51	80	0.60	0.86
S8	3.27	82	0.29	0.95	7.34	89	0.33	0.90

^a Percent sorbed during the initial phase (1 h) with respect to the sorbed amount at 24 h.

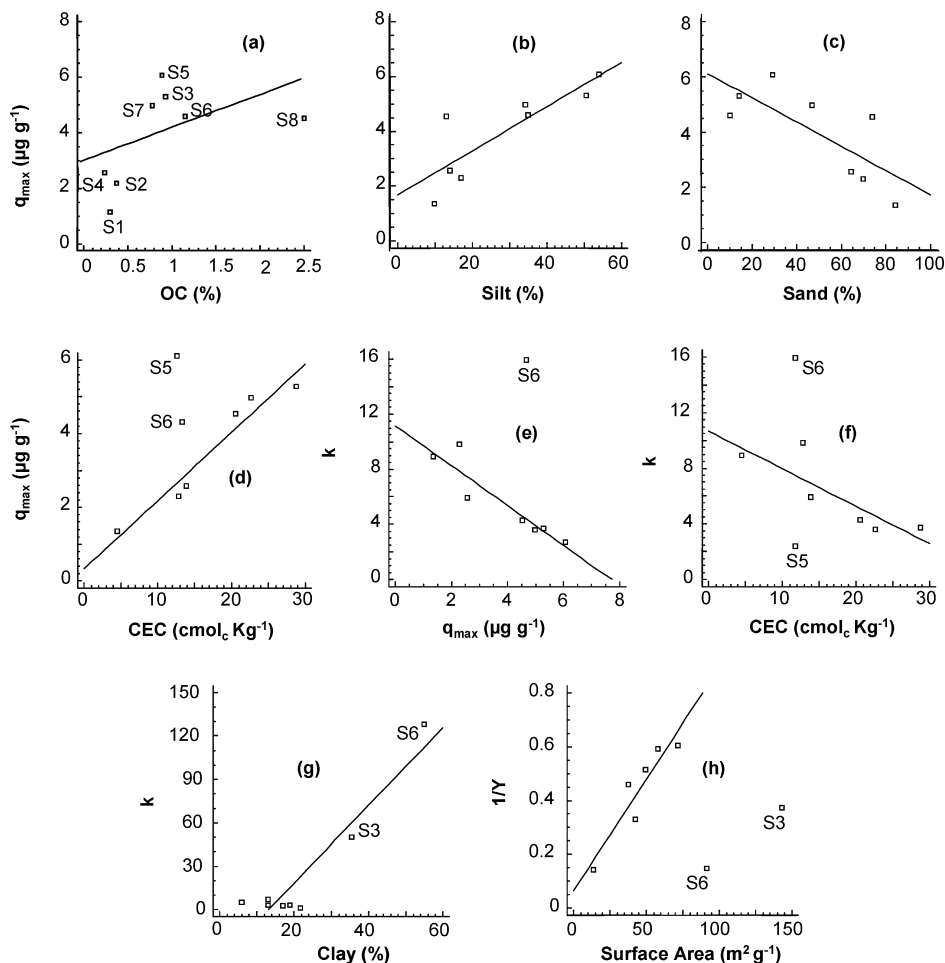


Figure 4. (a, b, c, d, e, and f) Relationship between pseudosecond-order sorption parameters of imidacloprid and soil properties. (g) Relationship between pseudosecond-order kinetic reaction rate of diuron and clay content. (h) Relationship between slow sorption rate of diuron in Elovich model and surface area.

for imidacloprid (**Figure 4e**) when clay soil S6 was omitted ($r = 0.92$, $P < 0.01$). Furthermore, k values for imidacloprid also inversely correlated with the CEC of the soils except for S5 and S6 soils ($r = 0.85$; $P < 0.05$) (**Figure 4f**).

Unlike imidacloprid, no relationship was found between q_{\max} values for diuron and soil properties. However, for both agrochemicals, the lowest q_{\max} value corresponded to the loamy sand soil S1 with the lowest OC. The higher q_{\max} value corresponded to the silt loam soil S5, which did not have the highest OC (**Table 1**). Despite the fact that the literature describes that soil organic carbon chemistry plays a major role in determining pesticide affinity (28, 29), our results reveal that soil OC content cannot by itself explain the sorption behavior of these assayed pesticides.

Values of k for diuron showed small variations among soils with low clay content (**Table 2** and **Figure 4g**) except in soils S3 and S6, with k values much higher than could be attributed to their higher clay content and surface area (**Table 1**). A close correlation ($r = 0.94$; $P < 0.01$) was observed between the sorption rate constant k for diuron and the soil clay content (**Figure 4g**).

Since the results of this model point to different sorption mechanisms for both pesticides depending on soil properties, other kinetic models were used to study the different sorption phases or mechanisms that control their sorption kinetics.

Elovich Equation. This model did not explain the experimental sorption kinetic for imidacloprid in sandy soil S4 and in clay soil S6 ($R^2 < 0.75$) because the sorbed rates at the initial

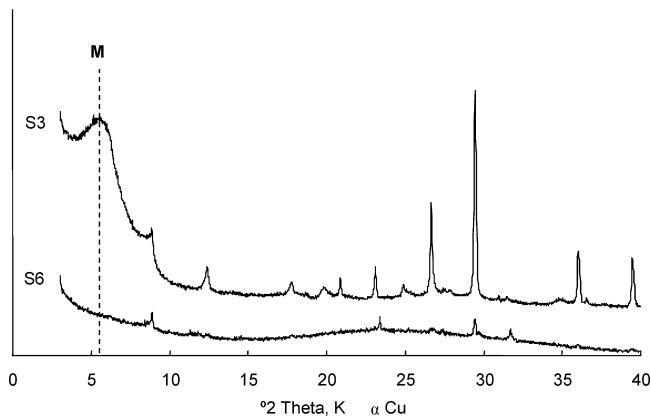


Figure 5. X-ray diffractograms of the clay fractions in oriented mount of soils S3 and S6 (M = montmorillonite).

stage (1 h) were higher than 90% (Table 3). This correlates with the straight line for soil S4 with a longer solid–solution contact time (Figure 2). However, in clay soil S6 with moderate OC content, there was a slight increment at the initial sorption stage, indicating a different sorption mechanism for imidacloprid for this clay soil. Soils with $R^2 > 0.75$ sorbed lower amounts of this insecticide at the initial sorption stage (75%–87%), pointing to additional sorption during the solid–solution contact time, which could be related to OC content and the clay mineral component of these soils (30). X-ray diffraction analysis of clay soils (Figure 5) revealed a higher smectite content in soil S3 than in soil S6. These swelling clays could explain the higher values for q_{\max} and k in soil S3 compared to clay soil S6 and possibly a different sorption mechanism for this polar molecule in these clay soils.

In the case of diuron, the lowest R^2 values in Elovich adjustment correspond to the sandy and clay soils, S1 and S6, with sorption rates of close to 100% in the initial phase. In soils with better fit ($R^2 > 0.78$), the amount of herbicide sorbed during the fast phase concurred with data produced by Inoue et al. (6).

In general, Elovich coefficient ($1/Y$) values for imidacloprid were lower than those obtained for diuron (Table 3) and much lower for S1, S2, and S4 soils with lower OC content (Table 1). The plotting of $1/Y$ values for diuron against soil surface area (Figure 4h) reveals a significant correlation when the silty clay soil S3 and the clay soil S6 were omitted ($r = 0.93$; $P < 0.01$). Thus, the nature of the soil surface seems to play an important role in the second stage of the sorption kinetic for diuron.

Finally, to confirm if intraparticle diffusion is the sorption rate controlling stage, the Weber and Morris model was applied (31).

Weber and Morris Model. This model has been widely used to investigate sorption kinetics of inorganic and organic compounds by different sorbents (32) but has hardly ever been applied to pesticides. According to this model, plotting q against $t^{1/2}$ should produce a straight line with a slope k and pass through the origin when the intraparticle diffusion process controls the sorption mechanism. Values for intercept C give an idea of the thickness of the boundary layer, meaning that the larger the C values, the greater the boundary layer effect (33).

Kinetic parameters, given in Table 4, show a straight line in the case of the sorption of imidacloprid by S3, S5, S7, and S8 soils, but the intercept C does not go through the origin (Figure 6a). Thus, contrary to what would be expected for a well-agitated batch system, the boundary layer surrounding the particles has an important effect on the initial sorption kinetics

Table 4. Weber–Morris Model Parameters for Imidacloprid and Diuron and Their Respective Determination Coefficients (R^2)

soil	imidacloprid			diuron		
	C ($\mu\text{g g}^{-1}$)	k ($\mu\text{g g}^{-1} \text{min}^{-0.5}$)	R^2	C ($\mu\text{g g}^{-1}$)	k ($\mu\text{g g}^{-1} \text{min}^{-0.5}$)	R^2
S1	0.94	0.006	0.75	3.43	0.012	0.67
S2	0.16	0.013	0.71	4.15	0.041	0.77
S3	3.68	0.026	0.91	6.50	0.028	0.69
S4	2.17	0.005	0.41	4.82	0.053	0.76
S5	3.81	0.037	0.95	7.08	0.039	0.94
S6	4.01	0.010	0.57	6.86	0.010	0.37
S7	3.35	0.028	0.90	6.20	0.046	0.78
S8	3.07	0.025	0.97	7.09	0.029	0.95

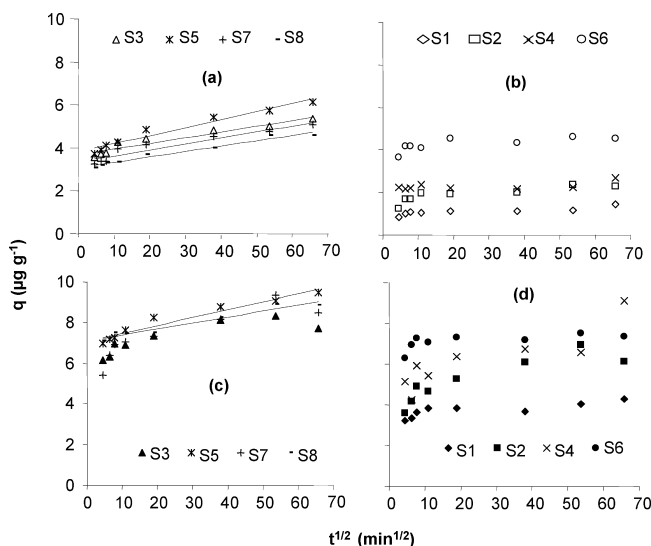


Figure 6. Weber and Morris plots for imidacloprid (a and b) and diuron (c and d) for the eight soils.

of this insecticide (27). The initial curved portion in the graph's shape for sandy soil samples S1 and S2 indicates an external mass transfer of the insecticide from the bulk solution to the soil particle surface (Figure 6b). As was observed with the Elovich, sorption data remained almost constant from the beginning in the case of S4 and S6 soils and indicate that imidacloprid sorption should take place in one phase.

The Weber–Morris parameters for the diuron sorption kinetic (Table 4, Figure 6c and d) follow a straight line for soils S5 and S8 ($R^2 > 0.94$). For the rest of the soils, the initial curved portion was more apparent for diuron than for imidacloprid, indicating a comparatively more important boundary layer effect surrounding the particles for diuron.

Finally, the anomalous data at the last time for S4 (Figure 2) could be related with degradation processes, although it was not detected in the control samples.

DISCUSSION

The lack of fit observed in the hyperbolic model after a solid–solution contact time of more than 24 h was also described by Grébil et al. (13) in the final stage of the sorption kinetic for tebutam in soil. This equation is therefore not useful to explain sorption of diuron or imidacloprid in soil over a long solid–solution contact time. By contrast, the pseudosecond-order kinetic equation was able to describe all sorption kinetics satisfactorily for both agrochemicals. However, different sorption processes seem to be involved in the overall reaction, as was indicated by the different models assayed.

The lack of correlation of q_{\max} for imidacloprid and diuron with OC content could be attributed to the low OC values for the soils studied (Table 1). These low values are frequently found in soils from southeast Europe (16). For this reason, other soil properties, usually masked by OC content, can play an important role in sorption dynamics.

The correlations found between q_{\max} for imidacloprid with silt and sand content (Figure 4b and 4c) revealed the relative importance of the exposed surface to the soil particles in the sorption process. Moreover, q_{\max} and sorption reaction rate k for imidacloprid were related to the CEC of the soils, except for soils S5 and S6. Cox et al. (30) suggested that imidacloprid can be protonated at the soil surface in the -NH group of the imidazol ring and then be sorbed by cation exchange. This sorption mechanism will take place more easily in soils with low pH values (S2, S4, S7, and S8). At normal soil pH levels (S1 and S3), only small amounts of imidacloprid cation would be present at a given time but would be continually produced to retain equilibrium as it is sorbed. Kagabu and Matsuno (34) stated that the imidazolidine nitrogen of imidacloprid should be partially positively charged due to the force of a neighboring electron-withdrawing group such as nitroimine. Imidacloprid can also produce hydrogen-bonding or ion-dipole interactions with water or ions (Ca^{2+} , K^{+}) in the montmorillonites of S3 (Figure 5) through the $-\text{NO}_2$ group (35). However, its chloropyridine component was said to be capable of participating in the hydrogen-bonding process (34). In addition, the intraparticle diffusion observed in the Weber and Morris model for soil S3 can be related not only to OC content but also to its expanding clay minerals.

The noncorrelated values of q_{\max} and k for imidacloprid in soils S5 and S6 (Figure 4d and 4f) show a different sorption behavior pattern due to their intrinsic properties. Because the silt loam soil S5 is composed of larger aggregates or particles, the reaction rate of the total sorption process will decrease with increasing aggregate size, while its larger sorption capacity may be due to the nature of the particles and OC. However, the sorption behavior of soil S6 can be explained by the high clay content.

The inverse relationship between q_{\max} and k for imidacloprid (Figure 4e) indicates a slower sorption rate in soils with higher OC content (S3, S5, S7, and S8). It is in these soils that the Weber and Morris model demonstrates intraparticle diffusion processes. In sandy soils S1, S2, and S4, showing the lowest OC content, there is a relatively high reaction rate using the pseudosecond-order kinetic method (Table 2). In soil S4, this high reaction rate is in line with the Elovich results, where a high sorption value was observed in the first sorption stage. However, in soils S1 and S2, this sorption kinetic is slower because of the mass transfer process or molecule diffusion described in the Weber and Morris model (Figure 6b). The variation in the sorption behavior of soil S8 is attributed to the nature of the OC, which could be due to variations in soil conditions (temperature, humidity, etc.) as a consequence of the different weather conditions in northern Spain (36).

The Elovich equation and Weber-Morris model in soils S3, S5, S7, and S8 (Tables 3 and 4, and Figure 6a) confirmed the existence of a slow diffusion of these insecticide molecules to less accessible sites in soil with OC values of around 1%. A second imidacloprid sorption stage was also observed in similar soils (11).

In the case of diuron, important differences in the sorption kinetics were found compared with that for imidacloprid because of its chemical properties. The higher hydrophobicity of diuron

($K_{\text{ow}} = 700$) compared with that of imidacloprid ($K_{\text{ow}} = 3.24$) and its higher affinity with OC greatly increases its sorption rate (29). Ahmad et al. (37) showed that rather than soil OC content, aromaticity was a strong determinant of pesticide sorption in soil, which could partly explain the lack of correlation between OC content and sorption of diuron.

The high clay content, corresponding to a larger surface area, in soils S3 and S6, could explain the very high reaction rate constants of diuron in these soils (Table 2, Figure 4g). Nevertheless, unlike the case of imidacloprid, the type of clay did not affect the maximum amount sorbed. Furthermore, we can ignore the fact that these clay soils had a comparatively higher OC content compared to soils S4, S5, and S7, although the maximum amounts sorbed (q_{\max}) were lower. This reduction in the affinity of the organic matter with diuron in these clay soils could be related to a reduction in the sorption sites available due to organic matter-clay interactions. In addition, in case of soil S6, the CaCO_3 content (Table 1) could negatively affect the sorption efficiency of diuron by the soil OC (24). All these factors could explain the lack of correlation between the soil OC content and the maximum amount sorbed.

In sandy soils S1 and S2, the limited amount of diuron retained must be due to having the lowest OC levels and their high sand content. Regitano et al. (38) also observed that sandy soil with low OC content had fewer available sites to promote chlorotolonyl sorption.

The Elovich equation revealed a sorption kinetic for diuron in a single stage in soils S1 and S6 (Table 3). Because these soils have very different properties, it is difficult to attribute this sorption behavior to a specific soil property. Kookana et al. (39) stated that sorption in the initial stage takes place in reaction areas that depend on the types of soil and the accessibility of the pesticide molecule to them. Consequently, the high accessibility of diuron in soil S1 and its low sorption capacity could explain sorption in a single stage. In soil S6, the nature of the soil surface due to clays and OC enhances the sorption rate, as has already been observed with the pseudo-second-order kinetics (Figure 4g), which carries out sorption in one initial stage. The Weber and Morris model showed an important boundary layer effect for diuron and pointed out that the partition of this molecule also has a major influence on the initial sorption stage.

Finally, we can ignore the fact that the shaking conditions in the batch method could mask the effect of soil properties, enhancing sorption at the fast rate and underestimating the diffusion effect in the slow phase (6).

ACKNOWLEDGMENT

We extend our thanks to Dr. J. Huertas for the X-RD analyses, A. Salido for her kind assistance, and M. O'Shea for proofreading.

LITERATURE CITED

- (1) Sanchez, L.; Romero, E.; Peña, A. Ability of biosolids and a cationic surfactant to modify methidathion leaching. Modelling with pescol. *Chemosphere* **2003**, *53* (8), 843-850.
- (2) Koskinen, W. C.; Rice, P. J.; Anhalt, J. A.; Sakaliene, O.; Moorman, T. B.; Arthur, E. L. Sorption-desorption of "aged" sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50* (19), 5368-5372.
- (3) Romero, T.; Barifouse, M.; Rasero, F. S.; Peña, H. A.; De La Colina, C.; Dios, G. Fate of methabenzthiazuron in calcareous

- soils from southeastern Spain. *J. Environ. Qual.* **1997**, *26* (2), 466471..
- (4) Beulke, S.; Brown, C. D.; Fryer, C. J.; Van Beinum, W. Influence of kinetic sorption and diffusion on pesticide movement through aggregated soils. *Chemosphere* **2004**, *57* (6), 481–490.
- (5) Sparks, D. L. *Kinetics of Soil Chemical Processes*; Academic Press: San Diego, CA, 1989.
- (6) Inoue, M. H.; Oliveira, J.; Regitano, J. B.; Tormena, C. A.; Constantin, J.; Tornisielo, V. L. Sorption kinetics of atrazine and diuron in soils from southern Brazil. *J. Environ. Sci. Health* **2004**, *B39* (4), 589–601.
- (7) Sarkar, M.; Acharya, P. K.; Bhattacharya, B. Modeling the adsorption kinetics of some priority organic pollutants in water from diffusion and activation energy parameters. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *266* (1), 28–32.
- (8) Weber, J.; Huang, W. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 4. Intraparticle heterogeneity and phase-distribution relationships under nonequilibrium conditions. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30* (3), 881–888.
- (9) Pignatello, J. J.; Xing, B. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30* (1), 1–11.
- (10) Cox, L.; Koskinen, W. C.; Yen, P. Y. Changes in sorption of imidacloprid with incubation time. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1998**, *62* (2), 342–347.
- (11) Capri, E.; Camisa, M. G.; Flores, C.; Glass, C. R.; Gonzalez-Pradas, E.; Trevisan, M. Imidacloprid and Pyrimethanil soil sorption. *Agronomie* **2001**, *21* (1), 57–64.
- (12) Mamy, L.; Barriuso, E. Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. *Eur. J. Soil Sci.* **2007**, *58* (1), 174–187.
- (13) Grébil, G.; Perrin-Ganier, C.; Schiavon, M. Sorption and degradation of tebutam in soil under controlled laboratory conditions. *Agronomie* **2001**, *21* (1), 23–31.
- (14) Locke, M. A.; Gaston, L. A.; Zablutowicz, R. M. Acifluorfen sorption and sorption kinetics in soil. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45* (1), 286–293.
- (15) Worrall, F.; Parker, A.; Rae, J. E.; Johnson, A. C. A study of the adsorption kinetics of isoproturon on soil and subsoil. *Chemosphere* **1997**, *34* (1), 71–86.
- (16) Zdruli, P.; Jones, R.; Montanarella, L. Organic Matter in the Soils in Southern Europe. Expert Report prepared for DGXLE.3 by the European Soil Bureau; 99.
- (17) Tomlin, C. D. S. *The Pesticide Manual*, 11th ed.; BCPC Publications: UK, 1997.
- (18) Fernández-Bayo, J. D.; Nogales, R.; Romero, E. Improved retention of imidacloprid (Confidor(R)) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Sci. Total Environ.* **2007**, *378* (1–2), 95–100.
- (19) M.A.P.A. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). *Métodos Oficiales de Análisis*; Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Spain, 1986; Vol. III.
- (20) Keeling, P. S. The examination of clay by IL/MA. *Trans. Br. Ceram. Soc.* **1961**, *60*, 217–244.
- (21) Romero, E.; Salido, A.; Cifuentes, C.; Fernández, J. D.; Nogales, R. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2006**, *86* (3–4), 289–297.
- (22) Önal, Y. Kinetics of adsorption of dyes from aqueous solution using activated carbon prepared from waste apricot. *J. Hazard. Mater.* **2006**, *137* (3), 1719–1728.
- (23) Novak, J. M.; Moorman, T. B.; Karlen, D. L. Influence of soil aggregate size on atrazine sorption kinetics. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42* (8), 1809–1812.
- (24) Nkedi-Kizza, P.; Shinde, D.; Savabi, M. R.; Ouyang, Y.; Nieves, L. Sorption kinetics and equilibria of organic pesticides in carbonatic soils from South Florida. *J. Environ. Qual.* **2006**, *35* (1), 268–276.
- (25) Biggar, J. W.; Mingelgrin, U.; Cheung, M. W. Equilibrium and kinetics of adsorption of picloram and parathion with soils. *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26* (6), 1306–1312.
- (26) Dios Cancela, G.; Romero Taboada, E.; Sanchez-Rasero, F. Carbendazim adsorption on montmorillonite, peat and soils. *J. Soil Sci.* **1992**, *43* (1), 99–111.
- (27) Akkaya, G.; Özer, A. Biosorption of Acid Red 274 (AR 274) on *Dicranella varia*: Determination of equilibrium and kinetic model parameters. *Proc. Biochem.* **2005**, *40* (11), 3559–3568.
- (28) Liyanage, J. A.; Watawala, R. C.; Aravinna, A. G. P.; Smith, L.; Kookana, R. S. Sorption of carbofuran and diuron pesticides in 43 tropical soils of Sri Lanka. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (5), 1784–1791.
- (29) Gaillardon, P. Desorption of diuron and isoproturon from undispersed clay loam soil. *Pestic. Sci.* **1997**, *51* (2), 185–193.
- (30) Cox, L.; Koskinen, W. C.; Celis, R.; Yen, P. Y.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J. Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1998**, *62* (4), 911–915.
- (31) Weber, J. R.; Morris, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solutions. *J. Sanit. Eng. Div.-ASCE* **1963**, *89*, 31–59.
- (32) Kavitha, D.; Namasivayam, C. Experimental and kinetic studies on methylene blue adsorption by coir pith carbon. *Bioresour. Technol.* **2007**, *98* (1), 14–21.
- (33) Kannan, N.; Sundaram, M. M. Kinetics and mechanism of removal of methylene blue by adsorption on various carbons - A comparative study. *Dyes Pigm.* **2001**, *51* (1), 25–40.
- (34) Kagabu, S.; Matsuno, H. Chloronicotinyl insecticides. 8. Crystal and molecular structures of imidacloprid and analogous compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45* (1), 276–281.
- (35) Li, H.; Teppen, B. J.; Johnston, C. T.; Boyd, S. A. Thermodynamics of nitroaromatic compound adsorption from water by smectite clay. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38* (20), 5433–5442.
- (36) Zornoza, R.; Mataix-Solera, J.; Guerrero, C.; Arcenegui, V.; Mayoral, A. M.; Morales, J.; Mataix-Beneyto, J. Soil properties under natural forest in the Alicante Province of Spain. *Geoderma* **2007**, *142* (3–4), 334–341.
- (37) Ahmad, R.; Kookana, R. S.; Alston, A. M.; Skjemstad, J. O. The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ¹³C CPMAS NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35* (5), 878–884.
- (38) Regitano, J. B.; Tornisielo, V. L.; Lavorenti, A.; Pacovsky, R. S. Transformation pathways of ¹⁴C-chlorothalonil in tropical soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2001**, *40* (3), 295–302.
- (39) Kookana, R. S.; Gerritse, R. G.; Aylmore, L. A. G. A method for studying nonequilibrium sorption during transport of pesticides in soil. *Soil Sci.* **1992**, *154* (5), 344–349.

Received for review February 12, 2008. Revised manuscript received April 18, 2008. Accepted April 21, 2008. This study was financed by “Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología” (CICYT) through projects REN2003-04693 and CTM2006-12214. J.D.F.-B. thanks the Science and Education Ministry for his FPI doctoral grant.

JF8004349



CAPÍTULO 5

INCREMENTO DE LA RETENCIÓN DE IMIDACLOPRID (CONFIDOR[®]) EN SUELOS MEDIANTE LA ADICIÓN DE VERMICOMPOST DE ORUJO AGOTADO

Resumen

Se llevaron a cabo experimentos de adsorción del insecticida imidacloprid en 10 suelos españoles con diferentes propiedades. Los estudios de adsorción fueron realizados tanto con su ingrediente activo, como con Confidor[®], su fórmula registrado. EL efecto de la temperatura fue estudiado a 15 y 25°C. Se estudió el efecto que la adición de vermicompost de orujo agotado (natural o molido), con un contenido en carbono orgánico (CO) de 344 g kg⁻¹, tenía en la adsorción de imidacloprid en dos suelos seleccionados, uno franco-arenoso y otro franco-arcillo-limoso con contenidos en CO de 3,6 y 9,3 g kg⁻¹, respectivamente. Antes de la adición de este vermicompost también se realizaron isotermas de desorción sobre los dos suelos seleccionados. Para cuantificar la histéresis del proceso de desorción se calculó el índice de histéresis aparente (IHA). Los coeficientes de adsorción K_d y K_f obtenidos en suelos diferentes fueron similares tanto para el ingrediente activo como para Confidor[®]. La adsorción decreció con el incremento de la temperatura, hecho que tiene gran importancia en sistemas como los invernaderos. Se encontró una buena correlación entre los valores de la K_f y el contenido en CO ($R^2=0,965$; $P<0,01$), aunque algunos suelos mostraron unos coeficientes de adsorción superiores a los que se esperaba por su contenido en CO. Los coeficientes de adsorción normalizados al contenido en CO (K_{oc}) fueron dispersos y bajos, lo que implica que otras características del suelo también contribuyen a la capacidad de retención del suelo. El vermicompost de orujo agotado mostró ser un adsorbente efectivo de este insecticida. La adsorción de imidacloprid aumentó significativamente en los suelos enmendados con el vermicompost. El efecto más importante tuvo lugar en el suelo franco arenoso con bajo contenido en CO, donde la adición del vermicompost en una dosis de un 5 y 10% elevó entre 8 y 15 veces los valores de la K_f , respectivamente. La desorción de imidacloprid fue más lenta en el suelo con mayor contenido en CO y arcilla.

Improved retention of imidacloprid (Confidor®) in soils by adding vermicompost from spent grape marc

Jesús D. Fernández-Bayo, Rogelio Nogales, Esperanza Romero *

Estación Experimental del Zaidín (CSIC), C/Profesor Albareda 1, 18008-Granada, Spain

Available online 15 February 2007

Abstract

Batch sorption experiments of the insecticide imidacloprid by ten widely different Spanish soils were carried out. The sorption was studied for the active ingredient and its registered formulation Confidor®. The temperature effect was studied at 15 °C and 25 °C. The addition of a vermicompost from spent grape marc (natural and ground), containing 344 g kg⁻¹ organic carbon, on the sorption of imidacloprid by two selected soils, a sandy loam and a silty clay loam, having organic carbon content of 3.6 g kg⁻¹ and 9.3 g kg⁻¹, respectively, was evaluated. Prior to the addition of this vermicompost, desorption isotherms with both selected soils, were also performed. The apparent hysteresis index (AHI) parameter was used to quantify sorption–desorption hysteresis. Sorption coefficients, K_d and K_f , for the active ingredient and Confidor® in the different soils were similar. Sorption decreased with increasing temperature, this fact has special interest in greenhouse systems. A significant correlation ($R^2=0.965$; $P<0.01$) between K_f values and the organic carbon (OC) content was found, but some soils showed higher sorption coefficients than that expected from their OC values. The normalized sorption coefficients with the soil organic carbon content (K_{oc}) were dispersed and low, implying that other characteristics of soils could contribute to the retention capacity as well. The spent grape marc vermicompost was an effective sorbent of this insecticide ($K_f=149$). The sorption of imidacloprid increased significantly in soils amended with this vermicompost. The most pronounced effect was found in the sandy loam soil with low OC content, where the addition of 5% and 10% of vermicompost increased K_f values by 8- and 15-fold, respectively. Soil desorption of imidacloprid was slower for the soil with the higher OC and clay content.
© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Nicotinoid insecticide; Soil sorption; Organic soil amendment; Vermicompost; Spent grape marc

1. Introduction

Pesticides, despite their adverse effects, are effective molecules to fight pests, mainly when no other alternative methods are available. One such chemical is the chloronicotinyl insecticide imidacloprid, one of the most widely used in the world. It is currently applied to control a large spectrum of pests under traditional crop conditions (Pons and Albajes, 2002), in rotation with

other insecticides to minimize the development of resistance (McGill et al., 2003), and in integrated greenhouse whitefly-management programs (Bi et al., 2002).

A major problem with pesticides is the contamination of soil and groundwater, a serious problem requiring special soil management. In this sense, the application of organic amendments leads to better soil quality (Nogales et al., 1998). In addition, organic amendments have a strong effect on the behaviour of pesticides, increasing their sorption in the ploughed layer of agricultural soils, and minimizing the transport to waters (Romero et al., 2001; Sánchez et al., 2003). In recent years, agro-industrial wastes containing high amounts of

* Corresponding author. Tel.: +34 958181600x221; fax: +34 958129600.

E-mail address: eromero@eez.csic.es (E. Romero).

organic matter have been transformed by composting or vermicomposting processes into mature and biostabilized end-products (Benitez et al., 2005). These products are more appropriate as organic soil amendment than as the raw wastes (Nogales et al., 1999; Inbar et al., 1992; Flavel et al., 2005). However, the role that the nature, composition and content in humic substances of these organic amendments could play in pesticide-sorption process has been scarcely investigated (Iglesias-Jiménez et al., 1997; Alves et al., 2001; Zbytniewski and Buszewski, 2002). Spent grape marc (SGM) is a major by-product from winery and distillery industries, Spain producing around 750,000 Mg of grape marc each year. Spent grape marc has a lignocellulose nature and has good sorption potential for non-ionic pesticides (Romero et al., 2006). Thus, incorporation of SGM vermicomposts to agricultural soil would protect against water pollution. Nevertheless, little is known on the use of vermicompost from spent grape marc to minimize the side effects of pesticide residues. This study, presents results of the sorption of imidacloprid, a highly soluble pesticide which constitutes a serious leaching risk in different agricultural Spanish soils. The use of vermicompost from spent grape marc, as a new organic soil amendment, for sorption control was investigated. Since formulated products can in some way alter pesticide behaviour, sorption of the pure compound and of its registered formulation (Confidor®) was determined. Also, other factors, such as temperature effect on soil-sorption capability as well as the use of natural and ground vermicompost, were also studied.

2. Materials and methods

2.1. Soils, organic amendments and chemicals

Analyses were made in 10 agricultural soils of different nature from various areas of south-eastern (Murcia,

Jaén and Granada provinces) and north-western (Pontevedra province) Spain. The soil samples, collected from the ploughed layer, were air-dried and passed through a 2-mm sieve prior to use. Classification and selected properties of the soils are shown in Table 1.

Spent grape marc from a winery (Movialsa, Campo de Criptana, Spain), was vermicomposted with the worm *Eisenia andrei* for 8 months on a pilot scale as reported elsewhere (Elvira et al., 1998). Selected chemical characteristics of the vermicompost from spent grape marc (VSGM), determined using validated methods (MAPA, 1986; Khazaal et al., 1994; Goering and Van Soest, 1970), were pH 6.8, total organic carbon (TOC) 344 g kg⁻¹, total extractable organic carbon (TEC) 62 g kg⁻¹, humic acids (HA) 35 g kg⁻¹, hemicellulose 68 g kg⁻¹, cellulose 103 g kg⁻¹, lignin 434 g kg⁻¹, polyphenols 1 g kg⁻¹, C/N 22, humification rate (HR) 18%.

Imidacloprid (1-[(6-cloro-3-pyridinyl)methyl]-N-nitro-2-imidazolidinimine) at 99% purity (from Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany) and its registered formulation Confidor® 200 SC (20% w/v from Bayer) were tested. The water solubility of this insecticide is 510 mg L⁻¹. Analytic-grade 96% sulphuric acid from Panreac (Barcelona) and HPLC-grade acetonitrile from Scharlau Chemie (Barcelona) were used. Water was purified with a Milli-Q water-purification system (Millipore, MA, USA).

2.2. Adsorption-desorption measurements

For the determination of the sorption isotherms, 5 g of each soil sample, or 0.5 g vermicompost, in duplicate, were placed into 50 mL glass tubes, adding 20 mL of an aqueous standard solution containing the insecticide at five concentrations ranged from 1 to 20 mg L⁻¹. The tubes were submitted to rotary shaking in a thermostatic chamber at a constant temperature for 24 h, time enough to achieve equilibrium but not for biodegradation

Table 1
Selected characteristics of the soils

Soil	Location	Soil classification	Sand g kg ⁻¹	Silt g kg ⁻¹	Clay g kg ⁻¹	pH	TOC g kg ⁻¹
S1	Murcia	Albic Arenosol	840	33	127	8.2	5.7
S2	Murcia	Lithosol	168	449	383	7.8	13.8
S3	Murcia	Calcic Xerosol	100	350	550	7.5	11.5
S4	Jaén	Chromic Cambisol	699	170	131	6.0	3.6
S5	Jaén	Chromic Vertisol	140	506	354	8.2	9.3
S6	Jaén	Gleyic Acrisol	644	139	217	5.4	2.4
S7	Granada	Calcaric Fluvisol	291	540	169	8.2	8.9
S8	Granada	Calcic Cambisol	108	477	415	7.6	18.7
S9	Granada	Eutric Regosol	469	342	189	5.9	7.8
S10	Pontevedra	Humic Cambisol	740	130	130	5.6	25

(Sarkar et al., 2001), and then centrifuged at 1811 g for 20 min. Standard solutions containing the pesticide were run in parallel as a control. The amount of pesticide sorbed was calculated from the difference between the supernatant concentration in each sample and the control without soil. Blanks containing no pesticide for each soil sample were analysed to control the background of these matrices.

Two temperatures, 25 °C and 15 °C, were set up in the incubation chamber, during the agitation of two selected soil suspensions, in order to study the temperature effect in the sorption process.

The formulation influence was studied in four different soils treated with the five standard solutions containing the active ingredient of imidacloprid (I) and its register formulation Confidor® (C).

The vermicompost was ground and added to two representative soils with different characteristics at a rate of 5% and 10% to investigate its influence in the sorption process. The same soils were amended with vermicompost without grinding for comparative studies.

Desorption was performed in duplicate with the same two soils selected for sorption process equilibrated with a pesticide concentration of 5 mg L⁻¹ in 0.01 M CaCl₂ solution. After centrifugation, aliquots of 10 mL from the supernatant were removed for analysis and replaced by 10 mL of the CaCl₂ solution. The samples were resuspended, stirred for 24 h and centrifuged under the conditions described above. This procedure was repeated five times. The equilibrium concentration in each supernatant was determined to calculate the amount desorbed.

The sorption and desorption isotherms were described by the linear form of the Freundlich model. The apparent hysteresis index (AHI) is the ratio between the Freundlich exponent of desorption and that of sorption.

2.3. Chromatographic analysis

An Agilent Series 1100 liquid chromatograph (Germany) equipped with a diode-array detector was used. A Zorbax Rx-C8 150×2.1-mm i.d. analytical column packed with diisopropyl *n*-octyl (5 μm) and a guard cartridge Eclipse XDB-C8 (12.5×2.1-mm i.d.), packed with the same material, were used. The operating conditions are described elsewhere (Romero et al., 2006). Aqueous samples were passed through polypropylene hydrophilic filters of 0.45 μm (PALL, Life Sciences) to be analysed.

3. Results and discussion

Sorption isotherms of imidacloprid and Confidor® at 25 °C by soils S1, S2, S3, S7, S8 and S9 were described by the linear and the Freundlich equations

$$C_s = K_d C_e \quad (1)$$

$$C_s = K_f C_e^{1/n} \quad (2)$$

where C_s (μg g⁻¹) is the concentration of pesticide sorbed by soil, C_e (μg mL⁻¹) is the concentration in solution, K_d is the linear distribution constant, and K_f and $1/n$ are the Freundlich constant and exponent, respectively. The R^2 coefficients ($P < 0.01$) obtained for both equations were higher than 0.931, except for the linear equation of S1 (Table 2). Sorption isotherms for the active ingredient of imidacloprid (I) and its formulated Confidor® (C) by the selected soils S1, S2, S3 and S9 were similar, showing only small differences for the K_d and K_f values (Fig. 1a, Table 2).

The organic carbon (OC) content of soils correlated significantly ($P < 0.05$) with the K_f values found for

Table 2

Linear sorption constant (K_d), Freundlich constants (K_f and $1/n$), and determination coefficients (R^2) for the active ingredient of imidacloprid and its register formulation Confidor® to soils at 25 °C

Soil	$K_d \pm \text{SEM}$ (mL g ⁻¹)	R^2	$K_f \pm \text{SEM}$ (μg ^{1-1/n} g ⁻¹ mL ⁻¹)	$1/n \pm \text{SEM}$	R^2	K_{oc}^a
S1-I	0.29±0.06	0.873	0.38±0.10	0.92±0.13	0.931	51
S2-I	1.36±0.05	0.997	1.59±0.01	0.95±0.04	0.994	99
S3-I	1.32±0.08	0.990	2.39±0.05	0.79±0.08	0.972	115
S9-I	1.42±0.14	0.971	2.45±0.05	0.85±0.09	0.971	176
S1-C	0.29±0.02	0.991	0.37±0.04	0.92±0.05	0.992	51
S2-C	1.37±0.04	0.998	2.01±0.01	0.88±0.02	0.999	99
S3-C	1.34±0.06	0.994	1.96±0.01	0.88±0.02	0.999	117
S7-C	1.08±0.07	0.988	2.62±0.01	0.71±0.02	0.997	120
S8-C	1.94±0.12	0.988	3.84±0.01	0.77±0.01	0.999	104
S9-C	1.58±0.04	0.999	2.34±0.01	0.87±0.02	0.999	203

I and C are the active ingredient of imidacloprid and its register formulation Confidor®, respectively.

^a $K_{oc} = 100 \times K_d / \text{OC}$, where OC is the soil organic carbon content in %.

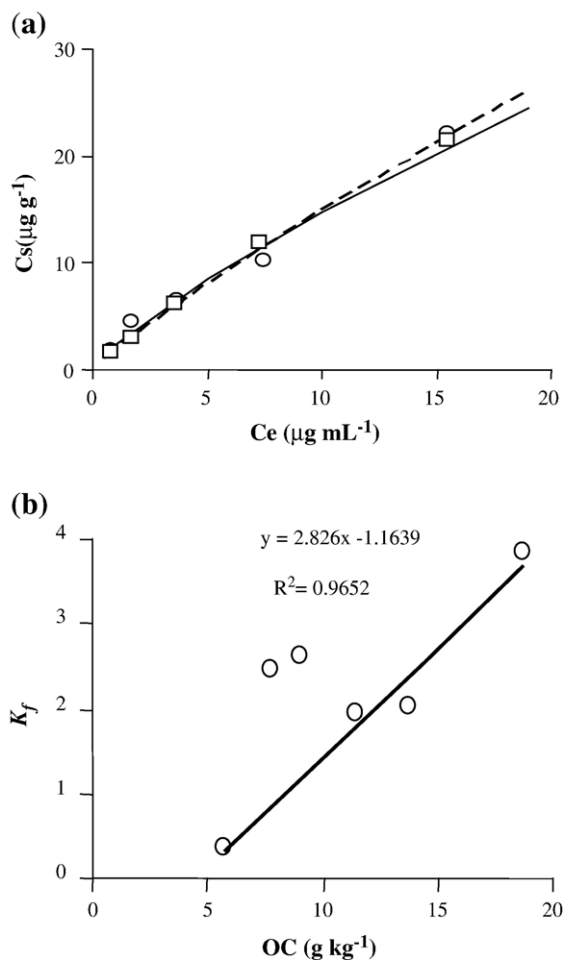


Fig. 1. Sorption isotherms of imidacloprid (○) and Confidor® (□) by S3 soil at 25 °C (a). Relationship between the soil organic carbon contents and the Freundlich sorption constants (b).

sorption isotherms of Confidor (Table 2) when soils S7 and S9 were omitted (Fig. 1b). These two soils presented higher K_f values than expected on the basis of their OC content, a finding that could be attributed to other soil components involved in the retention of this insecticide (Cox et al., 1998). The above statement is supported by the K_{oc} values (Table 2), which were dispersed (51–203) and lower than those reported in the literature (Nemeth-Konda et al., 2002; Yazgan et al., 2005).

The temperature effect from isotherm of soils S3 and S7 at 25 °C and 15 °C (Tables 2 and 3) reveals that an increase of 10 °C in temperature decreased the K_f values 1.5- and 1.8-fold in S3 and S7 soils, respectively, indicating that the sorption process is an exothermic reaction mainly of physical type (Dios Cancela et al., 1992). Under greenhouse conditions, where the temperature is high, the amount of sorbed

insecticide would diminish, implying increased release into the environment.

Before the addition of vermicompost to the soil samples, sorption isotherms were carried out with six selected soils (S3, S4, S5, S6, S7 and S10) with different OC content from 2.4 g kg⁻¹ to 25 g kg⁻¹ (Tables 1 and 3). Values of K_f ranging from 1.12 to 4.60 did not correlate with the soil OC content, perhaps due to the nature and composition of the soil organic carbon.

Two selected soils with an OC content lower than 10 g kg⁻¹ and differing in texture, S4 (sandy loam soil) and S5 (silty clay loam soils), were amended at 5% and 10% with VSGM in order to investigate the vermicompost amendment effect on the sorption capacity of both soils (Table 3, Fig. 2a). Since under laboratory conditions organic amendment are generally ground before being applied to the soil in order to get a homogenous sample, but not in field, we performed isotherms with ground and natural vermicomposts. The sorption isotherm of Confidor by this vermicompost reveals good sorption capacity, with a value of K_f of 149 μg^{1-1/n} g⁻¹ mL⁻¹ (Table 3, Fig. 2a), apparently related to its lignocelluloses nature, as reported by Romero et al., (2006). The amount of Confidor sorbed to S4 and S5 soils improved when the soils were amended at 5% and 10% with VSGM, raising the K_f values 8.6- and 15.7-fold, respectively, for S4, and 2.9- and 4.9-fold, respectively, for S5. The K_f values with VSGM at 10% were similar for both soils and the sorption percentages as high as for VSGM alone (Table 3, Fig. 2a). The changes detected in the sorption of imidacloprid by the amended soils are consistent with the high

Table 3

Freundlich constants (K_f and $1/n$) and determination coefficients (R^2) for Confidor® at 15 °C by selected soils, for the vermicompost VSGM, as well as for S4 and S5 soils amended at 5% and 10% with VSGM

Sample	$K_f \pm \text{SEM}$ (μg ^{1-1/n} g ⁻¹ mL ⁻¹)	$1/n \pm$ SEM	R^2	Amount sorbed ± SEM (%)
S3	3.03 ± 0.04	0.82 ± 0.02	0.995	41 ± 3
S4	1.12 ± 0.00	0.67 ± 0.03	0.995	18 ± 3
S5	3.55 ± 0.01	0.73 ± 0.01	0.999	43 ± 5
S6	1.30 ± 0.00	0.81 ± 0.01	1.000	22 ± 2
S7	4.60 ± 0.00	0.66 ± 0.01	1.000	51 ± 6
S10	2.54 ± 0.05	0.75 ± 0.02	0.992	33 ± 4
VSGM	149 ± 5	0.83 ± 0.02	0.995	79 ± 3
S4+5% VSGM	9.66 ± 0.06	1.00 ± 0.09	0.943	69 ± 4
S5+5% VSGM	10.37 ± 0.01	0.82 ± 0.02	0.995	73 ± 3
S4+10% VSGM	17.61 ± 0.02	0.85 ± 0.01	0.999	83 ± 1
S5+10% VSGM	17.46 ± 0.02	0.77 ± 0.01	0.999	84 ± 2
S4+10% VSGM ^a	13.64 ± 1.20	0.84 ± 0.10	0.888	78 ± 2
S5+10% VSGM ^a	14.06 ± 0.78	0.75 ± 0.06	0.950	79 ± 3

^a VSGM was added to the soils without previous grinding.

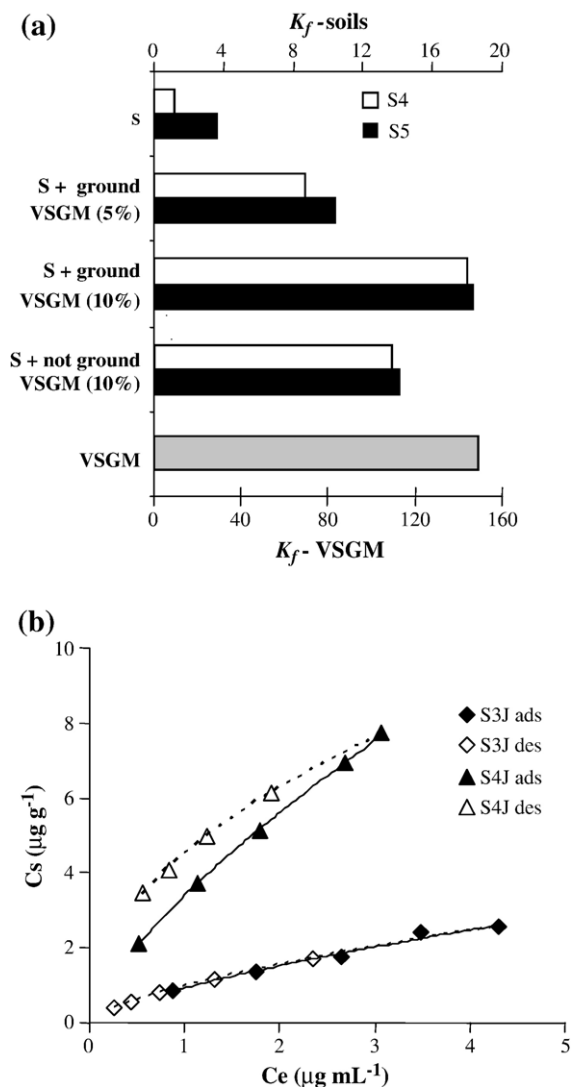


Fig. 2. Values of K_f for imidacloprid sorption by unamended soils S4 and S5, amended at 5% and 10% with ground vermicomposts (VSGM), amended at 10% with VSGM without previous grinding and by VSGM alone (a). Sorption–desorption Freundlich isotherms for Confidor in soils S4 and S5 at 15 °C (b).

Freundlich constant found for this insecticide with the vermicompost (Table 3).

As expected, the soil amended with natural or not ground VSGM implied a surface-area reduction related to ground vermicompost; this was reflected by a 5% reduction in the sorbed amount of Confidor (Table 3).

Desorption isotherms of Confidor in unamended S4 and S5 soils showed a good fit with the Freundlich equation ($R^2 > 0.999$, $P < 0.01$), with K_f and $1/n$ values of 4.51 and 0.47 for the S4 soil and of 0.98 and 0.67 for the S5 soil. Sorption–desorption isotherms showed a slight hysteretic index (0.95) for S4, whereas for S5 the

hysteretic index (0.66) indicates that the desorption rate was slower than the sorption rate (Fig. 2b). This may have been caused by a high amount of clay and OC in soil S5, leading to a higher sorption capacity than for soil S4.

The results indicate that the soil sorption of imidacloprid is not directly correlated with the soil OC content. The vermicompost from spent grape marc showed good sorption capacity for imidacloprid that was related to its lignocellulose nature, as determined by the authors in a previous study (Romero et al., 2006). Thus, the addition of this vermicompost to the soil increased the soil-sorption capability, attributable to the lignocellulose's nature of this organic amendment.

4. Conclusions

The low K_{oc} values determined for imidacloprid in the soils and its high water solubility suggest a high leaching potential. Despite the low hydrophobic character of this molecule, the vermicompost from spent grape marc contributes to increase the soil-sorption potential due mainly to the lignin fraction, which contributes to augment the sorption site for this insecticide. In addition, Fernández-Perez et al. (1998) reported that the release of imidacloprid from a lignin matrix was diffusion-controlled. Thus, the addition of this vermicompost to soil could also contribute in this way to a slower desorption as well as lower bioavailability of imidacloprid, thereby reducing the risk of leaching to groundwater aquifers.

Acknowledgements

This study was financed by the “Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología” (CICYT) through project REN2003–04693 and “Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente” Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (Project RTA03–026). J.D. Fernández-Bayo thanks the Science and Education Ministry for the FPI doctoral grant. Authors thank A. Salido for her technical assistance and D. Nesbitt for assisting in the translation of the original manuscript into English.

References

- Alves MR, Landgraf MD, Rezende MOO. Sorption and desorption of the herbicide alachlor on humic acid fractions from two vermicomposts. *J Environ Sci Health B* 2001;36:797–808.
- Benitez E, Sainz H, Nogales R. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresour Technol* 2005;96:785–90.

- Bi JL, Toscano NC, Ballmer GR. Greenhouse and field evaluation of six novel insecticides against the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* on strawberries. *Crop Prot* 2002;21:49–55.
- Cox L, Koskinen WC, Celis R, Yen PY, Hermosin MC, Cornejo J. Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components. *Soil Sci Soc Am J* 1998;62:911–5.
- Dios Cancela G, Romero Taboada E, Sánchez-Rasero F. Carbendazim adsorption on peat, montmorillonite and soils. *J Soil Sci* 1992;43:99–111.
- Elvira C, Sampedro L, Benitez E, Nogales R. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: a pilot-scale study. *Bioresour Technol* 1998;63:205–11.
- Fernández-Pérez M, Gonzalez-Pradas E, Ureña-Amate MD. Controlled release of imidacloprid from a lignin matrix: water release kinetics and soil mobility study. *J Agric Food Chem* 1998;46:3828–34.
- Flavel TC, Murphy DV, Lalor BM, Fillery IRP. Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. *Soil Biol Biochem* 2005;37:1397–400.
- Goering H, Van Soest P. Forage ceber analysis (apparatus reagents procedure and some applications). USDA agriculture handbook. USDA-ARS, Wa; 1970. p. 1–12.
- Iglesias-Jiménez E, Poveda E, Sánchez-Martin MJ, Sánchez-Camazano M. Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticide sorption by the soil. *Arch Environ Contam Toxicol* 1997;33:117–24.
- Inbar Y, Hadar Y, Chen Y. Characterization of humic substances formed during the vermicomposting of solid wastes from wineries. *Sci Total Environ* 1992;113:35–48.
- Khazaal K, Boza J, Ørskov ER. Assessment of phenolics related antinutritive effects in Mediterranean browse: a comparison between the use of the *in vitro* gas production technique with or without insoluble polyvinylpyrrolidone or nylon bag. *Anim Feed Sci Technol* 1994;49:133–49.
- MAPA. Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Plantas, productos orgánicos fertilizantes, suelos, agua, productos fitosanitarios y fertilizantes inorgánicos Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid; 1986. 532 pp.
- McGill NG, Bade GS, Vitelli RA, Allsopp PG. Imidacloprid can reduce the impact of the white grub *Antitrogus parvulus* on Australian sugarcane. *Crop Prot* 2003;22:1169–76.
- Nemeth-Konda L, Füleky Gy, Morovjan Gy, Csokan P. Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazim, diazinon, imidacloprid and isoproturon on Hungarian agricultural soil. *Chemosphere* 2002;48:545–52.
- Nogales R, Thompson R, Calmet A, Benítez E, Gómez M, Elvira C. Feasibility of vermicomposting residues from oil production obtained using two stages centrifuge. *J Environ Sci Health A* 1998;33:1491–506.
- Nogales R, Melgar R, Guerrero A, Lozada G, Benitez E, Thompson R, et al. Growth and reproduction of *Eisenia andrei* in dry olive cake mixed with other organic wastes. *Pedobiol* 1999;43:744–52.
- Pons X, Albajes R. Control of mite pests with imidacloprid seed dressing treatment in Catalonia (NE Iberian Peninsula) under traditional crop conditions. *Crop Prot* 2002;21:943–50.
- Romero E, Matallo M, Peña A, Sánchez-Rasero F, Schmitt-Kopplin Ph, Dios G. Dissipation of racemic mecoprop and dichlorprop and their pure enantiomers in three calcareous soils with and without peat addition. *Environ Pollut* 2001;111:209–15.
- Romero E, Salido A, Cifuentes C, Fernández JD, Nogales R. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability by agro-industrial wastes. *Int J Environ Anal Chem* 2006;86:289–97.
- Sánchez L, Sánchez-Rasero F, Dios G, Romero E, Peña A. Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Manag Sci* 2003;59:857–64.
- Sarkar M, Roy S, Kole R, Chowdhury. Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal. *Pest Manag Sci* 2001;57:508–602.
- Yazgan MS, Wilkins RM, Sykas C, Hoque E. Comparison of two methods for estimation of soil sorption for imidacloprid and carbofuran. *Chemosphere* 2005;60:1325–31.
- Zbytniewski R, Buszewski B. Sorption of pesticides in soil and compost. *Pol J Environ Stud* 2002;11:179–84.



CAPÍTULO 6

*VALORACION DEL USO DE TRES VERMICOMPOSTS
COMO ENMIENDAS ORGANICAS PARA FAVORECER LA
ADSORCIÓN DE DIURON EN SUELOS CON BAJO
CONTENIDO EN MATERIA ORGÁNICA*

Resumen

Vermicomposts de orujo agotado (V1) y lodos de vinazas (V2) procedentes de industrias vinícolas y alcohólicas y vermicompost de alperujo (V3) procedente de la industria oleícola fueron investigados como enmiendas de dos suelos con bajo contenido en carbono orgánico (<1%), uno arenoso y otro arcilloso. Se estudiaron los procesos de adsorción-desorción usando diurón como herbicida modelo de compuestos no iónico. Se estudiaron los efectos que sobre el proceso de adsorción tenían las características de los suelos y de los vermicomposts, la fuerza iónica de la solución y la incubación previa de los vermicomposts durante 6 semanas en los suelos. La adición de los vermicomposts modificó las propiedades de los suelos e incremento la capacidad de adsorción entre 2 y 4 veces. La variabilidad de la K_{OC} mostró que la composición del carbono orgánico exógeno modificaba la adsorción de diurón. El vermicompost V1 que contiene el mayor contenido en CO y en ligninas, provocó los mayores incrementos en la adsorción y la variabilidad más amplia en los valores de K_{OC} . Por su parte, V3, que tiene el mayor valor de CO disuelto y un elevado grado de humificación, manifestó la menor contribución en la adsorción. La adsorción también estuvo influenciada por el calcio contenido en la solución. La incubación de los suelos enmendados redujo la eficiencia en la adsorción, excepto en V3.

Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content

Journal:	<i>European Journal of Soil Science</i>
Manuscript ID:	EJSS-244-08
Manuscript Type:	Original Manuscript
Date Submitted by the Author:	12-Sep-2008
Complete List of Authors:	Fernández-Bayo, Jesus; Estación Experimental del Zaidin (CSIC), Environmental Protection Nogales, Rogelio; Estación Experimental del Zaidin (CSIC), Environmental Protection Romero, Esperanza; Estación Experimental del Zaidin (CSIC), Environmental Protection
Keywords:	vermicompost, sorption, dissolved organic carbon, diuron, soil

1 *Vermicompost as sustainable sorbent of pesticides in soils*

2

3 **Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to**
4 **enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content**

5

J.D. FERNÁNDEZ-BAYO*, R. NOGALES & E. ROMERO.

Department of Environmental Protection, Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

C/ Profesor Albareda, 1, 18008-Granada, Spain

* Corresponding author: Fernández Bayo, J.D.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC),
C/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada, Spain
E-mail: jesus.bayo@eez.csic.es
Tel: 0034 958 181600, ext. 126
Fax : 0034 958 129600

6 Summary

7 Vermicomposts from wine and distillery industry containing spent grape marc
8 (V1), and biosolid vinasse (V2) and *alperujo* (V3) from the oil-olive industry
9 were investigated as organic amendments to a sandy and a clay soil with low
10 organic carbon (OC) content ($\leq 1\%$). The sorption-desorption process was
11 studied in batch experiments using diuron as a non-ionic herbicide model. The
12 effect of soil and vermicompost characteristics, the solution's ionic strength,
13 and six-week incubation of amended soils on the sorption process was studied.
14 The addition of vermicompost changed the soil properties and enhanced its
15 sorption capacity 2-4 fold. The K_{oc} variability showed that exogenous OC
16 carbon composition influenced diuron sorption. V1 vermicompost, which has
17 the highest OC and lignin content, recorded the highest sorption increment
18 and the widest variability in K_{oc} values. V3 vermicompost, which has the
19 highest dissolved organic carbon content and a high degree of humification,
20 showed the lowest contribution to sorption. Sorption was also dependent on
21 extraneous calcium in the solution. The incubation of amended soils reduced
22 diuron sorption efficiency except with V3. This research encourages the use of
23 vermicompost from agroindustrial wastes as a sustainable technology in order
24 to minimize the side effects of neutral herbicides.

25



26 **Introduction**

27

28 Studies carried out on the behaviour of pesticide during the last forty years describe
29 sorption as the most important process that regulates their side effects on the
30 environment and human health (Wauchope *et al.*, 2002). Sorption coefficients are also
31 among the most sensitive input parameters in simulation models for predicting large-
32 scale pesticide loss (Romero *et al.*, 1997; Farenhorst, 2006). Nowadays, it is still
33 difficult to accurately determine the degree of sorption of a particular pesticide in a
34 specific soil and under different management practices.

35 In general, the sorption of pesticides is closely related to soil organic matter
36 (SOM) content (Ahmad *et al.*, 2001; Farenhorst, 2006) although this is not the only soil
37 property associated with pesticide sorption (Cox *et al.*, 1998). Sorption constants
38 expressed as a distribution coefficient (K_d) constant or as a Freundlich sorption constant
39 (K_f) are therefore usually normalized to soil organic carbon (OC) content (K_{oc}).
40 Nevertheless, not only the soil OC content but also the composition and nature of SOM
41 influences the soil's sorption capacity (Liyanage *et al.*, 2006). For this reason, in some
42 cases, K_{oc} is no longer used as a "universal" constant but rather a measure of the affinity
43 of the soil's OC in relation to a particular compound (Ahangar *et al.*, 2008). As regards
44 the chemical nature of humified soil fractions, humic acids (HA) are more reactive to
45 pesticides than fulvic acids (FA) and humin (Senesi, 1992), and the degree of
46 aromaticity can be a reliable parameter for predicting pesticide partition constants
47 (Ahmad *et al.*, 2001). The degree of SOM aromaticity is influenced by natural factors
48 such as geological diagenesis, pedogenesis and humification as well as anthropogenic
49 factors such as land management practices, application of organic amendments, etc
50 (Farenhorst, 2006). Thus, it is to be expected that the addition of humified organic

51 matter like vermicompost, which contains a high ratio of aromatic compounds and
52 humic acid-like fractions (Plaza *et al.*, 2008), will improve the pesticide sorbent
53 capability of agricultural soils and minimize ecological risk as well as the migration of
54 these xenobiotics in the soil (Sánchez *et al.*, 2003).

55 In this context, the recycling of agro-industrial organic wastes such as those
56 from the wine, distillery and olive oil industries is of paramount importance. The
57 challenge is to recycle biodegradable wastes and by-products into appropriate organic
58 soil amendments in order to promote a sustainable system of agriculture. In addition, it
59 is well known that the use of composts or vermicomposts as organic soil amendments
60 rather than the corresponding raw materials may improve soil quality, promote soil
61 aggregation, stimulate microbial activity and increase crop growth and yields (Nogales
62 *et al.*, 1998; Carpenter-Boggs *et al.*, 2000; Ferreras *et al.*, 2006). Furthermore,
63 vermicompost has also been shown to be an effective pesticide sorbent (Romero *et al.*,
64 2006), although its function as a sorbent of soil pollutants has scarcely been
65 investigated. It is important to point out that its efficiency as a pesticide sorbent may
66 vary according to the nature of the vermicompost and the time that has elapsed since the
67 vermicompost was added to the soil. Vermicompost application to soils can also
68 increase the amount of dissolved organic carbon (DOC) and change the relative cation
69 saturation in the soil solution which directly or indirectly affects sorption mechanisms.
70 This later, possibly significant modification in the soil solution is overlooked in routine
71 analyses such as OECD guideline 106 that prescribes the use of 0.01 M CaCl₂ as a
72 reference solution. (De Jonge & De Jonge, 1999).

73 This study aims to assess the positive effect of vermicompost use on the soil
74 sorption capability of diuron. Diuron, a non-ionic phenylurea herbicide, is used in
75 different formulations to control weeds in a wide variety of crops (corn, rice, olives,

76 citrus...etc) and is considered a high priority hazardous substance by the European
77 Commission (Malato *et al.*, 2002). Two representative Mediterranean soils with low
78 organic matter content were selected due to their different sorption behaviour patterns
79 (Fernández-Bayo *et al.*, 2008). These soils were amended at ratios of 5% and 10% using
80 three different vermicomposts obtained from agricultural wastes from the olive oil, wine
81 and distillery industries. Sorption capability was studied immediately after application
82 of the vermicompost and following a six-week incubation period. The effect of the
83 CaCl₂ solution on the herbicide sorption process was also evaluated.

84

85 **Materials and Methods**

86 *Chemicals*

87 Diurokey[®] (80% w/w, Industrial Chemical Key S.A), a commercial formulation of
88 diuron (N'-(3,4-dichlorophenyl)-N,N-dimethylurea), was used. Diuron has a water
89 solubility of 42 mg L⁻¹ and an octanol–water partition constant (K_{ow}) of 700 (Tomlin,
90 2003).

91

92 *Amendments*

93 The V1 vermicompost was obtained from spent grape marc and V2 from a 2:1 mixture
94 of biosolid vinasse:wine shoots, which are the principal wastes from the wine and
95 distillery industries. The V3 vermicompost was obtained from a 4:1 mixture of
96 *alperujo*, the principal waste from two-phase olive oil extraction, and goat manure. The
97 vermicomposting process is reported elsewhere (Elvira *et al.*, 1998). The chosen pH,
98 OC, HA and FA content were determined using validated official methods (M.A.P.A.,
99 1986) and lignin totals (Table 1) according to the Goering and Van Soest method
100 (Goering & Van Soest,1970).

101

102 *Soil samples*

103 Two types of agricultural soil from the south of Spain were selected. Soil S1 is a
104 Chromic cambisol with 70% sand, 17% silt and 13% clay. Soil S2 is Chromic vertisol
105 with 14% sand, 51% silt and 35% clay. Soil samples from the top 20 cm were air dried
106 and sieved through a <2 mm mesh. These two soils were amended with the three
107 vermicomposts mentioned above, previously air dried and ground at field dosage rates
108 of 5 and 10% and then homogenized. The main properties of these samples (Table 2)
109 were also determined using validated methods (M.A.P.A., 1986).

110 DOC was determined in a solution on the basis of 5 g from the amended
111 samples. In order to study the DOC contribution from the soils and vermicomposts, 4.75
112 and 0.25 g respectively were also extracted in order to determine theoretical DOC. Each
113 sample was shaken for 24h end-over-end with 10 mL of distillate water and then
114 centrifuged at 1811 g for 20 min. DOC was determined from 1 mL of the supernatant
115 filtered through 0.45 µm polytetrafluoroethylene (PTFE), PALL, Life Sciences. The
116 corresponding normalized DOC values associated with the total OC content in each
117 sample are shown as percentages in Tables 1 and 2.

118

119 *Incubation of vermicompost-amended soil samples*

120 100 g of both soils were amended with V1, V2 and V3 at a rate of 10% and rotated
121 under dry conditions to be homogenized. The samples watered to 80% field capacity
122 were stored for 6 weeks in a dark chamber at 15°C. Humidity was monitored by
123 weighing the samples weekly. After incubation, the soil samples were air-dried to
124 perform sorption isotherms, and OC and HA-like content was measured (Tables 2 and
125 3).

126

127 *Sorption-desorption experiments*

128 Duplicate sorption isotherms were carried out following the batch equilibrium method.

129 Five grams of the fourteen incubated and unincubated soil samples, described in Table

130 2, were rotated in a thermostatic chamber in the dark at 15°C for 24 h with 20 mL of an

131 aqueous standard solution prepared in miliQ water and in 0.01 M CaCl₂ containing the132 herbicide at 1, 2, 3, 4 and 5 mg L⁻¹. Previous kinetic studies have shown that apparent133 equilibrium was reached before the end of a 6h period (Fernández-Bayo J.D. *et al.*

134 2008). The glass tubes from each suspension type were then centrifuged at 1811 g for

135 20 min. The standard diuron solutions without soil were also run in parallel as a control

136 precaution. The amount of pesticide sorbed was calculated from the difference between

137 the concentration remaining in each sample and the corresponding control amount.

138 Desorption isotherms were carried out from the soil suspension at 5 µg mL⁻¹ in a139 0.01 M CaCl₂ solution. After centrifugation, aliquots of 10 mL from the supernatant140 were removed for analysis and replaced by 10 mL of 0.01 M CaCl₂. The samples were

141 again suspended, equilibrated for 24 h and centrifuged. This procedure was repeated

142 five times. The amount of pesticide desorbed was determined from the equilibrium

143 concentration in each supernatant. The sorption and desorption isotherms were

144 described according to the Freundlich model. The apparent hysteresis index (AHI), the

145 ratio between the Freundlich exponent of desorption and sorption, was calculated.

146

147 *Chemical analysis*

148 A Series 1100 High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) (Agilent, Germany),

149 equipped with a diode-array detector, was used. A 150 x 2.1 mm i.d Zorbax Rx-C8.

150 analytical column, packed with diisopropyl n-octyl (5µm), and a 12.5 x 2.1mm

151 i.d.Eclipse XDB-C8 guard cartridge), packed with the same material, were used.
152 Operating conditions are described elsewhere (Romero *et al.*, 2006). Aqueous samples
153 were passed through 0.45 μm PTFE filters to be analyzed.

154

155 *Statistical analysis*

156 The results were statistically calculated using Statgraphic Plus 5.1 (Statistical Graphics
157 Corp. Princeton, NJ).

158

159 **Results**

160 *Effects of vermicompost on soil properties*

161 The vermicomposts from wine wastes had neutral pH values while those from *alperujo*-
162 manure had slightly alkaline values (Table 1). Nevertheless, both organic amendments
163 had a considerable buffer capability. The addition of these vermicomposts increased soil
164 pH in the case of the acidic soil (S1) but reduced it in the slightly alkaline soil, S2
165 (Table 2). Overall, vermicompost additions changed soil pH to neutral levels. This
166 effect has been described by Gallardo-Lara *et al.* (1987) when municipal composts were
167 applied to agricultural soil.

168 The OC ratio associated with humic and fulvic acids (HA/FA ratio) varied
169 between the vermicomposts, indicating a heterogeneous OM composition. The 5% and
170 10% vermicompost additions to the soils increased OC content significantly ($P < 0.05$).
171 In sandy soil S1, OC content went up 4-7.5 fold respectively, and in silty clay soil S2, it
172 increased 2-4 fold. Regarding the influence of the type of vermicompost used, no
173 significant differences were observed between the amended samples except for silty
174 clay soil S2 10 % amended with V2 and V3 (Table 2).

175 DOC content in the vermicomposts was higher than in the soils and significantly
176 contributed to the increase in DOC ($P < 0.05$) in the amended soils to the same extent as
177 that in the vermicomposts, with $V3 > V1 \approx V2$ (Figure 1a). Theoretical DOC levels in the
178 vermicompost-amended samples (Figure 1b) were calculated on the basis of Equation 1,
179 which is the sum of DOCs measured in soil and vermicompost:

$$180 \quad \text{DOC}_{SxVy} = \text{DOC}_{Sx} + \text{DOC}_{Vy} \quad \text{Eq. 1}$$

181 where x is the DOC value in mg L^{-1} for S1 and S2 and y for V1, V2 and V3. We
182 observed that the theoretical DOC values were similar for both soils (Figure 1b), which
183 shows that vermicompost makes a greater contribution to DOC than soil. This
184 contribution was similar in the soil samples amended with V1 and V2 but was higher
185 with V3 (Figure 1a). There were also differences between the theoretical and
186 experimental DOC values, with the most significant being seen in the samples amended
187 with V3 and, in general, greater differences were observed for amended clay soils than
188 for amended sandy soils (Figure 1b). This could be attributed to the different DOC
189 availability rates for each soil type.

190 The percentage of HA-like and CEC increased in the amended soils. A
191 correlation was observed between CEC values and total extractable carbon ($r = 0.749$;
192 $P < 0.05$) and the HA-like content ($r = 0.737$, $P < 0.05$) determined in the samples (Table
193 2). The increments were more apparent for sandy soil S1 which had lower HA-like and
194 CEC. Nevertheless, these variations were not connected with the type of vermicompost
195 used. The possible differences observed between the soils may be explained by the
196 dosage applied and the properties of each soil, which highlights how interactions
197 between humic acids and soil components differ.

198 Finally, the addition of these vermicomposts increased soluble salt content in
199 the soil samples as well as the electrical conductivity (EC), which increased in the
200 following order of magnitude: in $V1 < V2 < V3$ (Tables 1 and 2).

201

202 *Influence of the vermicompost addition in the sorption process*

203 The sorption data for the fourteen soil samples followed the Freundlich adsorption
204 equation well ($R^2 > 0.99$) except for S1 (Table 3). The K_f values for the soil S1 and S2
205 were 4.95 and 7.84 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{g}^{-1} \text{mL}^{-1}$ respectively. The greater OC content in the clay soil
206 S2 could explain the higher affinity of this soil by diuron. Values of $1/n$ were 0.84 and
207 0.80 for S1 and S2 respectively, indicating a curve L type according to Giles
208 classification (Giles *et al.*, 1960). This kind of isotherm indicate that vacant sites in the
209 soil became less accessible with the progressive covering of the surface (Dios Cancela
210 *et al.*, 1992).

211 The addition of vermicomposts considerably increased the K_f values for diuron
212 (Figure 2). In sandy loam soil S1, the highest diuron sorption rates were caused by V1,
213 with the K_f coefficients increasing 2.4 and 4.9 fold with 5% and 10% additions,
214 respectively. The lowest increment in K_f was found with V3. In the unamended and
215 amended sandy soil samples, correlations between K_f values and OC content ($r = 0.81$,
216 $P < 0.05$) on the one hand and CEC values ($r = 0.85$, $P < 0.05$) on the other were found.
217 In silty clay loam soil S2, these increments in K_f values were lower than those found for
218 the sandy soil (Table 3). Correlations were also observed between K_f values for S2
219 samples and OC content ($r = 0.77$; $P < 0.05$) on the one hand and CEC values ($r = 0.80$;
220 $P < 0.05$) on the other. In addition, these constant values were inversely related to pH
221 data ($r = 0.92$; $P < 0.01$).

222 In general, all the K_f values for vermicompost-amended and unamended soils
223 S1 and S2 also correlated significantly with OC content ($r = 0.81$, $P < 0.01$) and CEC
224 ($r = 0.59$; $P < 0.01$) values but correlated inversely with the normalized values for DOC
225 content ($r = 0.85$; $P < 0.01$). Multiple regression was found in relation to the pH and the
226 CEC values ($r = 0.71$; $p < 0.01$).

227 The addition of vermicomposts enhanced the linearity of the sorption isotherms
228 in both soils ($1/n$ close to 1), which indicates that diuron sorption sites in the amended
229 samples were sufficiently abundant to eliminate competition at higher concentrations.

230 The K_{oc} values for unamended soils S1 and S2 differed greatly (Figure 2b). This
231 indicates either a marked difference in the chemical nature of their organic fractions or
232 the major influence of other soil components in the OC sorption capability of diuron. In
233 the 5 and 10% amended sandy soil samples, K_{oc} values decreased in the following
234 order: $S1V1 > S1V2 > S1V3$. In clay soil S2, K_{oc} values did not differ for samples S2V1
235 and S2V2 but were lower for S2V3 (Figure 2b). An inverse correlation was found
236 between the values of K_{oc} for amended and unamended S1 and soil pH ($r = 0.96$, $P <$
237 0.01). A multiple relationship was observed with OC content, CEC and pH data ($r = 0.80$;
238 $P < 0.01$).

239

240 *Diuron sorption in amended soils incubated for 6 weeks*

241 The diuron sorption capacity of the 10% amended soils (Figure 2a) fell significantly
242 after 6 weeks of incubation in V1 (44% for S1 and 35% for S2) and V2 (20% for S1 and
243 24% for S2), while there were no major changes in V3 (1.6% for S1 and 3.6 % for S2).

244 In relation to the soil properties, it was found that OC content decreased only in
245 samples S1V2, S2V1 and S2V3 (Figure 4). The rest of the samples did not show any
246 significant change. HA-like content only decreased in S1V1 and S2V3, but increased in

247 S2V1 and S2V2. Humification parameters (Table 1) reveal that V3 was the most
248 humified vermicompost, which could partly explain the smaller modification observed
249 in K_f values after 6 weeks of incubation for both V3-amended soil samples (Figure 2a).

250 The large reduction in K_f values and the unchanged level of OC for S1V1 (Table
251 2) after the incubation resulted in a sharp decline in K_{oc} values, while K_{oc} values for
252 S1V2 and S1V3 remained constant (Figure 2b). In the case of incubated clay soil S2,
253 K_{oc} values decreased after incubation with V1 and V2 but increased with V3. In general,
254 K_{oc} values after incubation showed significant variations for S1 due to the type of
255 vermicompost used, although K_{oc} values for S2 were more homogeneous.

256

257 *Diuron sorption-desorption process in vermicompost-amended soils*

258 Sorption-desorption isotherms were carried out in 0.01M of $CaCl_2$. This solution was
259 added in order to minimize the dispersion of clay and to mimic the ionic strength of
260 pore water (Cox *et al.*, 2007) during desorption analysis. An hysteresis effect was
261 observed in all the samples (Table 4, Figure 3). The sandy loam soil showed the lowest
262 AHI value (0.26), although in the corresponding vermicompost-amended soils, AHI
263 values rose in the following order: S1V3>S1V2>S1V1. In unamended silty clay loam
264 soil S2, the hysteresis coefficient was higher than for S1 (0.35). Nevertheless, the
265 hysteresis in the amended samples showed a different trend, decreasing with the
266 addition of both V1 and V2 and increasing with V3.

267 Finally, in parallel to these sorption-desorption studies, we can disregard the
268 effect of the 0.01M $CaCl_2$ solution on diuron sorption. The presence or absence of
269 0.01M $CaCl_2$ had a marked effect on K_f values (see Tables 3 and 4). K_f values fell by
270 45% for sandy soil S1, and a similar effect was observed following the addition of V1,
271 V2 and V3 with reductions of 42%, 19% and 22%, respectively. K_f values for clay soil

272 S2 showed a slight increase of 4% while reductions of 35%, 30% and 19% respectively
273 were recorded for the amended S2V1, S2V2 and S2V3 samples. The Freundlich
274 exponent increased for all samples in the presence of 0.01 CaCl₂.

275

276 Discussion

277 The use of vermicompost as organic amendments modified soil properties. As
278 other authors have suggested, these changes vary according to the rate of application,
279 soil type and composition of amendment (Albiach *et al.*, 2001; Ferreras *et al.*, 2006).
280 The addition of these vermicomposts led to neutral soil pHs, although it is well known
281 that this has no direct influence on diuron sorption due to its electroneutrality properties
282 (Kiem *et al.*, 2002). Also, the correlations observed between K_f values for diuron and
283 soil pH of both types of soil can be explained by the fact that higher rates of pH caused
284 more organic soil matter to dissolve in the solution and more acidic groups to dissociate.
285 Dissociation of acidic groups leads to more hydrophilic organic matter, thus reducing
286 diuron sorption (Sheng *et al.*, 2005). Plaza *et al.* (2008) have actually measured the
287 increased presence of COOH groups with respect to V3. Also, the relationship between
288 K_f values and CEC can be explained by the presence of the C=O group in diuron
289 molecules which induces generalised polarity and enhances its movement towards
290 charged surfaces (Spark & Swift, 2002).

291 Correlations found between K_f values and OC content are consistent with the
292 literature (Ahangar *et al.*, 2008). K_f values differ depending on the vermicompost used
293 and the soil properties (Figure 2a). In general, it was observed that amended or
294 unamended sandy loam soil S1 showed lower sorption capacity than silty clay loam soil
295 S2, which may be explained by the lower OC content and higher DOC content.
296 Vermicompost V1 is the most effective amendment in increasing the soil sorption

297 capacity of diuron although it did not increase the soil's OC content significantly (Table
298 2). This may be attributed to its higher lignin content, as reported in previous studies
299 (Romero *et al.*, 2006; Romero *et al.*, 2007). Nevertheless, V2 has a HA-like content
300 twice that for V3, which also contributes to the diuron sorption process (Senesi, 1992;
301 Romero *et al.*, 2007). Finally, V3, with the lowest HA/FA and lignin content as well as
302 the highest DOC content, contributes least to diuron sorption. The correlation between
303 CEC and HA-like explains the 54 % variation in CEC, although, as reported in
304 Fernández-Bayo *et al.* (2008), the smectite and lignin content in clay soil S2 must also
305 be taken into account. Consequently, vermicompost properties alone can not explain the
306 differences observed in K_f values between sandy and clay soils, which points to the
307 influence of soil components. The variations in K_{oc} data (Figure 2b) showed that
308 sorption is not only related to OC content but also to the chemical nature of this
309 exogenous OC and the interaction between the organic matter and clay minerals in the
310 soils as was recently pointed out (Liyanage *et al.*, 2006; Ahangar *et al.*, 2008). The
311 differences observed between theoretical and experimental DOC contents in the
312 amended soils were actually more apparent in S2. This means that organo-mineral
313 interactions may reduce the diuron sorption efficiency of organic carbon in amended S2
314 samples and may help to reduce K_{oc} values related to those from the unamended soils. A
315 similar effect has been described by Cox *et al.* (2007) in clay soils after organic-
316 amendment where the liquid phase comes from the composting of olive-refinery waste.
317 Furthermore, the negative correlation between DOC and K_f values confirms that DOC
318 has a negative impact on diuron sorption. This negative effect could be due to three
319 possible factors associated with DOC-soil interactions: (i) as DOC increases OC tends
320 to decrease in the solid phase capable of retaining diuron; (ii) DOC could compete with
321 diuron for sorption sites and (iii) DOC can link up with the pesticide forming soluble

322 complexes (Spark & Swift, 2002; Cox *et al.*, 2007). Whatever the explanation, in no
323 case does DOC from vermicompost have a greater affinity to diuron and hardly
324 decrease its sorption. This absence of DOC affinity to diuron has been observed for V1
325 and V2 in previous soil fractionation studies (Fernández-Bayo, J.D. *et al.* 2007). In
326 addition, the high DOC values for V3 make the water solution more hydrophobic, and
327 as the amendment ratio is increased, so too is the hydrophobicity in the solution, which
328 could also explain the relatively lower K_{oc} values for 10%-amended soils. Affinity of
329 diuron and DOC to alperujo has already been described (Cox *et al.*, 2007).

330 The $1/n$ values were generally lower for S2 samples than S1 samples. It has been
331 suggested that sorption of hydrophobic organic compounds by the soil's OC occurs
332 through partitioning into both flexible and rigid domains (Xing & Pignatello, 1997) and
333 through adsorption-like micropore-filling retention interactions that occur at the
334 intramatrix surface of the rigid domain (Farenhorst, 2006). Thus, the flexible domain
335 generates a linear sorption isotherm ($1/n=1$), while the rigid domain characterised by
336 competitive sorption generates a non-linear sorption isotherm (Gunasekara & Xing,
337 2003), with the results showing that S2 has a greater number of rigid domains.
338 Nevertheless, the addition of vermicompost also increased $1/n$ values despite organo-
339 mineral interactions.

340 With respect to S1, a decrease in diuron sorption in fine sandy soil due to the
341 presence of Ca^{2+} in the solution has already been reported by Alva *et al.* (1990). The
342 reduction in diuron sorption is directly attributed to cations either through complexation
343 reactions to herbicides or through competition from the cations for sorption sites. In
344 addition, SOM contains amphiphilic molecules with both hydrophilic and hydrophobic
345 characteristics (Kleber *et al.*, 2007). The presence of Ca^{2+} in the solution may modify
346 the distribution of the organic matter, which could redistribute the hydrophilic

347 functional groups in the solution by reducing the hydrophobicity in the outer layer, thus
348 reducing diuron sorption capacity. On the other hand, in clay soil S2, the ionic strength
349 effect caused by CaCl_2 played a minor role in the K_f value may be due to the larger
350 amount of clay mainly smectites, (Fernández-Bayo *et al.* 2008) and the higher CEC
351 levels (Table 2). Li *et al.* (2006), therefore found that changes in the CaCl_2 solution
352 concentration (0.005M - 0.10M) have little influence on diuron sorption by Ca-
353 Smectite. The addition of vermicomposts was also observed to affect ionic strength.
354 Nevertheless, vermicompost addition increased CEC levels and the number of available
355 sorption sites for diuron, meaning that the competition effect should be less important.
356 Murphy *et al.* (1994) have reported that the configuration of humic acids in the solution
357 was influenced by ionic strength (I). At low I (0.005), humic acids have an elongated
358 structure and occupies a higher surface mineral area than at high I (0.1). This could
359 better explain the generally lower sorption of diuron in the CaCl_2 solution and could
360 also be related to the lower sorption by V3 amendments with the highest EC values
361 (Table 1).

362 Hysteresis and weak desorption are usually attributed to the following causes: (i)
363 degradation of parent compounds during desorption (ii) irreversible binding on specific
364 sorption sites (iii) herbicide diffusion in soil micropores, (iv) non-attainment of
365 equilibrium during the sorption or desorption process and (v) trapping of sorbed
366 molecules (Mamy & Barriuso, 2007). In previous sorption kinetic studies no
367 degradation was found before 72 h, and equilibrium was reached before 6h of solid-
368 solution contact time (Fernández-Bayo *et al.*, 2008). Herbicide diffusion in soil
369 micropores is a long-term process related to the ageing process (Fernández-Bayo *et al.*,
370 2007). This hysteresis process may therefore be due to the specific binding or trapping
371 of diuron. S1 recorded the lowest AHI value (Table 4) which means that sorption is

372 stronger than in the other samples. On the other hand, in S2, because the AHI value was
373 higher, diuron sorption was weaker (Table 4). Moreau-Kervevan & Mouvet, (1998),
374 have reported that although the sorption of atrazine in clay is generally reversible, the
375 sorption of organic matter is less so. The addition of V1 to S2 not only increases the
376 sorption capacity of the soil due to the presence of lignins but also reduces desorption in
377 this soil. V3 has the highest AHI for both soils, which proved that diuron had the lowest
378 affinity to the OC of alperujo (Cabrera *et al.*, 2007).

379 The incubation process reduced the sorption capacity of the soils amended with
380 V1 and V2 (Figure 2a, Figure 4). However, the OC content of the samples only fell in
381 S1V2 and S2V1 (Figure 4). Consequently, this reduction in the sorption capacity of the
382 rest of the samples can only be explained by changes in the structure or conformation of
383 the organic polymers from the vermicompost, which were not mineralized during
384 incubation. Figure 4, shows that the HA-like content decreased considerably after 6
385 weeks in S1V1 but increased in S2V1 and S2V2. The reduction of HA-like in S1V1
386 may be due to the transformation of substances liable to degradation by
387 microorganisms. Also, in S2, clay's interaction with V1 and V2 may form organo-
388 mineral complexes that protect the vermicomposts from degradation (Kleber *et al.*,
389 2007) and enhance humification. Thus, in S1V1, the reduction in K_f values may be
390 related to the decrease in HA-like substances, which have already been described as
391 highly reactive to hydrophobic pesticides (Polcaro *et al.*, 2007). However, in S2V1 and
392 S2V2, methodological errors in determining HA-like substances which are not actually
393 of this type at all may better explain the increase, thus masking the effect observed in
394 S1V1. Finally, V3 did not show any major changes in its sorption capacity for both
395 soils, suggesting that diuron is mainly sorbed in the most stable OC fraction of this
396 vermicompost.

397

398 Conclusions

399 The modification of the soil properties due to amendment addition improves the
400 diuron sorption in the soils with low OC content. Meanwhile, desorption process was
401 not enhanced by the new DOC from exogenous organic matter. However, the DOC and
402 Ca^{2+} seem to have a negative impact on diuron sorption. Vermicompost V1 is the most
403 effective amendment in increasing the soil sorption capacity of diuron. Finally the
404 incubation of the vermicompost-amended soil decreased the sorption efficiency in those
405 from winery after 6 weeks of incubation; however, V3 suggests that diuron is mainly
406 sorbed in the most stable OC fraction of this vermicompost. Therefore, these
407 vermicompost can be applied to Mediterranean soil without the risk of increasing diuron
408 or related pesticides lixiviation.

409

410 Acknowledgement

411 This study was financed by projects REN2003-04693 and CTM2006-12214.
412 within the Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). J.D. Fernández-
413 Bayo would like to thank the Science and Education Ministry for their FPI doctoral
414 grant. The authors would also like to extend their thanks to A. Salido for her kind
415 assistance and to M.O'Shea for proof-reading the study.

416

417

418 References

419

- 420 Ahangar,A.G., Smernik,R.J., Kookana,R.S. & Chittleborough,D.J. 2008. Clear effects
421 of soil organic matter chemistry, as determined by NMR spectroscopy, on the
422 sorption of diuron. *Chemosphere*, **70**, 1153-1160.
- 423 Ahmad,R., Kookana,R.S., Alston,A.M. & Skjemstad,J.O. 2001. The nature of soil
424 organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon

- 425 chemistry as determined by ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy. *Environmental*
426 *Science and Technology*, **35**, 878-884.
- 427 Albiach,R., Canet,R., Pomares,F. & Ingelmo,F. 2001. Organic matter components,
428 aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with
429 different rates of two sewage sludges during ten years. *Bioresource Technology*,
430 **77**, 109-114.
- 431 Alva,A.K.& Singh,M. 1990. Effects of soil-cation composition on reactions of four
432 herbicides in a candler fine sand. *Water, Air, & Soil Pollution*, **52**, 175-182.
- 433 Cabrera,A., Cox,L., Velarde,P., Koskinen,W.C. & Cornejo,J. 2007. Fate of diuron and
434 terbuthylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *Journal of*
435 *Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4828-4834.
- 436 Carpenter-Boggs,L., Kennedy,A.C. & Reganold,J.P. 2000. Organic and biodynamic
437 management: Effects on soil biology. *Soil Science Society of America Journal*,
438 **64**, 1651-1659.
- 439 Cox,L., Koskinen,W.C., Celis,R., Yen,P.Y., Hermosin,M.C. & Cornejo,J. 1998.
440 Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components. *Soil*
441 *Science Society of America Journal*, **62**, 911-915.
- 442 Cox,L., Velarde,P., Cabrera,A., Hermosín,M.C. & Cornejo,J. 2007. Dissolved organic
443 carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended
444 soils. *European Journal of Soil Science*, **58**, 714-721.
- 445 De Jonge,H.& De Jonge,L.W. 1999. Influence of pH and solution composition on the
446 sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. *Chemosphere*, **39**,
447 753-763.
- 448 Dios Cancela,G., Romero Taboada,E. & Sanchez-Rasero,F. 1992. Carbendazim
449 adsorption on montmorillonite, peat and soils. *Journal of Soil Science*, **43**, 99-
450 111.
- 451 Elvira,C., Sampedro,L., Benítez,E. & Nogales,R. 1998. Vermicomposting of sludges
452 from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot-scale study.
453 *Bioresource Technology*, **63**, 205-211.
- 454 Farenhorst,A. 2006. Importance of soil organic matter fractions in soil-landscape and
455 regional assessments of pesticide sorption and leaching in soil. *Soil Science*
456 *Society of America Journal*, **70**, 1005-1012.
- 457 Fernández-Bayo J.D., Romero, E., Schnitzler, F, and Burauel, P. 2007. Assessment of
458 pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery
459 vermicompost. *Environmental Pollution*, **153**, 330-337.
- 460 Fernández-Bayo,J.D., Nogales,R. & Romero,E. 2008. Evaluation of the Sorption
461 Process for Imidacloprid and Diuron in Eight Agricultural Soils from Southern
462 Europe Using Various Kinetic Models. *Journal of Agricultural and Food*
463 *Chemistry*, **56**, 5266-5272.

- 464 Ferreras,L., Gomez,E., Toresani,S., Firpo,I. & Rotondo,R. 2006. Effect of organic
465 amendments on some physical, chemical and biological properties in a
466 horticultural soil. *Bioresource Technology*, **97**, 635-640.
- 467 Gallardo-Lara,F.& Nogales,R. 1987. Effect of the application of town refuse compost
468 on the soil-plant system: a review. *Biological Wastes*, **19**, 35-62.
- 469 Giles,C.H., MacEwan,T.H., Nakhwa,S.N. & Smith,D. 1960. Studies in adsorption. Part
470 XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in
471 diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface
472 areas of solids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 3973-3993.
- 473 Goering,H.& Van Soest,P. 1970. Forage Ceber analysis (apparatus reagent procedure
474 and some applications). In: USDA Agriculture Handbook (ed USDA-ARS), pp.
475 1-11. Washington.
- 476 Gunasekara,A.S.& Xing,B. 2003. Sorption and desorption of naphthalene by soil
477 organic matter: Importance of aromatic and aliphatic components. *Journal of*
478 *Environmental Quality*, **32**, 240-246.
- 479 Kiem,R., Knicker,H. & Kögel-Knabner,I. 2002. Refractory organic carbon in particle-
480 size fractions of arable soils I: Distribution of refractory carbon between the size
481 fractions. *Organic Geochemistry*, **33**, 1683-1697.
- 482 Kleber,M., Sollins,P. & Sutton,R. 2007. A conceptual model of organo-mineral
483 interactions in soils: Self-assembly of organic molecular fragments into zonal
484 structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry*, **85**, 9-24.
- 485 Li,H., Teppen,B.J., Laird,D.A., Johnston,C.T. & Boyd,S.A. 2006. Effects of Increasing
486 Potassium Chloride and Calcium Chloride Ionic Strength on Pesticide Sorption
487 by Potassium- and Calcium-Smectite. *Soil Science Society of America Journal*,
488 **70**, 1889-1895.
- 489 Liyanage,J.A., Watawala,R.C., Aravinna,A.G.P., Smith,L. & Kookana,R.S. 2006.
490 Sorption of carbofuran and diuron pesticides in 43 tropical soils of Sri Lanka.
491 *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 1784-1791.
- 492 M.A.P.A. 1986. *Métodos Oficiales de Análisis. Tomo III. Plantas, productos orgánicos*
493 *fertilizantes, suelos, agua, productos fitosanitarios y fertilizantes inorgánicos.*
494 Publicaciones del Ministerio de Agricultura,Pesca y Alimentación, Madrid.
- 495 Malato,S., Blanco,J., Cáceres,J., Fernández-Alba,A.R., Agüera,A. & Rodríguez,A.
496 2002. Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and
497 TiO₂ using solar energy. *Catalysis Today*, **76**, 209-220.
- 498 Mamy,L.& Barriuso,E. 2007. Desorption and time-dependent sorption of herbicides in
499 soils. *European Journal of Soil Science*, **58**, 174-187.
- 500 Moreau-Kervevan,C.& Mouvet,C. 1998. Adsorption and Desorption of Atrazine,
501 Deethylatrazine, and Hydroxyatrazine by Soil Components. *Journal of*
502 *Environmental Quality*, **27**, 46-53.

- 503 Murphy,E.M., Zachara,J.M., Smith,S.C., Phillips,J.L. & Wietsma,T.W. 1994.
504 Interaction of Hydrophobic Organic Compounds with Mineral-Bound Humic
505 Substances. *Environmental Science & Technology*, **28**, 1291-1299.
- 506 Nogales,R., Thompson,R., Calmet,A., Benítez,E., Gómez,M. & Elvira,C. 1998.
507 Feasibility of vermicomposting residues from olive oil production obtained
508 using two stage centrifugation. *Journal of Environmental Science and Health -*
509 *Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, **33**, 1491-
510 1506.
- 511 Plaza,C., Nogales,R., Senesi,N., Benitez,E. & Polo,A. 2008. Organic matter
512 humification by vermicomposting of cattle manure alone and mixed with two-
513 phase olive pomace. *Bioresource Technology*, **99**, 5085-5089.
- 514 Polcaro,A.M., Vacca,A., Mascia,M. & Palmas,S. 2007. Electrokinetic removal of 2,6-
515 dichlorophenol and diuron from kaolinite and humic acid-clay system. *Journal*
516 *of Hazardous Materials*, **148**, 505-512.
- 517 Romero,E., Salido,A., Cifuentes,C., Fernández,J.D. & Nogales,R. 2006. Effect of
518 vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial
519 wastes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **86**, 289-
520 297.
- 521 Romero,E., Plaza,C., Senesi,N., Nogales,R. & Polo,A. 2007. Humic acid-like fractions
522 in raw and vermicomposted winery and distillery wastes. *Geoderma*, **139**, 397-
523 406.
- 524 Romero,T., Barifouse,M., Rasero,F.S., Peña,A., De La,C.G. & Dios,C. 1997. Fate of
525 methabenzthiazuron in calcareous soils from southeastern Spain. *Journal of*
526 *Environmental Quality*, **26**, 466-471.
- 527 Sánchez,L., Peña,A., Sánchez-Rasero,F. & Romero,E. 2003. Methidathion degradation
528 in soil amended with biosolids and a cationic surfactant: Use of different kinetic
529 models. *Biology and Fertility of Soils*, **37**, 319-323.
- 530 Senesi,N. 1992. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of*
531 *The Total Environment*, **123-124**, 63-76.
- 532 Sheng,G., Yang,Y., Huang,M. & Yang,K. 2005. Influence of pH on pesticide sorption
533 by soil containing wheat residue-derived char. *Environmental Pollution*, **134**,
534 457-463.
- 535 Spark,K.M.& Swift,R.S. 2002. Effect of soil composition and dissolved organic matter
536 on pesticide sorption. *Science of The Total Environment*, **298**, 147-161.
- 537 Tomlin,C.D.S. 2003. *The Pesticide Manual*. British Crop Protection Council.UK.
- 538 Wauchope,R.D., Yeh,S., Linders,J.B.H.J., Kloskowski,R., Tanaka,K., Rubin,B.,
539 Katayama,A., Kördel,W., Gerstl,Z., Lane,M. & Unsworth,J.B. 2002. Pesticide
540 soil sorption parameters: Theory, measurement, uses, limitations and reliability.
541 *Pest Management Science*, **58**, 419-445.

- 542 Xing,B.& Pignatello,J.J. 1997. Dual-mode sorption of low-polarity compounds in
543 glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter. *Environmental Science and*
544 *Technology*, **31**, 792-799.

For Peer Review

FIGURE CAPTIONS

Figure 1. Dissolved organic carbon in the solid samples in the unamended and 5% amended soil samples (a) and dissolved organic carbon theoretical versus experimental in the solution in 5% amended samples (b).

Figure 2. Sorption constant values of K_f and K_{oc} for unamended soils S1 and S2 and 5% and 10% amended with the three vermicomposts (V1, V2 and V3).

Figure 3. Diuron sorption-desorption isotherms in unamended soils S1 (a); S2 (b) and 10% amended with the three vermicomposts (V1, V2 and V3) in the 0.01M CaCl_2 solution. S1+V1 (c); S2+V1 (d); S1+V2 (e); S2+V2 (f); S1+V3 (g); S2+V3 (h). X is the pesticide concentration in soil and CE is the pesticide concentration in the solution.

Figure 4. Differences between K_f , HA-like and OC for the 5% amended samples non incubated and incubated 6 weeks.

TABLES

Table 1. Properties and humification parameters of the vermicomposts V1, V2 and V3.

Vermicomposts	pH	OC %	DOC mg l ⁻¹	DOC ^Ω %	HA-like %	HA/FA	Lignins %	E.C. dS m ⁻¹	HR ^γ %	HI ^ζ
V1	7.0	34.4 ^a	353 ^a	3.94 ^a	3.5	1.3	43.4	0.8	18	10
V2	7.3	29.5 ^b	341 ^a	4.81 ^a	14.6	1.4	25.5	1.4	84	49
V3	8.6	29.2 ^b	846 ^b	11.47 ^b	7.5	0.6	20.0	2.5	86	52

^{letter} Group with significant differences (P<0.05)

^Ω % of DOC with respect to total OC content

^γ Humification rate

^ζ Humification index

For Peer Review

Table 2. Properties of unamended and 5% and 10% amended soils with the three vermicomposts, V1, V2 and V3, and 10% amended samples incubated for 6 weeks.

Soil samples	pH	OC ₀ – OC ₆ ^ψ (%)	DOC mg L ⁻¹	DOC ^Ω (%)	HA-like ₀ -HA-like ₆ ^ψ (%)	C.E.C. cmol _c kg ⁻¹	E.C. dS m ⁻¹
S1	6.00	0.43 ^a	142.00 ^b	8.78 ^b	0.14 ^a	12.86 ^a	0.07
S1V1 5%	6.73	1.92 ^c	324.58 ^g	3.38 ^g		17.12 ^b	0.20
10%	6.68	3.11 ^{d-h} - 3.13 ^{d-h}			0.37 ^b - 0.16 ^a	21.41 ^c	0.25
S1V2 5%	6.98	1.98 ^c	293.50 ^f	2.96 ^f		16.84 ^b	0.31
10%	6.99	3.13 ^{d-h} - 2.68 ^d			0.34 ^b - 0.35 ^b	21.80 ^c	0.50
S1V3 5%	7.26	1.80 ^c	456.25 ^h	5.05 ^h		17.48 ^b	0.38
10%	7.07	3.20 ^{f-h} - 3.25 ^{f-h}			0.55 ^{cd} - 0.53 ^c	20.56 ^c	0.61
S2	8.20	1.07 ^b	110.42 ^a	2.64 ^a	0.33 ^b	28.77 ^d	0.25
S2V1 5%	7.80	2.93 ^{d-f}	250.67 ^d	1.71 ^d		30.96 ^{de}	0.42
10%	7.68	3.55 ^h - 3.42 ^{g-h}			0.49 ^c - 0.56 ^{cd}	36.15 ^h	0.48
S2V2 5%	7.91	2.86 ^{d-f}	189.33 ^c	1.33 ^c		31.76 ^{df}	0.51
10%	7.75	4.18 ⁱ - 4.22 ⁱ			0.56 ^{cd} - 0.62 ^{de}	36.05 ^{gh}	0.66
S2V3 5%	8.09	2.56 ^{d-e}	274.33 ^e	2.06 ^e		33.79 ^{fg}	0.54
10%	8.01	4.60 ⁱ - 3.41 ^{g-h}			0.74 ^f - 0.69 ^{ef}	35.34 ^{gh}	0.86

^{letter} Group with significant differences (P<0.05)

^Ω Normalized DOC content with respect to total OC in the sample

^ψ data before and after 6 weeks of incubation.

Table 3. Freundlich sorption constant values (K_f and $1/n$), determination coefficients, normalized diuron sorption constants (K_{oc}) of unamended and 5% and 10% amended samples and 10% amended soils after 6 weeks of incubation (K_{f6}).

Soil samples	Non-incubated				Incubated			
	$K_f \pm SE^{\S}$	$1/n \pm SE$	R^2	K_{oc}^{\S}	$K_f \pm SE^{\Omega\S}$	$1/n \pm SE^{\Omega}$	$R^{2\Omega}$	$K_{oc}^{\S\Omega}$
S1	4.95±0.05	0.84±0.04	0.95	1374.5				
S1V1 (5%)	13.22±0.01	0.87±0.01	1.00	687.54				
(10%)	24.44±0.01	1.02±0.01	1.00	941.77	13.61±0.36	0.94±0.04	1.00	434.82
S1V2 (5%)	11.89±0.03	0.97±0.05	0.99	598.86				
(10%)	20.07±0.04	0.91±0.03	1.00	640.91	15.99±0.42	0.94±0.09	1.00	596.64
S1V3 (5%)	7.98±0.01	0.93±0.02	1.00	442.32				
(10%)	12.53±0.02	0.94±0.03	1.00	392.07	12.33±0.34	0.85±0.03	0.99	379.38
S2	7.84±0.04	0.80±0.02	1.00	842.77				
S2V1 (5%)	17.58±0.03	0.87±0.03	1.00	600.80				
(10%)	26.77±0.02	0.92±0.01	1.00	712.28	17.44±0.61	0.86±0.04	0.99	509.94
S2V2 (5%)	17.14±0.02	0.88±0.02	1.00	598.41				
(10%)	27.57±0.02	0.90±0.01	1.00	658.89	20.96±1.06	0.94±0.05	0.99	496.68
S2V3 (5%)	13.05±0.04	0.88±0.03	0.99	503.86				
(10%)	17.19±0.00	0.85±0.00	1.00	373.53	16.57±0.82	0.88±0.05	0.99	485.92

^Ω K_f values after 6 weeks of incubation.

[§] ($\mu\text{g}^{1-1/n} \text{g}^{-1} \text{mL}^{-1}$)

SE, standard error

Table 4. Freundlich diuron sorption-desorption parameter in unamended soils S1 and S2 and 10% amended with the three vermicomposts (V1, V2 and V3) in 0.01M CaCl₂.

Soil sample	$Kf_{ads} \pm SE^{\S}$	$1/n_{ads} \pm SE$	R^2	$Kf_{des} \pm SE^{\S}$	$1/n_{des} \pm SE$	R^2	AHI ^Ω
S1	2.74±0.09	0.89±0.04	0.99	5.96±0.05	0.24±0.01	0.99	0.26
S1V1	14.13±0.07	1.01±0.01	1.00	16.75±0.08	0.39±0.01	1.00	0.39
S1V2	16.29±0.24	1.06±0.03	0.99	17.37±0.26	0.44±0.03	0.99	0.49
S1V3	9.77±0.05	1.04±0.01	1.00	13.11±0.07	0.50±0.01	1.00	0.53
S2	8.15±0.06	0.74±0.01	1.00	10.99±0.05	0.26±0.01	1.00	0.35
S2V1	17.32±0.40	0.98±0.04	0.97	18.67±0.43	0.29±0.04	0.96	0.30
S2V2	19.34±0.27	1.00±0.02	0.98	19.05±0.27	0.35±0.02	0.99	0.35
S2V3	13.92±0.08	0.97±0.01	0.99	16.14±0.09	0.40±0.01	1.00	0.41

^Ω AHI (Apparent hysteresis Index) = $(1/n_{des}) / (1/n_{ads})$

[§] $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{g}^{-1} \text{mL}^{-1}$

SE, standard error

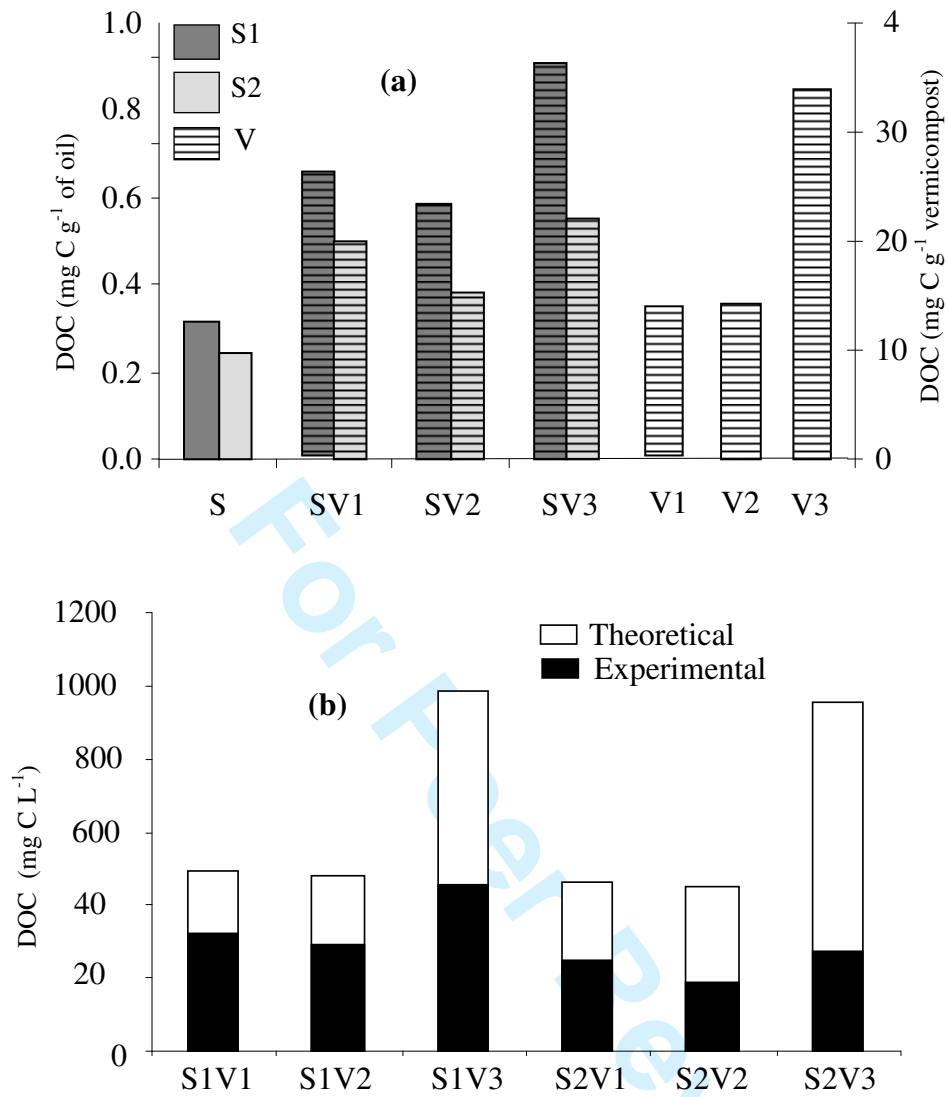


Figure 1

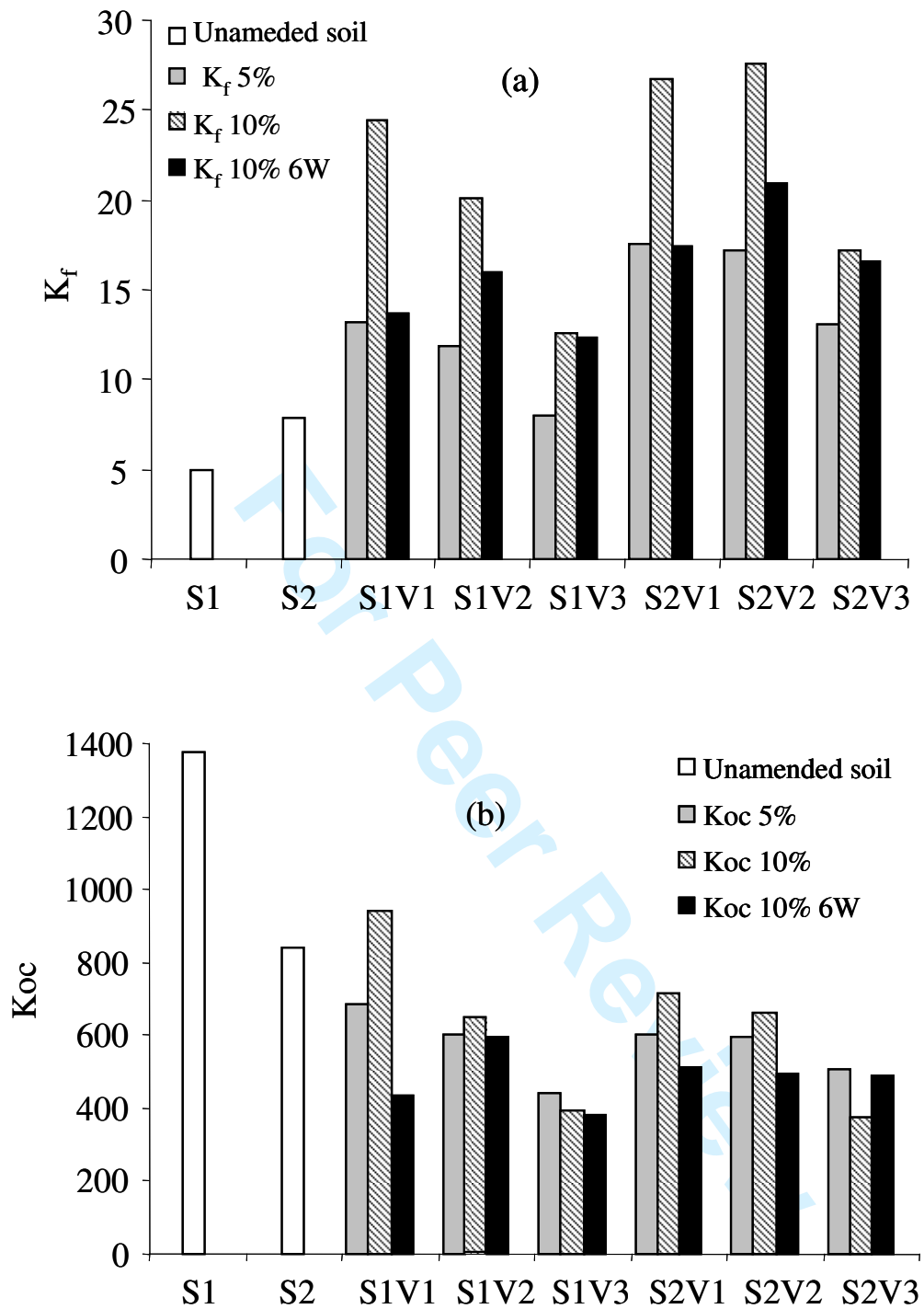


Figure 2

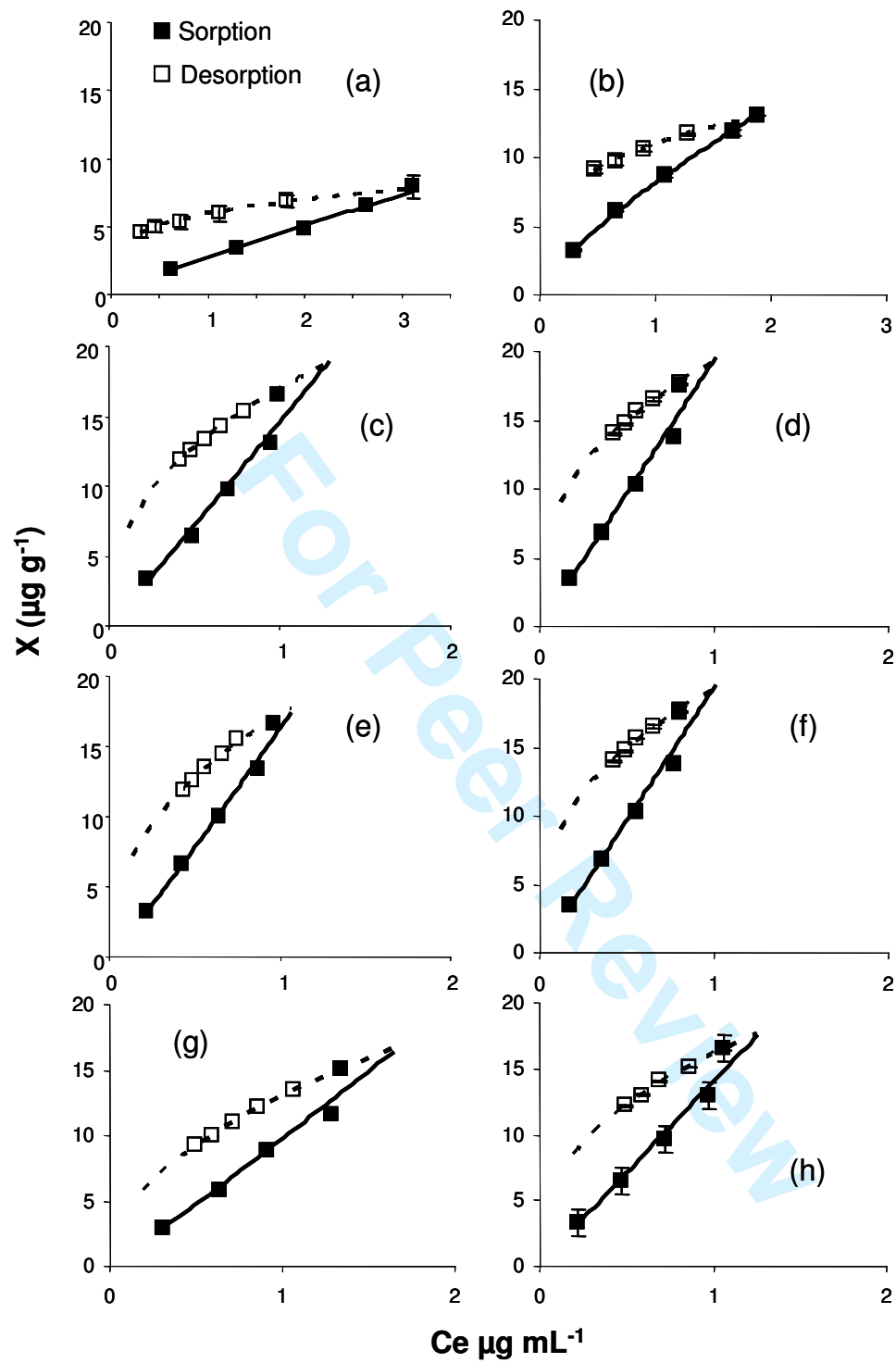


Figure 3

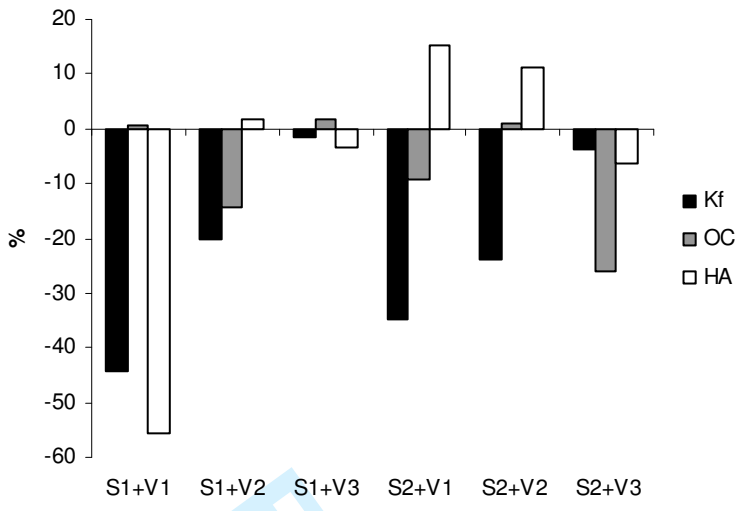
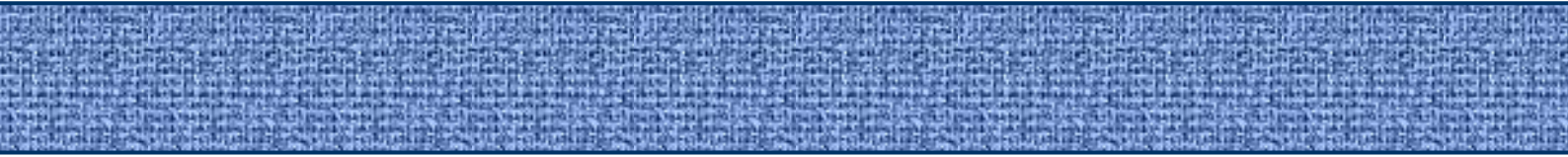


Figure 4

For Peer Review

CAPÍTULO 7

VALORACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD DE PLAGUICIDAS EN LAS FRACCIONES DEL SUELO DESPUÉS DE INCORPORAR VERMICOMPOSTS PROCEDENTES DE INDUSTRIAS VITIVINÍCOLAS Y ALCOHOLERAS



Resumen.

Se estudió la influencia de los vermicompost de dos residuos, uno vitivinícola y otro alcoholero, en la distribución de diurón en un suelo agrario. El fraccionamiento físico del suelo a los 0, 9, 27, 49 y 77 días, permitió la cuantificación de los residuos del plaguicida en las fracciones de tamaño de partícula diferentes, fracción gruesa de los residuos (WF), fracción de tamaño semejante a la arena (SF), fracción de tamaño semejante al limo (SiF) y la fracción del tamaño de la materia orgánica disuelta (DOM). La fracción SiF tuvo mayor contribución a la formación de residuos no extraíbles en el suelo sin enmendar, en cambio, cuando el suelo fue enmendado, aparecía una nueva fracción capaz de adsorber, la WF, ésta fracción era más importante en el vermicompost V2, que era el más humificado. El carbono orgánico disuelto incrementó con la adición de vermicomposts, sin embargo, esto no supuso un incremento en la concentración desorbida del compuesto marcado con ^{14}C . No se observó un incremento significativo en el tiempo de la fracción no extraíble en las enmiendas. El diurón fue transformado en todas las muestras, aunque sólo se mineralizó una fracción inferior al 0,5%. El principal efecto que tuvo la incorporación de enmiendas al suelo fue un descenso significativo en la fracción disponible de diurón.

Assessment of pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery vermicomposts

J.D. Fernández-Bayo^{a,*}, E. Romero^a, F. Schnitzler^b, P. Burauel^b

^a Department of Environmental Protection, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), C/Profesor Albareda 1, 18008 Granada, Spain

^b Agrosphere Institute, ICG 4, Forschungszentrum Jülich, Jülich, Germany

Received 8 August 2007; received in revised form 26 September 2007; accepted 6 October 2007

Winery vermicomposts as organic amendments to reduce pesticide pollution.

Abstract

The influence of two vermicomposts from winery and distillery wastes on the distribution of diuron in agricultural soil was studied. Physical soil fractionations at 0, 9, 27, 49 and 77 days, allowed the quantification of pesticide residues in different particle-size fractions, coarse waste (WF), sand-sized (SF), silt-sized (SiF), clay-sized (CF) and dissolved organic matter-sized fraction (DOM). The SiF made a greater contribution to the formation of non-extractable residues in unamended soil, but when vermicomposts were added, new sorption sites in WF appeared, being higher for the more humified vermicompost V2. The dissolved organic carbon (DOC) increased with the addition of vermicompost, but the concentration of the desorbed ¹⁴C-radiochemical did not increase. Non-significant increment was observed with time for the non-extractable fraction with amendments. Diuron was transformed in all samples, although less than 0.5% was mineralized. The main effect caused by vermicomposts was a reduction in the availability of diuron in soil.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Physical fractionation; Vermicompost; Diuron; Sorption; Dissolved organic carbon

1. Introduction

Pesticides are necessary in crop production systems. However, they become a problem when their residues move freely, as they impair water quality and pose a risk to human health and the ecosystem. This potential risk can be minimized and even avoided by various agricultural practices depending on the type of agricultural soil.

Once a pesticide reaches the soil surface, it undergoes processes of sorption-desorption and diffusion that result in a distribution of the parent or its metabolites in different soil fractions (Wanner et al., 2005): a) non-extractable or bound, through

covalent bonding, sequestration...; b) adsorbed, through Van der Waals forces, weak electrostatic interaction...; c) free, in the soil solution that can be degraded by microorganisms from the soil solution; and finally d) incorporated in microorganisms for metabolization and mineralization processes. The higher the sorption of pesticide residues and the longer the contact time with the soil matrix, the more strongly the compound is associated with soil components (ageing effect). The distribution of these residues in different soil fractions and the movement of the pesticide through soils are mainly related to: (i) soil properties which control water movement; (ii) pesticide-soil interactions, where organic carbon content is the most relevant characteristic; and (iii) weather patterns which controls the timing of major leaching events (Walker et al., 2005). Thus, the addition of exogenous organic matter (EOM) must contribute to the spatial distribution of pesticides encountered in different soil fractions (Séguaris et al., 2005), and consequently affect

* Corresponding author. Department of Environmental Protection, Estación Experimental del Zaidin, CSIC, C/Profesor Albareda, 1, P.O. Box 419, 18008 Granada, Spain. Tel.: +34 958 181 600x126; fax: +34 958 129 600.

E-mail address: jesus.bayo@eez.csic.es (J.D. Fernández-Bayo).

the sorption and/or availability of pesticides. Thus, depending on the EOM characteristics and pesticide molecules, the addition of exogenous organic matter can enhance the sorption of pesticides (Arienzo et al., 1994; Sánchez-Camazano et al., 1996; Romero et al., 2001; Schnitzler et al., 2007) and/or increase the microbial activity (Printz et al., 1995; Sánchez et al., 2003). Soil organic amendments increase the content of dissolved organic matter (DOM), which promotes the enhanced leaching of hydrophobic compounds (Li et al., 2005).

Diuron is considered a priority hazardous substance by the European Commission (Malato et al., 2002). It has been detected in soils, sediments and water (Field et al., 2003) in the form of its more toxic and persistent metabolites, the 3,4-dichloraniline (Giacomazzi and Cochet, 2004).

It is therefore essential that management systems be improved and that the risks associated with this herbicide are reduced by improving the filtering and buffering functions of soils.

Vermicomposts are applied in agricultural management systems to improve the carbon content and fertility of soils. In this study, we investigated the amendment of agricultural soil with low organic matter content and vermicompost in order to increase the sorption and degradation of diuron in the plough layer, and reduce its environmental risk. The vermicomposts used in this study were produced from winery and distillery wastes. These wastes have less toxic compounds than fresh organic wastes (Nogales et al., 1995), are enriched in humic-like substances with similar properties to those of soil (Romero et al., 2007), and they have the ability to adsorb pesticides, including diuron (Romero et al., 2006). To study the effects that vermicompost addition has in the distribution, availability, and mineralization of ^{14}C -diuron residues, soil samples were incubated with two vermicomposts and subjected to physical fractionation at different periods.

2. Materials and methods

The agricultural soil, Chromic Cambisol (Southeast of Spain, 441047E-4222945N, zone 30S), was sampled at 0–15 cm, air dried and sieved (2 mm). Soil composition was: sand 69.90%, silt 17.01% and clay 13.10%. The organic carbon (OC) content was low at 0.36%, and the soil pH was 6.0.

Soil samples were amended with two vermicomposts obtained from spent grape marc (V1) and biosolid vinasse mixed in a ratio of 2:1 with vine shoots (V2). Selected chemical characteristics (Table 1) were determined using validated methods (M.A.P.A., 1986; Goering and Van Soest, 1970).

Diuron and its metabolite 3,4-Dichloraniline, both with a purity of 99%, were supplied by Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Diuron is a systemic herbicide with a water solubility of 42 mg L⁻¹ and K_{ow} of 700 ± 50, 25 °C (Tomlin, 2003). Diuron labelled in the ring (N-3,4-dichloro[ring- ^{14}C]phenyl-

N',N'-dimethyl-urea) with a specific activity of 5.43 MBq mg⁻¹ was from IZOTOP (Institute of Isotopes Co., Ltd., Budapest, Hungary).

2.1. Incubation experiment

Soil samples (1.8 Kg) were incubated unamended (S) and mixed with the vermicomposts at 5%, S + V1 and S + V2, respectively. They were treated with diuron at a rate of 3 µg g⁻¹ with 0.276 µg g⁻¹ (1499 Bq g⁻¹) of the labelled compound and then homogenized. Aliquots of 120 g with a water content of 80% of their field capacities were placed in triplicate into Erlenmeyer flasks and provided with CO₂-traps. They were incubated in a dark thermostatic chamber at 20 °C. Soil fractionation was performed at 0, 9, 22, 49, and 77 days.

2.2. Soil fractionation

Soil samples were subjected to physical fractionation (Fig. 1) following the methodology described by Séquaris and Lewandowski (2003). Air-dried samples (100 g) were shaken horizontally (150 rpm) for 6 h with 200 mL of 0.001 M CaCl₂, and then with 600 mL to carry out physical fractionation. The sand-sized (SF, >20 µm) and silt-size (SiF, 2–20 µm) fractions were separated after 6 min and 12 h of sedimentation, respectively. Coarse fraction were removed from amended soils (mainly grape seeds and vine-shoot pieces) and constituted the denominated waste phase (WF, >2 mm). The clay-sized fraction (CF, 0.05–2 µm) remaining in the supernatant was separated using high-speed centrifugation (10,000 × g during 90 min). The final supernatant was taken as the DOM-sized fraction (DOM, <0.05 µm). The amount of clay-like particles, CF, was very low when measured directly and was determined as 100 – (%SF + %SiF + %DOM).

2.3. Chemical analysis

The soil fractions were extracted for 3 h with acetonitrile-water (60:40) in a ratio of approximately 1:2 (w/v) for SF and WF and in a higher ratio (1:16, w/v) for SiF which contained a small amount of the sample and had a high liquid content. After centrifugation at 7519 × g for 30 min, soil fractions were dried until they reached a constant weight and were then ground. Solid fractions were combusted in triplicate (Tri-Carb[®] Sample Oxidizer 306, Camberra Packard) and the radioactivity was measured in a liquid scintillation counter (LSC; Tri-Carb[®] 2500 or 4530, Camberra Packard). In liquid fractions, the radioactivity was measured by LSC.

The soda lime of the trap was dissolved in HCL (6 N) and the released $^{14}\text{CO}_2$ was trapped in a methanol-ethanolamine (70:30) solution and quantified by LSC.

2.4. Organic carbon analysis and characterization of DOM

The OC content SF and SiF, amended and unamended, was measured with a CHNS analyser (system LECO) and the DOC with a TOC analyser 5050A from Shimadzu. Due to the total combustion of WF to determine the radioactivity, OC values were determined only on the initial day (Table 2) using the Walkley-Black method (M.A.P.A., 1986).

The humification index (HIX) was calculated using the Luminescence spectrometer Cary Eclipse (Varian), dividing the emission intensities in the 435–480 nm range by those in the 300–345 nm region (Burauel and Bassmann, 2005).

Table 1
Vermicompost properties

Vermicompost	pH	TOC g kg ⁻¹	TEC g kg ⁻¹	WSC g kg ⁻¹	HA g kg ⁻¹	FA g kg ⁻¹	C/N	HR %	Lignin g kg ⁻¹
V1 ^a	6.8	344	62	1.2	35	27.5	22	18	434
V2 ^b	7.3	295	247	3.4	146	101	11	84	255

V1^a is vermicompost from spent grape marc; V2^b is vermicompost from biosolid vinasse mixed with vine shoot. TOC: total organic carbon; TEC: total extractable carbon; WSC: water soluble carbon; HA: humic acids; FA: fulvic acids; C/N: carbon-nitrogen ratio; HR: humification ratio.

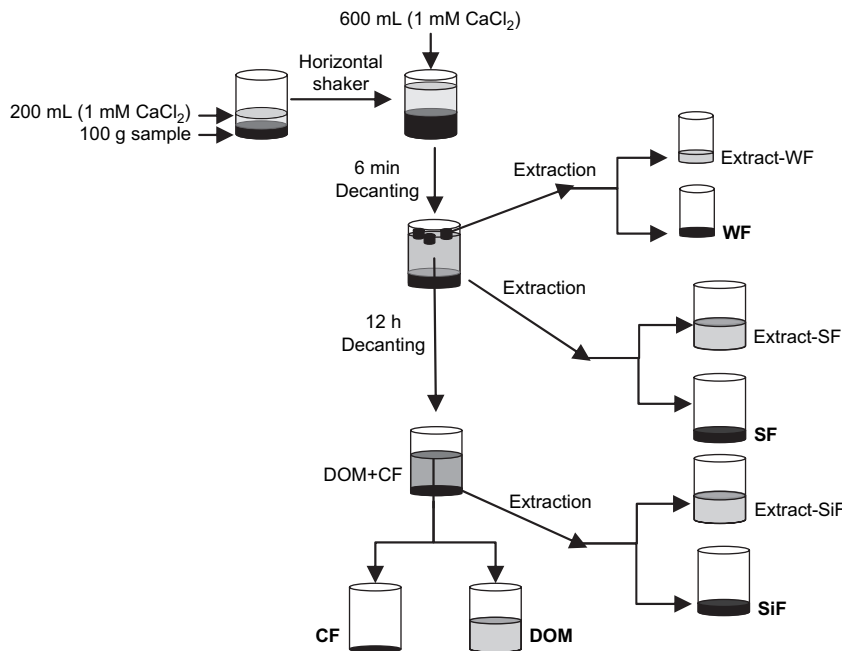


Fig. 1. Physical fractionation of the soil.

2.5. TLC analysis

TLC plates (SILG-25 UV₂₅₄) fortified with 200 μL of extracts and 20 μL at 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of diuron and 3,4-dichloroaniline were developed with a mixture of acetonitrile:water (70:30). The standards were detected under UV₂₅₄ light. The labelled residues were scanned in Fuji Bio-Imager BAS 1000 and analyzed with TINA software V 2.09.

2.6. Analysis of data

Mass distribution in the soil fractions was calculated using Eq. (1).

$$\%_{\text{soil fraction}}^m = \frac{m_{\text{soil fraction}}}{m_s} \times 100 \quad (1)$$

where $m_{\text{soil fraction}}$ is the mass (g) of each fraction and m_s is the total soil mass (g) in dry weight subjected to fractionation.

The distribution of the radiolabelled residue in different soil compartments, non-extractable, extracted, dissolved and mineralized, were worked out with Eq. (2).

$$\%_{\text{compartment}} = \frac{{}^{14}\text{C}_{\text{compartment}}}{{}^{14}\text{C}_{\text{total}}} \times 100 \quad (2)$$

Table 2

Mass and organic carbon percentages determined in isolated soil fractions at different incubation days for unamended soil and soil amended with two vermicomposts

Soil sample	Fraction and OC content	0	9	27	49	77
S	SF	84.43 \pm 1.40	84.99 \pm 0.66	84.91 \pm 0.46	84.77 \pm 0.31	85.73 \pm 1.01
	OC _{SF}	0.25 \pm 0.02	0.22 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.14 \pm 0.01	0.13 \pm 0.01
	SiF	13.39 \pm 0.81	13.85 \pm 0.40	14.13 \pm 0.63	14.20 \pm 0.69	13.37 \pm 0.79
	OC _{SiF}	1.38 \pm 0.05	1.37 \pm 0.02	1.38 \pm 0.03	1.33 \pm 0.02	1.17 \pm 0.01
	CF	1.42 \pm 0.14	1.16 \pm 0.27	0.95 \pm 0.37	1.02 \pm 0.38	0.90 \pm 0.53
	DOC	0.007 \pm 0.00	0.002 \pm 0.00	0.002 \pm 0.00	0.002 \pm 0.00	0.003 \pm 0.00
	S + V1 ^γ	WF	2.80 \pm 0.27 ^a	2.83 \pm 0.86	1.58 \pm 0.39	3.34 \pm 1.81
SF		80.62 \pm 2.24	81.87 \pm 0.96	83.31 \pm 0.69	81.11 \pm 1.24	78.56 \pm 0.22
OC _{SF}		0.98 \pm 0.06	0.84 \pm 0.03	0.77 \pm 0.05	0.97 \pm 0.10	1.17 \pm 0.11
SiF		14.73 \pm 1.82	14.01 \pm 0.34	13.67 \pm 0.37	12.92 \pm 1.08	12.84 \pm 0.32
OC _{SiF}		1.95 \pm 0.01	1.85 \pm 0.10	1.78 \pm 0.01	1.72 \pm 0.25	2.22 \pm 0.05
CF		1.85 \pm 0.66	1.30 \pm 1.01	1.43 \pm 0.15	2.63 \pm 0.51	3.82 \pm 0.36
DOC		0.013 \pm 0.000	0.004 \pm 0.001	0.003 \pm 0.000	0.003 \pm 0.001	0.005 \pm 0.001
S + V2 ^δ	WF	2.30 \pm 0.83 ^b	2.52 \pm 1.90	3.88 \pm 1.60	3.66 \pm 0.52	4.76 \pm 0.86
	SF	81.80 \pm 0.99	81.74 \pm 1.80	79.86 \pm 1.82	78.32 \pm 0.52	76.95 \pm 1.31
	OC _{SF}	0.94 \pm 0.11	0.71 \pm 0.15	0.62 \pm 0.03	0.88 \pm 0.16	0.88 \pm 0.01
	SiF	14.30 \pm 0.30	14.68 \pm 0.47	14.20 \pm 0.67	14.93 \pm 0.08	14.85 \pm 0.62
	OC _{SiF}	1.78 \pm 0.11	1.77 \pm 0.24	2.03 \pm 0.12	1.76 \pm 0.09	2.07 \pm 0.10
	CF	1.60 \pm 0.44	1.06 \pm 0.11	2.06 \pm 0.78	3.09 \pm 0.30	3.43 \pm 0.62
	DOC	0.017 \pm 0.002	0.009 \pm 0.003	0.008 \pm 0.002	0.008 \pm 0.001	0.010 \pm 0.001

V1^γ is vermicompost from spent grape marc; V2^δ is vermicompost from biosolid vinasse mixed with vine shoot.

^a OC content in WF at 0 d for V1 = 41 \pm 2.65%;

^b OC content at 0 d for V2 = 44 \pm 1.40%.

where $^{14}\text{C}_{\text{compartment}}$ is the activity in each fraction (Bq) and $^{14}\text{C}_{\text{total}}$ is the total activity (Bq) in the soil aliquots subjected to physical fractionation (Eq. (3)):

$$^{14}\text{C}_{\text{total}} = \sum (m_{\text{soil fraction}} \times A_{\text{soil fraction}}^{\text{non-extracted}}) + \sum (V_{\text{soil fraction}}^{\text{extracted}} \times A_{\text{soil fraction}}^{\text{extracted}}) + (V_w \times A_w) + ^{14}\text{CO}_2 \quad (3)$$

where $A_{\text{soil fraction}}^{\text{non-extracted}}$ and $A_{\text{soil fraction}}^{\text{extracted}}$ represent the activity remaining in the solid (Bq g^{-1}) and in the liquid fractions (Bq mL^{-1}) after extraction, respectively. $A_{\text{soil fraction}}^{\text{extracted}}$ corresponds to the volume of extractant (mL). A_w (Bq) and V_w (mL) are the activity and volume of the liquid phase containing the DOM-sized fraction, respectively. $^{14}\text{CO}_2$ is the activity from traps (Bq).

The chemical enrichment factor (E) is the ratio of the percentage of radio-labelled residues in each fraction to their correspondent mass calculated with Eq. (1). The E value gives information on the specific weight of soil fractions in the formation of non-extracted or bound residues (Eq. (4)).

$$E_{\text{soil fraction}}^{\text{Bound}} = \frac{\%_{\text{soil fraction}}^{\text{bound}}}{\%_{\text{soil fraction}}^{\text{m}}} \quad (4)$$

2.7. Distribution of the chemicals

Since we did not find an increment in the concentration of the ^{14}C -radioactivity when the amount of DOC was increased in the DOM-sized fraction, the distribution constant (K_d) of ^{14}C -residues in these soil systems was estimated like a two-phase partition model (Eq. (5)).

$$K_d = \frac{C_s}{C_w} = \frac{(^{14}\text{C}_{\text{total}} - ^{14}\text{C}_w \times V_w) / m_s}{C_w} \quad (5)$$

where C_s (Bq g^{-1}) is the concentration in the soil, and C_w is the concentration in the aqueous phase containing the DOM-sized fraction (Bq mL^{-1}).

The calculation of K_d for each soil fraction ($K_d^{\text{soil fraction}}$) was more complex because in order to estimate C_s (Eq. (6)), we had to subtract the activity correspondent from the liquid decanted with the isolated soil fraction (A_{w-s}).

$$C_{\text{soil fraction}} = \frac{^{14}\text{C}_{\text{soil fraction}}^{\text{extracted}} - A_{w-s} + ^{14}\text{C}_{\text{soil fraction}}^{\text{not-extracted}}}{m_{\text{soil fraction}}}, \text{ where } A_{w-s} \text{ is } V_{w-s} \times C_{el} \quad (6)$$

Finally, the normalized K_{oc} values were calculated (Eq. (7)) to compare the sorption ability of the soil samples and their fractions.

$$K_{oc} = \frac{K_d}{OC} \times 100 \quad (7)$$

2.8. Statistical analysis

One-way analysis of variance (ANOVA; Fisher test at 95% confidence level) was applied to these results using the program STATISTICA (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

3. Results and discussion

3.1. Distribution of soil fractions

Table 2 shows the mass percentages of each soil fraction (Eq. (1)) and their corresponding OC content at different incubation periods from soil samples with and without vermicomposts. The low clay and silt percentages isolated compared with those obtained from textural analysis (see Section 2) reveals that a high percentage of these fractions remains aggregated with other soil particles.

In the soil sample S , the percentages of SF, SiF and CF fractions during the incubation period were almost constant and

confirm no structural change in the soil and thus a fairly strong stability of aggregates. The OC content in the silt-like fraction (OC_{SiF}) at day 0 was five-fold higher than in the sand-sized particles and it decreased significantly in both cases during the incubation period ($P < 0.05$). In SF (OC_{SF}), this variation occurred predominantly during the first 27 days, in OC_{SiF} after 27 days, while in the DOC primarily during the first 9 days of the incubation. This could be due to the natural decomposition of organic material (Kiem et al., 2002), the different accessibility of the OC in these fractions, and its exchange.

In the amended soil samples $S + V1$ and $S + V2$, the amount of sand-like fraction was lower compared to the untreated S sample. This is due to the 5% of vermicompost added, where WF accounts for more than 2% (Table 2). The variation in the amount of SiF and CF with the amendments was considered irrelevant due to experimental error and lack of homogenization in the samples. However, a significant increment ($P < 0.05$) was obtained in the OC content of SF and SiF at 0 d. In SF, this was three times the amount measured in the S sample, while it was less evident in SiF. This result is logical since this fraction is partially made up of silt-size and colloidal-size fractions and consequently has the largest surface area available for interactions with the exogenous organic matter from vermicomposts. Nevertheless, vermicomposts significantly increased the OC content measured in the DOM-sized fraction ($P < 0.001$) following the order of $S < S + V1 < S + V2$ (Fig. 2a). During the first 9 d of incubation, a significant reduction in DOC was observed in all samples, and more importantly in the amended

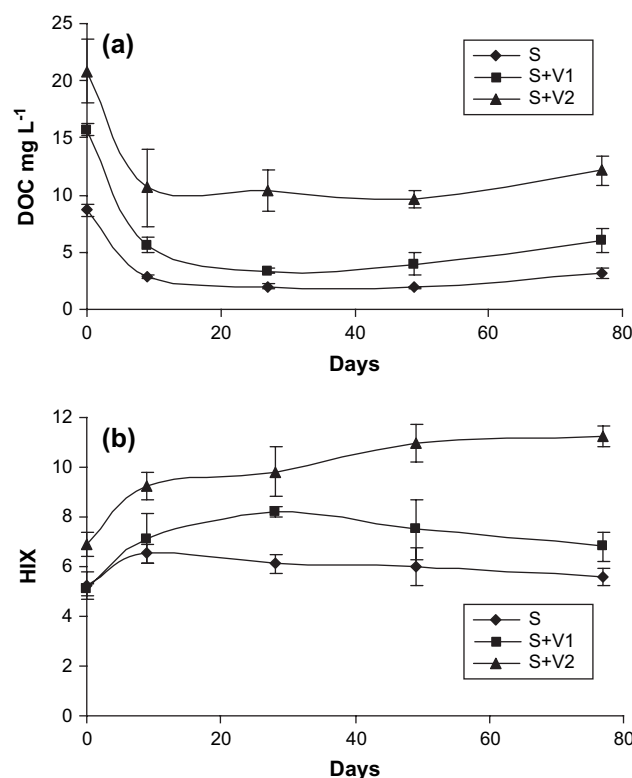


Fig. 2. (a) Dissolved organic carbon and (b) humification index of the DOM-sized fraction measured during the incubation period in unamended (S) and amended ($S + V1$ and $S + V2$) soil samples.

ones. After 9 d, slight variations in DOC were observed but they remained considerably higher for $S + V2$.

Values of HIX calculated for the DOM fractions also reveal significant differences between the treatments with time ($P < 0.05$). The low fluorescence determined in the DOC fraction isolated from the S sample indicates the presence of non-humified material or molecules of a small size in the solution. Higher HIX values correspond to amended samples increasing with time for $V2$ and decreasing for $V1$. These results agree with the water-soluble carbon content and humification degree of these vermicomposts (Table 1). The evolution over time appears to be inversely related to DOC depletion during incubation (Table 2, Fig. 2a). Thus, in the remaining DOC from $S + V2$, we expected to find a higher ratio of humified than non-humified molecules or a smaller amount of small molecules in solution.

3.2. Contribution of the different soil fractions in the distribution of ^{14}C -diuron residues

In order to check the relative contribution of the sand-like, silt-like and waste fractions in the formation of the non-extracted residues, the enrichment factor (E) was determined (Fig. 3a–c). In all soil samples and fractions, E values were found to increase with time. This finding points towards an ageing process with the formation of more stable bonds. Values of E_{SiF} were higher than for E_{SF} , which shows how important SiF is in S samples. Values for E_{WF} were highest, revealing a high affinity of diuron residues with WF and was found to be more important in $S + V2$ than in $S + V1$. This could be due to the nature, composition and degree of humification of these fractions (Table 1). Lignins can control the distribution of chemical residues by a diffusion process (Fernández-Perez et al., 1998) and by sequestration or the formation of irreversible bonds (Ludvík and Zuman, 2000). However, as previously mentioned, the main differences could be related to the higher humic and fulvic acid contents in $V2$ compared to $V1$ (Table 1). These are responsible for the formation of bound residues in soil (Wanner et al., 2000). Humic substances form rather stable bonds particularly with chloroanilines, which are chemically related to the metabolites of diuron (Gevao et al., 2000).

The amount of colloidal fraction isolated was so small that the E_{CF} values could not be quantified. Nevertheless, the absence of differences in the radioactivity determined in the liquid, before and after centrifugation to separate DOM-sized and CF fractions (Fig. 1), revealed negligible amounts of ^{14}C -radioactivity in the colloidal fraction.

The ^{14}C -radioactivity measured in each of these fractions was used to study the distribution and availability of diuron in different soil compartments.

3.3. Distribution of diuron residues in the different soil compartments

The non-extracted portion in the S sample was initially 2.29% and increased to 16.66% at the end of the incubation process (Fig. 4). This effect could be attributed to an ageing

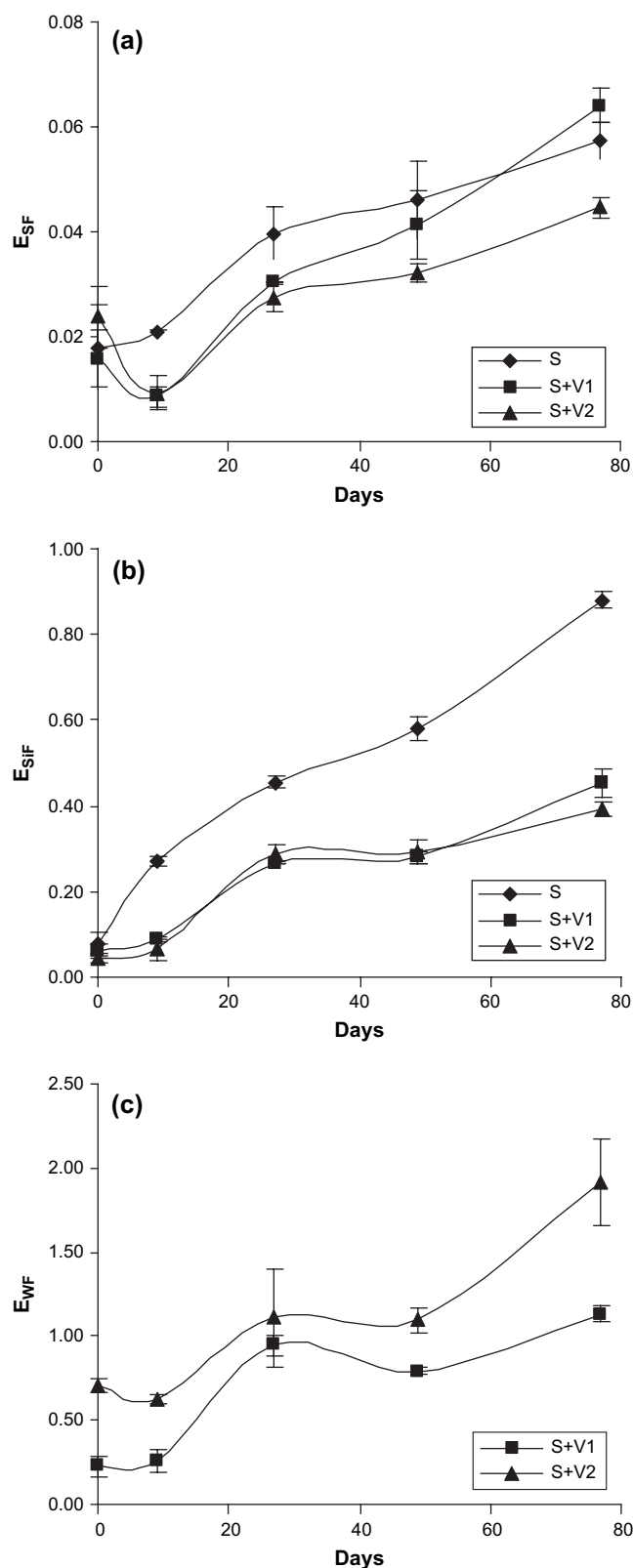


Fig. 3. Enrichment factors (E) worked out during incubation for the (a) sediment-sized, (b) silt-sized and (c) waste fractions in unamended soil (S) and amended ($S + V1$ and $S + V2$) soil samples.

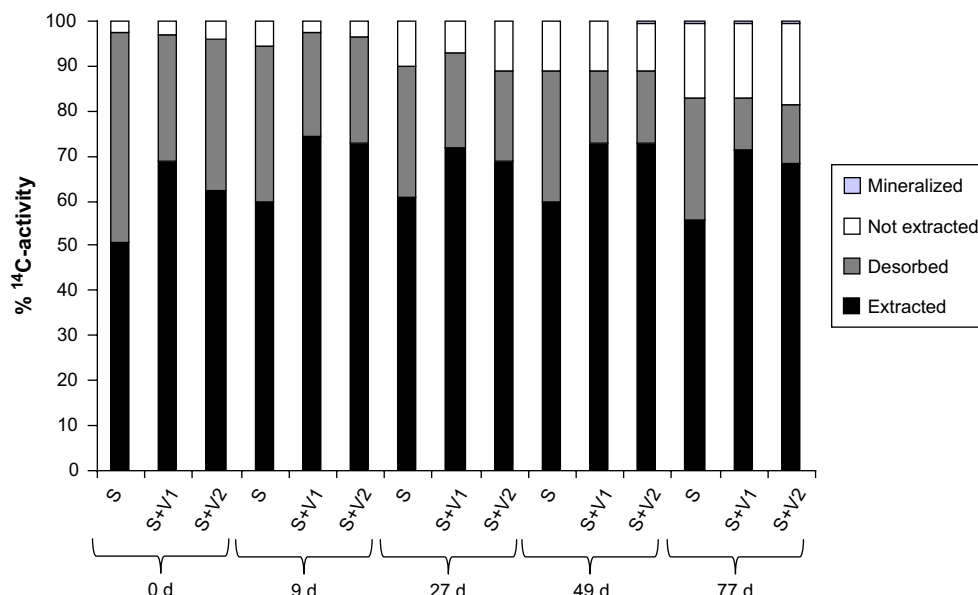


Fig. 4. Distribution of ¹⁴C-diuron residues in the soil compartments during the incubation period in unamended (S) and amended (S + V1 and S + V2) soil samples.

process. In the amended samples, S + V1 and S + V2, the performance of non-extracted residues during incubation was similar to that of unamended soil, increasing from 2.79% and 3.79% to 16.23% and 18.43%, respectively. The possible influence of the exogenous microorganisms in the formation of the non-extractable fraction was not as evident as was observed in sterilised and non-sterilised soils by Gevao et al. (2005). These winery-distillery vermicomposts appear to have had only a slight influence on the formation of non-extracted residues.

The amount extracted with acetonitrile-water solution, determined at day 0 in the unamended soil sample was around 60% of the total radioactivity added and this remained stable during incubation. In the amended samples, the percentage of labelled compound extracted was significantly higher than for S samples. These results emphasize the high sorption ability of soil samples amended with vermicomposts where, after the desorption suffered in the fractionation process, remained more radioactivity susceptible of being extracted.

The desorbed ¹⁴C-radioactivity, determined in the CaCl₂ (0.001 M) solution used in the fractionation process, from the unamended soil at day 0 amounted to 46% of the applied compound. In the soil samples amended with V1 and V2, the desorbed amounts were 29% and 32%, respectively, which were significantly lower (*P* < 0.05) than the S sample. During incubation, these desorbed amounts decreased significantly for all treatments. Some authors have found that exogenous organic matter can enhance the mobilization of pesticide residues in soils (Huang and Lee, 2001). In our case, the increment in DOC due to the addition of vermicompost (Fig. 2a) did not correspond with an increment in the desorbed amount (Fig. 4). Spark and Swift (2002) found that the DOC fraction of soil solution had no effect on the sorption of isoproturon. Thus, DOC molecules could be interacting with soil

particle surfaces, increasing the active sites and hydrophobic character of the soil surface, consequently, modifying diuron residues partition into the soil solid phase. This DOC sorption by soil could be partially related to the depletion of DOC concentrations with time (Fig. 2a). In agreement with this mechanism are the results obtained by González-Pradas et al. (2005), where the presence of DOC extracts from peat and tannic acid, at 15–100 mg L⁻¹, increases the amount of 3,4-DCA and 4-Bromoanilide adsorbed by soil.

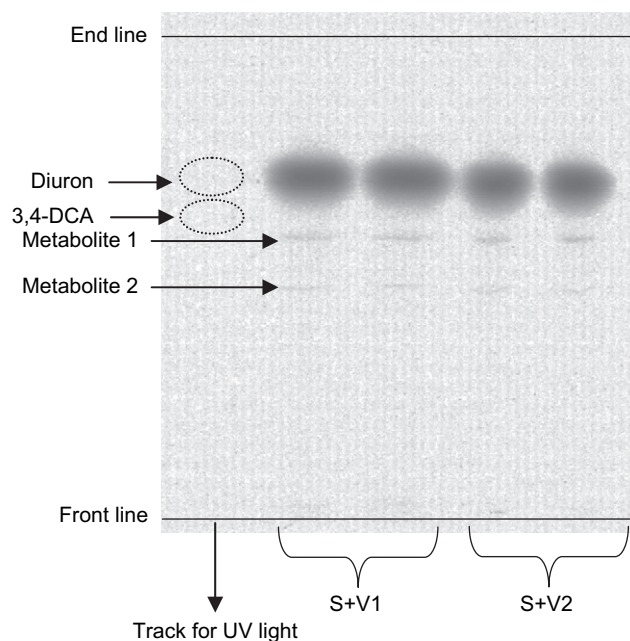


Fig. 5. Thin-layer chromatography of diuron and its metabolites developed from the WF extract at 77 d of incubation for the amended soil samples, S + V1 and S + V2.

Table 3
Sorption constants of diuron, K_d and K_{oc} (mL g^{-1}) for the soil sample alone and soils amended with two vermicomposts and their isolated soil fractions

Sample	K_d total	K_d SF	K_d SiF	K_d WF	K_{oc} total	K_{oc} SF	K_{oc} SiF	K_{oc} WF
S	3.2 ± 0.1^a	2.7 ± 0.3^a	11 ± 0.2^a		808 ± 34^a	1065 ± 155^a	761 ± 48^a	
S + V1 ^γ	10.6 ± 0.3^b	9.9 ± 0.6^b	14 ± 2.4^{ab}	70 ± 7^a	480 ± 19^b	1016 ± 29^a	722 ± 125^a	6235 ± 790^a
S + V2 ^γ	8.7 ± 1.3^c	8.6 ± 2.2^b	14 ± 1.2^b	180 ± 13^b	431 ± 32^b	899 ± 116^a	799 ± 40^a	18926 ± 3825^b

V1^γ is vermicompost from spent grape marc and V2 is from biosolid vinasse mixed with vine shoot. Different letters indicate significant differences among the values.

The mineralization of the labelled compound in S, S + V1 and S + V2, ranged from 0.47% to 0.37% (Fig. 4). Furthermore, at day 77, small amounts of diuron metabolites were detected in the WF fraction, although no quantity was measured in SiF and SF fractions. This could be explained by the higher radioactivity concentration in the WF extract ($>1000 \text{ Bq mL}^{-1}$) with respect to SF and SiF fractions ($<450 \text{ Bq mL}^{-1}$). In the WF extract taken from the samples S + V1 and S + V2 diuron, metabolite 1 and metabolite 2 were detected by TLC (Fig. 5) with retardation factors of 0.70, 0.59 and 0.48, respectively. Metabolites, with less hydrophobic character than diuron and 3,4-DCA, could correspond to DCPMU, 1-(3,4-dichlorophenyl)-3-methyl urea, and DCPU, 1-(3,4-dichlorophenyl) urea (Gatidou et al., 2005). None of the spots detected corresponded to the retardation factor of 3,4-dichloroaniline.

Finally, to understand the implications of the separated fractions on the availability of diuron residues, their corresponding distribution constants (K_d and K_{oc}) were calculated at day 0 (Table 3). The K_d in the S sample (3.2 mL g^{-1}) revealed a moderate sorption for a short contact time. This value agrees with data from Reddy et al. (1992). Values of the K_d total for amended soil samples increased significantly several-fold, due to the OC content provided by the soil organic amendment (Table 1), as shown by González-Pradas et al. (1998) and Sheng et al. (2001), and also due to the fact that the lignin content and nature of these vermicomposts (Romero et al., 2006). Liyanage et al. (2006) support the influence of the nature of organic carbon in the diuron sorption.

With regard to each soil fraction, K_d values for diuron in the sand-size particles (K_d SF) were significantly higher. This could be ascribed to the increment in the OC content of SF due to the vermicompost (Table 2). In the case of K_d SiF, the sorption of diuron was also higher in amended soils, although it was only statistically different from S for S + V2. The highest K_d WF values support the highest affinity of diuron for this fraction. It was more than twice as high for S + V2 than for S + V1, although V2 has a lower TOC. As previously stated, V2 is richer in humic and fulvic acids than V1 (Table 1). Analysis by FT-IR and the fluorescence of humic substances from both vermicomposts (Romero et al., 2007) revealed a higher amount of aromatic compounds and carboxylic groups in V2 than in V1. If diuron sorption takes place by hydrophobic interactions or hydrogen bonds (Gaillardon et al., 1980), then we can conclude that the higher affinity of diuron for V2 was also influenced by its chemical characteristics.

Values of K_{oc} total (Table 3) confirm that the OC content and the nature of the organic matter mainly control the

sorption of diuron in soil samples. These values ranged from 500 to 2000 mg L^{-1} (Claver et al., 2006) and reveal a slight and different mobility among the total soil samples and the contribution of their fractions.

4. Conclusions

The incorporation of two winery-distillery vermicomposts with different degrees of humification, reduced the diuron residues availability in soils, which decreases the potential risk of them leaching into groundwater. These amendments did not, however, foster the formation of non-extractable residues. Furthermore, the DOM-sized fraction in vermicomposts did not enhance the availability of diuron in the aqueous phase. In the absence of vermicompost, the enrichment factors and sorption constants determined for separated soil fractions revealed that SiF was the most important soil fraction in the formation of non-extractable diuron residues. When vermicomposts were added, the highest enrichment factor and sorption constants were found in the waste fraction WF, which showed significant differences between V1 and V2, but overall failed to increase the formation of non-extractable residues. Consequently, this soil fractionation study revealed that the composition, nature and humification degree are important vermicompost characteristics for controlling the distribution and availability of diuron residues in a sandy loam soil with low OC content.

Acknowledgements

This study was financed by the ‘‘Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología’’ (CICYT) through projects REN2003-04693 and CTM2006-12214. J.D. Fernández-Bayo would like to thank the Science and Education Ministry for his FPI doctoral grant and Forschungszentrum Jülich where this work was carried out. We would also like to extend our thanks to Anita Steffen for her kind assistance.

References

- Arienzo, M., Sánchez-Camazano, M., Sánchez-Martín, M.J., Cristano, T., 1994. Influence of exogenous organic matter in the mobility of diazinon in soil. *Chemosphere* 29, 1245–1252.
- Burauel, P., Bassmann, F., 2005. Soils as filter and buffer for pesticides-experimental concepts to understand soil functions. *Environ. Pollut.* 133, 11–16.
- Claver, A., Ormad, P., Rodríguez, L., Ovelheiro, J.L., 2006. Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). *Chemosphere* 64, 1437–1443.

- Fernández-Perez, M., González-Pradas, E., Ureña-Amate, M.D., Wilkins, R.M., Lindup, I., 1998. Controlled release of imidacloprid from lignin matrix: water release kinetics and soil mobility study. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3828–3834.
- Field, J.A., Reed, R.L., Sawyer, T.E., Griffith, S.M., Wigington, P.J., 2003. Diuron occurrence and distribution in soil and surface and groundwater associated with grass seed production. *J. Environ. Qual.* 32, 171–179.
- Gatidou, G., Kotrikla, A., Thomaidis, N.S., Lekkas, T.D., 2005. Determination of the antifouling booster biocides irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography-diode array detector. *Anal. Chim. Acta* 528, 89–99.
- Gevaio, B., Semple, K.T., Jones, K.C., 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ. Pollut.* 108, 3–14.
- Gevaio, B., Jones, K.C., Semple, K.T., 2005. Formation and release of non-extracted ¹⁴C-Dicamba residues in soil under sterile and non-sterile regimes. *Environ. Pollut.* 133, 17–24.
- Giacomazzi, S., Cochet, N., 2004. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* 56, 1021–1032.
- Gaillardon, P., Calvet, R., Gandry, J.C., 1980. The adsorption of certain phenylureas by humic acids. *Weed Res.* 20, 201–204.
- Goering, H., Van Soest, P., 1970. Forage Ceber Analysis (Apparatus Reagents Procedure and Some Applications). USDA Agriculture Handbook, USDA-ARS, WA, pp. 1–12.
- González-Pradas, E., Villafranca-Sánchez, M., Fernández-Pérez, M., Socías-Viciano, M., Ureña-Amate, M.D., 1998. Sorption and leaching of diuron on natural and peat-amended calcareous soil from Spain. *Water Res.* 32, 2814–2820.
- González-Pradas, E., Fernández-Perez, M., Flores-Cespedes, F., Villafranca-Sánchez, M., Ureña-Amate, M.D., Socías-Viciano, M., Garrido-Herrera, F., 2005. Effects of dissolved organic carbon on sorption of 3,4-dichloroaniline and 4-bromoaniline in a calcareous soil. *Chemosphere* 59, 721–728.
- Huang, X., Lee, L.S., 2001. Effects of dissolved organic matter from animal waste effluent on Chlorpyrifos sorption by soils. *J. Environ. Qual.* 30, 1258–1265.
- Kiem, R., Knicker, H., Kögel-Knaber, I., 2002. Refractory organic carbon in particle-size fractions of arable soils I: distribution of refractory carbon between the size fractions. *Organic Geochem.* 33, 1683–1697.
- Li, K., Xing, B., Torello, W.A., 2005. Effect of fertilizers derived dissolved organic matter on pesticide sorption and leaching. *Environ. Pollut.* 134, 187–194.
- Liyanage, J.A., Watawala, R.C., Aravinna, A.G.P., Smith, L., Kookana, R.S., 2006. Sorption of carbofuran and diuron pesticides in 43 tropical soils of Sri Lanka. *J. Agric. Food Chem.* 54, 1784–1791.
- Ludvík, J., Zuman, P., 2000. Adsorption of 1,2,4-triazine pesticides metatiron and metribuzin on lignin. *Microchem. J.* 64, 15–20.
- Malato, S., Blanco, J., Caceres, J., Fernández-Alba, A.R., Agüera, A., Rodríguez, A., 2002. Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy. *Catal. Today* 76, 209–220.
- M.A.P.A., 1986. Métodos oficiales de análisis. Publicaciones del Ministerio de Agricultura, pesca y Alimentación. Madrid. Tomo III.
- Nogales, R., Elvira, C., Benitez, E., Gallardo Lara, F., 1995. Uso agrícola de compost y vermicompost de basuras urbanas (I): procesos, madurez y calidad de los productos. *Residuos* 26, 53–57.
- Printz, H., Mittelstaedt, W., Führ, F., 1995. Effect of Maize straw amendment on formation and translocation of residues of methabenzthiazuron in an orthic luvisol. *J. Environ. Sci. Health* 30, 269–288.
- Reddy, K.N., Singh, M., Alva, A.K., 1992. Sorption and desorption of diuron and norflurazon in Florida citrus soils. *Water Air Soil Pollut.* 64, 487–494.
- Romero, E., Matallo, M.B., Peña, A., Sánchez-Rasero, F., Schmitt-Kopplin, Ph., Dios, G., 2001. Dissipation of racemic mecoprop and dichlorprop and their pure R-enantiomers in three calcareous soils with and without peat addition. *Environ. Pollut.* 111, 209–215.
- Romero, E., Salido, A., Cifuentes, C., Fernández, J.D., Nogales, R., 2006. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability by agro-industrial wastes. *Int. J. Environ. An. Chem.* 86, 289–297.
- Romero, E., Plaza, C., Senesi, N., Nogales, R., Polo, A., 2007. Humic acid-like fractions in raw and vermicomposted winery and distillery wastes. *Geoderma* 139, 397–406.
- Sánchez-Camazano, M., Sánchez-Martín, M.J., Poveda, E., Iglesias-Jiménez, E., 1996. Study of the effect of exogenous organic matter on the mobility of pesticides in soils using thin-layer chromatography. *J. Chromatogr. A.* 754, 279–284.
- Sánchez, L., Romero, E., Peña, A., 2003. Ability of biosolids and a cationic surfactant to modify methidathion leaching. Modelling with pescol. *Chemosphere* 53, 843–850.
- Schnitzler, F., Lavorenti, A., Berns, A.E., Dreves, N., Vereecken, H., Burauel, P., 2007. The influence of maize residues on the mobility and binding of benazolin: Investigating physically extracted soil fractions. *Environ. Pollut.* 147, 4–13.
- Séquaris, J.M., Lewandowski, H., 2003. Physicochemical characterization of potential colloids from agricultural topsoils. *Colloids Surf. A.* 217, 93–99.
- Séquaris, J.M., Lavorenti, A., Burauel, P., 2005. Equilibrium partitioning of ¹⁴C-benzo(a)pyrene and ¹⁴C-benazolin between fractionated phases from an arable topsoil. *Environ. Pollut.* 135, 491–500.
- Sheng, G., Johnston, C.T., Teppen, B.J., Boyd, S.A., 2001. Potential contributions of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2899–2907.
- Spark, K.M., Swift, R.S., 2002. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Sci. Total Environ.* 298, 147–161.
- Tomlin, C., 2003. The Pesticide Manual. British Crop Protection Council, thirteenth ed. Farnham, Surrey, U.K..
- Walker, A., Rodríguez-Cruz, M.S., Mithcell, M.J., 2005. Influence of ageing of residues on the availability of herbicides for leaching. *Environ. Pollut.* 133, 43–51.
- Wanner, U., Burauel, P., Führ, F., 2000. Characterisation of soil-bound residue fractions of the fungicide dithianon by gel permeation chromatography and polyacrylamide gel electrophoresis. *Environ. Pollut.* 108, 53–59.
- Wanner, U., Führ, F., Burauel, P., 2005. Influence of amendment corn straw on the degradation behaviour of the fungicide dithianon in soil. *Environ. Pollut.* 133, 63–70.

CAPÍTULO 8

ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS VERMICOMPOSTS PROCEDENTES DE INDUSTRIAS VITIVINÍCOLAS SOBRE LA DEGRADACIÓN DE IMIDACLOPRID Y DIURÓN EN DOS SUELOS AGRÍCOLAS



Resumen

El proceso de degradación de imidacloprid y diurón en dos suelos agrícolas enmendados y sin enmendar con vermicomposts procedentes de residuos vitivinícolas y destilerías fue estudiado durante un periodo de incubación. Para ello, se analizaron, a tiempos diferentes, las fracciones desorbidas y extraídas de residuos de pesticidas, así como las actividades enzimáticas deshidrogenasa y ureasa del suelo. EL vermicompost aumentó significativamente las actividades dehidrogenasa y ureasa del suelo. Sin embargo, ninguna de las actividades enzimáticas se correlacionó con la degradación de los pesticidas. Durante la extracción se pudieron determinar algunos metabolitos de diurón, mientras que no se detectó ningún metabolito del imidacloprid. Diurón fue siempre desorbido en menor medida que imidacloprid, quizás debido a su menor solubilidad. El mayor efecto de los vermicomposts fue observado sobre la disponibilidad y degradación de diurón en el suelo franco-arenoso, donde, además, se observó una mayor cantidad de metabolitos. Por su parte, el suelo franco-arcillo-limoso mostró una velocidad de degradación elevada tanto en su forma natural como en la enmendada. Este puede ser atribuido a la mayor actividad ureasa en estas muestras. La degradación de diuron fue rápida y se ajustó bien a una cinética de degradación de primer orden. La degradación de imidacloprid fue escasa y, en las enmiendas su ajuste fue mejor para una cinética de degradación de primer orden de múltiples compartimentos. Por tanto, para en estos suelos y bajo estas prácticas agrícolas, la modelización de las diferentes fases estudiadas de ambos plaguicidas parece mostrar al imidacloprid como un residuo de plaguicida más persistente y peligroso que el diurón.

Study of effect of two vermicomposts from the wine industry on imidacloprid and diuron degradation in two types of agricultural soil

Jesús D. Fernández-Bayo *, Rogelio Nogales and Esperanza Romero.

Department of Environmental Protection, Estación Experimental del Zaidín (CSIC)
C/ Profesor Albareda, 1, 18008-Granada, Spain

* Corresponding author: Fernández Bayo, J.D.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC),
C/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada, Spain
E-mail: jesus.bayo@eez.csic.es
Tel: 0034 958 181600, ext. 126
Fax : 0034 958 129600

SUMMARY

The degradation process of diuron and imidacloprid in unamended agricultural soils and soil amended with vermicomposts from the wine and alcohol industries was studied during various incubation periods. Desorbed and extracted fractions of pesticide residues as well as soil enzyme dehydrogenase and urease activities were analysed at different times. Vermicompost was found to significantly increase dehydrogenase and urease activity, while enzymatic activity did not correlate with pesticide degradation. During the extraction process, although diuron metabolites were detected and analysed, no imidacloprid metabolites were found. Diuron presented a lower desorption rate compared with imidacloprid, which may be due to differences in solubility. A more marked vermicompost effect was observed in terms of the availability and degradation of diuron in sandy-loam soil, where larger amounts of metabolites were also found. Both amended and unamended silty clay loam soil showed a high degradation rate. This may be due to the high level of urease activity observed in these samples. Diuron showed a rapid rate of degradation and fitted the single first order kinetic model closely. The degradation of imidacloprid was limited, and in the amended samples, the degradation rate fitted the first order multi-compartment degradation kinetic more closely. In this study, the modelization carried out on both pesticide residues in different soil compartments appears to indicate that imidacloprid is a more persistent and hazardous pesticide residue than diuron.

INTRODUCTION

The problems of pesticide residues in soils and organic waste disposal are currently of great concern in environmental terms and urgently require sustainable solutions. The use of organic agroindustrial waste residues, previously stabilized through vermicomposting, as amendments on the ploughed layer to modify pesticide dynamics in soils could be a worthwhile solution to the two problems mentioned above.

Among the different processes that pesticides can go through in soils, degradation is fundamental for reducing pesticide residue levels (Guo et al., 2000). Degradation rates depend on many microbiological, physical and chemical properties of the soil as well as those of the pesticide. Soil properties are interrelated and may influence these processes in contradictory ways by both stimulating and restricting overall degradation. The predominance of one process over another depends on the soil-pesticide interaction and cannot therefore be generalized. The lack of favourable conditions for microbial degradation is the principal cause of pesticide persistence in soil.

Organic matter (OM) has been reported to be the major controlling component in the sorption, transformation and transport of most organic pollutants (Albarrán et al., 2004). Thus, the addition of organic amendments (OA) has specifically led to an increase in the sorption of pesticides (Cox et al., 2004; Fernandez-Bayo et al., 2007c). It is generally accepted that sorbed chemicals are less accessible to microorganisms and limit their degradation (Koskinen et al., 2001). However, the degradation of sorbed pesticides, though slower, can be significant, and an increase in sorption does not necessarily give rise to a corresponding reduction in degradation (Arias-Estevez et al., 2008). Park and coworkers (2003) concluded that in some soils under certain conditions, bacteria can access and degrade part of the sorbed pesticide. In addition, OA additions to soil normally result in increased microbiological activity due to the availability of organic molecules such as sugar and amino acids that could enhance degradation (Cox et al., 2001). Finally, soil amendments incorporate microorganisms such as bacteria, actinomycetes and fungi (Sánchez et al., 2004) which are primary agents in the degradation of pesticides (Boivin et al., 2005).

The vermicompost from spent grape marc and wine shoots mixed with biosolid vinasse used in this study has been shown to be a highly effective soil amendment for enhancing pesticide sorption capability (Fernández-Bayo et al., 2007; Fernandez-Bayo et al., 2007b). However, no studies of the role of these vermicomposts in the degradation

of pesticides have been carried out until now. The pesticides selected for our study were diuron and imidacloprid. Diuron is a herbicide used to control a wide variety of annual and perennial broadleaf and grassy weeds and is also used in non-crop areas. The main diuron metabolites are 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methylurea (DPMU), 3,4-dichlorophenylurea (DPU) and 3,4-dichloroaniline (DCA). These metabolites have proven to be more toxic than the parent compound (Tixier et al., 2001). The imidacloprid insecticide belongs to the chloronicotinyl family of insecticides. The principal imidacloprid metabolites detected in soil include imidacloprid-urea, 6-chloronicotinic (CNA) and 6-hydroxynicotinic acid. Both pesticides are stable in relation to hydrolysis at neutral soil pHs. Biodegradation appeared to be the major cause of diuron degradation (Giacomazzi and Cochet, 2004), while imidacloprid seems to be very sensitive to both microbial and fotodegradation (Weiping et al., 2006).

The aim of this study was to analyse the degradation of these different pesticides in two soil types amended with two vermicomposts from the main types of waste produced by the wine industry. In order to describe the degradation kinetics, two FOCUS (FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their USE) kinetic models were selected: the Single First-Order (SFO) and First-Order Multi-Compartment (FOMC) models (FOCUS, 2006). The current versions of most tools used to calculate predicted environmental concentrations of pesticides in groundwater, surface water and sediment within regulatory frameworks are based on the SFO kinetic. However, when SFO kinetics cannot be used to evaluate degradation (Sánchez et al., 2003), other models based on a bi-phasic pattern, such as the FOMC model, also known as Gustafson and Holden Model, should be used.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

Diuron (*N'*-(3,4-dichlorophenyl)-*N,N*-dimethylurea) and its metabolites, 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methylurea, 1-(3,4-dichlorophenyl)-urea and 3,4-dichloroaniline, with purity rates of 99%, 97.5% and 99.5% respectively, were supplied by Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Diuron has a water solubility of 42 mg L⁻¹ and an octanol–water partition constant (K_{ow}) of 700 (Tomlin, 2003). Imidacloprid (1-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-*N*-nitro-2-imidazolidinimine) with a purity rate of 99% and its metabolite acid 6-chloronicotinic with a purity rate of 99.5% were also supplied by Dr. Ehrenstorfer. The water solubility of this insecticide is 510 mg L⁻¹ and its K_{ow} is 3.72 (Tomlin, 2003).

Amendments

The V1 vermicompost was obtained from spent grape marc and the V2 vermicompost from a 2:1 mixture of biosolid vinasse and wine shoots, which are the principal wastes from the wine and distillery industries. Their properties are shown in by Romero et al. (2006). The vermicomposting process is described elsewhere (Elvira et al., 1998).

Soil samples

Two types of agricultural soil from the south of Spain were selected: a sandy loam soil (Chromic cambisol) (S1) with 70% sand, 17% silt and 13% clay and a silty clay loam soil (Chromic vertisol) (S2) with 14% sand, 51% silt and 35% clay. Soil samples from the top 20 cm were air-dried and sieved through a <2 mm mesh. Their properties are shown in **table 1**.

Table 1. Soil properties.

Soil	Sand %	Silt %	Clay %	pH	C.O. %	HA g kg ⁻¹	CEC cmol _c kg ⁻¹
S1	69.9	17.01	13.1	6.0	0.36	1.14	12.86
S2	13.99	50.56	35.45	8.2	0.93	3.75	28.77

Incubation experiment

Fractions 40 g from unamended soils and soils 5%-amended with previously grounded vermicompost were incubated. Beforehand, they were spiked with a 2 mL solution of acetonitrile containing 60 µg mL⁻¹ of diuron or imidacloprid and were left to evaporate for 3 h. The final concentration of each pesticide in soil was 3 µg g⁻¹, which is similar to agricultural dosages. Incubation was carried out at 20°C in the dark with soil samples at 80% of their field capacities. The humidity of samples was maintained constant by weighing. Soil samples from each flask at different incubation times (0, 7, 14, 32, 47, 82 and 144d for S1 and 0, 3, 4, 14, 32, 47 and 61d for S2) were analysed in triplicate to determine the pesticide concentration as well as the soil enzyme activity.

Pesticide analysis

Aliquots of 2.5g (dry weight) of the samples were placed in 25 mL flasks along with 5 mL of distillate water for desorption and with 5 mL of a 60:40 mixture of acetonitrile and water for solvent extraction. They were shaken for 24 h, centrifuged at

1811g for 10 minutes and filtered through 0.45 μm polytetrafluoroethylene filters for HPLC analysis.

An Agilent Series 1100 (Germany) liquid chromatograph equipped with a diode-array detector was used. A Zorbax Rx-C8 2.1 x 150mm analytical column packed with diisopropyl n-octyl (5 μm) and an Eclipse XDB-C8 guard cartridge (2.1 x 12.5mm i.d.) filled with the same material were used. The operating conditions were as follows: injection volume 10 μL , flow rate 0.2 mL min⁻¹ and column temperature 40°C. Acetonitrile/sulfuric acid 0.005M (pH 3) was used for the mobile phase. For diuron and its metabolites, a 40:60 (v/v) ratio and a detection wavelength of 254nm were used. D, DPMU, DPU and DCA retention times were 7.94, 6.23, 4.81 and 8.75 min, respectively. For imidacloprid and CNA, the mobile phase ratio was 30:70 (v/v), and the detection wavelengths selected were 270 nm for I and 225 for CNA. The retention times were 4.58 and 3.88 min for imidacloprid and DCA, respectively.

Recovery studies

Recovery of extractions with the acetonitrile/water mixture was carried out by spiking 2.5 g dry weight of each treatment with the parent compound and the metabolites at a rate of 3 $\mu\text{g g}^{-1}$, leaving the acetonitrile to evaporate for 3h and watering the sample up to 80% field capacity. After 24h, extraction was carried out with 5 mL of the acetonitrile/water mixture (60:40) which was shaken for 3h and 24h periods. The rest of the process was carried out as described above.

Determination of dehydrogenase activity

A 1 g aliquot of a wet soil sample was incubated for 20 h at 25°C with 0.2 mL of 0.4% 2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-tetrazolium chloride (INT). The iodonitrotetrazolium formazan (INTF) produced in the reduction of INT was extracted with acetone:tetrachloroethylene (1.5:1) and measured in a spectrophotometer at 490nm (García et al., 1997). Assays in soils without INT were simultaneously carried out for control purposes.

Determination of urease activity

A 2 mL solution of phosphate buffer (pH 7.1) and 0.5 ml 1.066 M urea were added to a 2 g wet soil sample, the mixture was incubated at 37°C for 2 h, and the volume was brought up to 10 mL with distilled water. After centrifugation at 1301 g for 10 min, the ammonium released from the hydrolytic reaction of urea was measured

using an ammonium selective electrode (ORION Research Inc., Beverly, MA) mod. 95-12. Controls without urea were carried out for each sample (Nannipieri et al., 1980).

Modelization

Modelmaker 4.0 was used for data analysis. Three different degradation diagrams were created according to the metabolites determined in each sample (Figure 1). Each diagram is composed of (i) compartment rectangles, which are the parts of the system with defined boundaries where the relevant quantities of pesticide, metabolites etc. can be stored and (ii) flows (F_x), which represent the movement of quantities from one compartment to another.

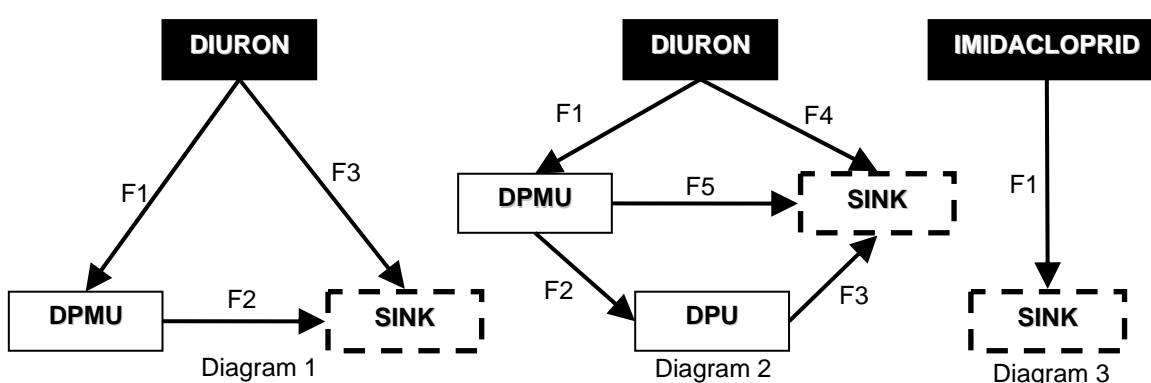


Figure 1. Modelization diagrams for diuron and imidacloprid degradation.

Diagram 1 was applied to samples S1, S2, S2V1 and S2V2 and diagram 2 to samples S1V1 and S1V2. Diagram 3 was applied to all samples spiked with imidacloprid as no metabolites were detected during solvent extraction. The sink compartment includes the % of pesticide residues which cannot be measured. It includes, the metabolites which were not possible to determine, the CO₂ formed during mineralization, and the fraction with the bound residues. This explains why there are flows from diuron and DPMU to the sink compartment, as we regard the fraction not transformed into a metabolite and not detected in the extraction process as having become bound residue.

Single first order model. The SFO model assumes that the number of pesticide molecules is small relative to the number of degrading microorganisms and soil enzymes. As a result, the rate of change in the pesticide concentration is always directly proportional to the actual concentration remaining in the system (Eq 1).

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad \text{Eq. 1}$$

By integrating Eq. 1 and rearranging the terms, a simple exponential equation with only two parameters is obtained (Eq. 2).

$$C = C_0 \cdot e^{-kt} \quad \text{Eq. 2}$$

C is the pesticide concentration in soil at time t, k is the degradation rate constant and C₀ is the initial concentration.

First-order multicompartment model. With the FOMC model, because the soil is regarded as a heterogeneous medium, it is unlikely that degradation occurs at the same rate in the different areas of the soil studied. This model is more useful than other bi-phasic models due to the small number of parameters involved (Eq. 3).

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{\alpha}{\beta} C \left(\frac{t}{\beta} + 1 \right)^{-1} \quad \text{Eq. 3}$$

Equation 4 is the integrated form of equation 3.

$$C = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1 \right)^\alpha} \quad \text{Eq. 4}$$

In equation VIII.4, we find two new parameters, where α is the shape formed by the coefficient of variation in k values and β is the location. Dissipation occurs more rapidly for higher α values and lower β values.

Half-life time. The models enable us to calculate the persistence of pesticides during the half-life time (DT₅₀) for each sample on the basis of Eq. 5 and 6 for the SFO and FOMC models, respectively.

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{Eq. 5}$$

$$DT_{50} = \beta \left(2^{\frac{1}{\alpha}} - 1 \right) \quad \text{Eq. 6}$$

Goodness of fit. The chi-square test (X^2) was used to determine the goodness of fit for each model (Eq. VIII.7). X^2 represents the deviations between observed and calculated

values relative to measurement error, where C is the calculated value, O is the observed value, \bar{O} is the mean of all observed values and err is the percentage of measurement error.

$$\chi^2 = \sum \frac{(C - O)^2}{\left(\frac{err}{100} - \bar{O}\right)^2} \quad \text{Ec.7}$$

To validate the model, the calculated χ^2 values must be less than or equal to the tabulated values ($\chi^2_{m,\alpha}$), where “m” is the degree of freedom (number of measurements minus number of model parameters) and “ α ” is the test significance. In this study, $\alpha=0.05$ indicates that the model has a 95 % probability of being appropriate. Once the data values have been validated and the goodness of the fit has been demonstrated, the scaled error (err_{scaled}) must then be determined on the basis of the error percentage err (Eq. 8).

$$err = 100 \times \sqrt{\frac{1}{\chi^2_{tabulated}} \times \sum \frac{(C - O)^2}{O^2}} \quad \text{Eq. 8}$$

The err_{scaled} is worked out using Equation .9. The most suitable model is the one with the lowest err_{scaled} value.

$$err_{scaled} = \frac{err}{100} \times \bar{O} \quad \text{Eq. 9}$$

RESULTS

Dehydrogenase and urease activities

The dehydrogenase activity occurs in soils as integral parts of intact cells and reflects the total range of the soil microflora’s oxidative activities (Burns, 1978) and is therefore used as an indicator of microbial activity. Dehydrogenase activity in both diuron and imidacloprid spiked samples was observed to be similar. On the whole, dehydrogenase activity in both types of soil increased with the addition of vermicompost (Figure 2). This increase was found to be more marked in the presence of vermicompost from spent grape marc (V1). However, at the end of the experiment, dehydrogenase activity was more present in S1V2 compared with the sandy loam soil S1 (Figure 2a and c). With respect to soil S2, activity at the end of the experiment did

not present any significant differences between treatments (Figure 2b and d). An initial difference in dehydrogenase activity between diuron and imidacloprid in sample S1V1 (Figure 2b and d) was only found, where dehydrogenase activity at 0d was lower and at 7d higher than in the samples spiked with diuron.

Urease is an enzyme of great agricultural importance because it is involved in the decomposition of urea which is used as a fertilizer (Burns, 1978). This enzyme forms complex relationships with soil materials which protect them from decomposing. It plays an important role in soils by releasing NH_4^+ from the vermicompost. However, its inhibition could reduce the fertilizing effect of these organic amendments. In addition, diuron has a urea structure in its molecule and could also be a substrate for this enzyme. Figures 3a and c show low urease activity in unamended soil S1 when spiked with diuron or imidacloprid and a slight increase following the addition of the vermicompost. However, differences in S2 were more marked, with the basal urease activity in this soil being much higher than in S1. This could be due to being more present in this soil and to the higher clay content that may have formed more stable complexes with the enzyme. As observed with dehydrogenase activity, the vermicompost from spent grape marc (V1) showed the highest increment in urease activity among all the soil samples (Figure 3). Also, in soil S2V1 spiked with imidacloprid, urease activity was lower at 0d and considerably higher at 7 d compared with the samples spiked with diuron.

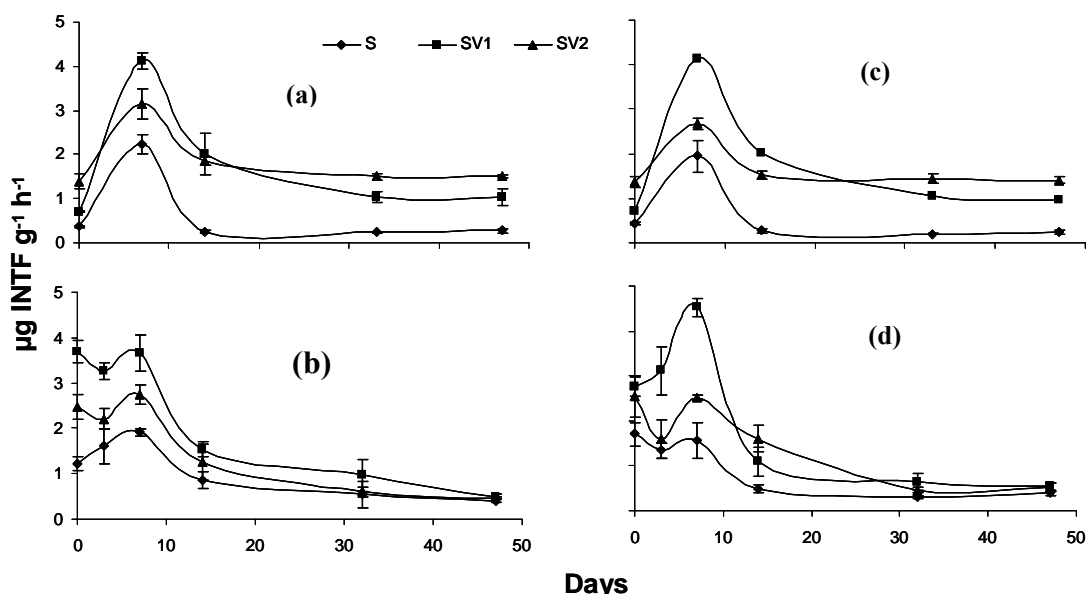


Figure 2. Dehydrogenase activity. Unamended soils S1 and S1 5% amended with V1 and V2 spiked with diuron (a) and imidacloprid (c). Unamended soils S2, and S2 5% amended with V1 and V2 spiked with diuron (b) and imidacloprid (d).

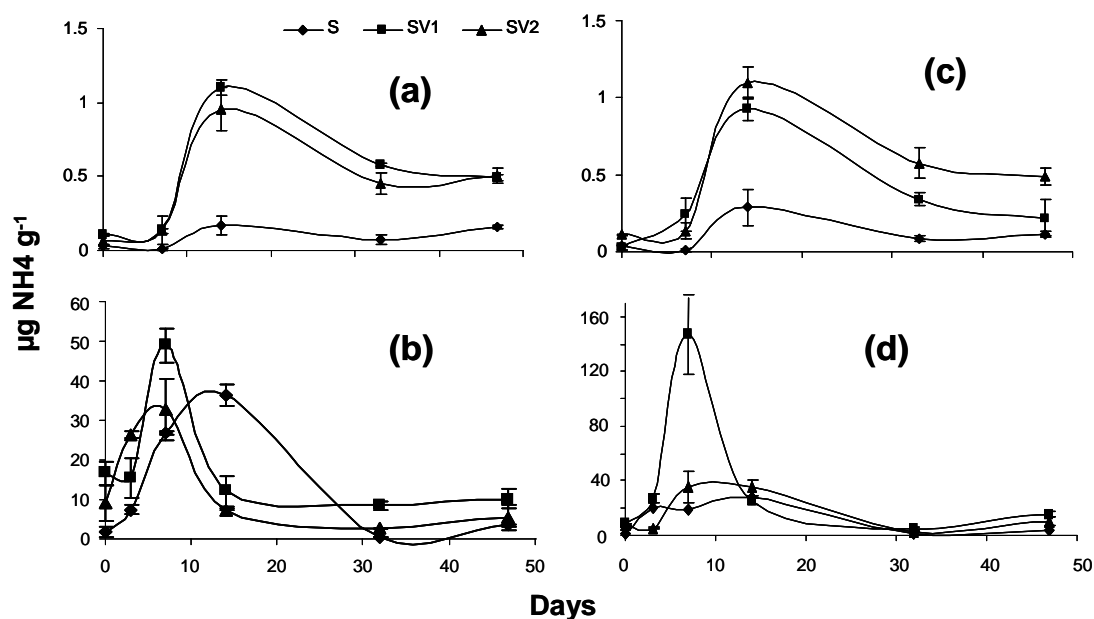


Figure 3. Urease activity. Unamended soil S1 and 5% amended with V1 and V2 spiked with diuron (a) and imidacloprid (c). Unamended soil S2 and 5% amended with V1 and V2 spiked with diuron (b) and imidacloprid (d).

Recoveries

Data relating to the extraction efficiency of imidacloprid and diuron and their metabolites is given in Table 2. The recoveries in most of the cases were higher than 90%. DCA showed very low extraction efficiency (Table 2).

Table 2. Recoveries for diuron and imidacloprid and their metabolites in the different substrates studied (%±standard deviation).

	Diuron	DPMU	DPU	DCA	Imidacloprid	CNA
S1	93.54±2.97	90.74± 4.04	87.31±4.67	42.86 ±3.67	97.64±5.05	100.10±0.27
S2	93.70±1.50	85.53±2.81	83.83±0.66	57.15±2.69	99.25 ±0.62	97.75±2.97
S1V1	99.56±1.29	96.58±1.14	95.54±2.24	28.41±4.25	93.39±5.45	92.26±4.59
S2V1	96.55±1.19	89.15±0.37	88.10±4.60	37.04±3.16	95.98±0.22	98.51±3.46
S1V2	99.99±1.18	95.11±2.08	100.77±3.36	33.82±1.53	92.17±4.62	91.92±2.14
S2V2	96.48±0.96	88.26±3.02	96.96±5.03	46.09±3.87	95.61±0.53	85.54±5.82

Several trials with different solvents and Microwave Assisted Extraction (MAE) were carried out to improve DCA recovery (data not shown). Although the best results were obtained by MAE (up to 70%), chemical degradation of diuron and the other metabolites occurred under these conditions. Low DCA recoveries were also obtained by Polati et al. (2005). These low recovery rates for the soil samples indicate that a large

amount of DCA is retained, suggesting that this pollutant is strongly bound to soil and that much less leaching and potential contamination is to be expected in relation to the chemicals studied.

Desorbed, extracted and remaining fractions

Table 3 shows the desorbed amounts of diuron and imidacloprid in water during the incubation time. In all samples, the results show that the available amount of diuron decreased significantly as incubation time increased ($P < 0.05$). At the beginning of the incubation, the vermicompost addition to S1 reduced the availability of diuron from 32.63% to 18.08% and 13.66% for S1V1 and S1V2 respectively. After 144d, the available amount fell to 13% in unamended soil S1. However, in V1-amended soil at 33d, the available amount was below the limit of determination, whereas in V2-amended soil, this occurred after 47d. This means that diuron availability decreased faster in soil S1 amended with V1 and much more slowly in the unamended soil. In soil S2, the available amount of diuron at the beginning of incubation was almost half than for S1, and at a shorter incubation time (47d) diuron could not be detected in any of the soil samples. This suggests that the vermicompost had less influence on the amount available in S2 compared with that observed in S1.

Table 3. Desorption of diuron and imidacloprid at different incubation times in unamended and amended soils S1 and S2 (%±standard deviation).

Days		0	7	14	33	47	82	144
		%	%	%	%	%	%	%
S1	D	32.63±0.25	26.21±0.11	24.22±0.07	24.61±1.24	21.21±0.33	16.91±0.20	13.00±0.23
S1V1	D	18.08±0.20	13.37±0.13	12.13±0.40	-	-	-	-
S1V2	D	13.66±0.12	13.85±0.32	12.58±0.13	8.81±0.26	7.09±0.12	-	-
S1	I	69.04±0.73	49.19±0.36	47.16±1.09	48.98±0.57	49.55±0.98	32.06±0.39	30.75±0.34
S1V1	I	22.08±0.35	18.42±0.09	16.21±0.36	19.81±0.16	19.58±0.35	12.25±0.04	16.47±0.37
S1V2	I	28.83±0.44	28.92±0.34	27.92±0.59	28.95±0.26	28.58±0.40	17.88±0.06	21.26±0.05
Days		0	3	7	14	33	47	62
S2	D	16.21±3.05	12.72±0.22	6.65±0.77	6.85±0.32	1.84±0.29	-	-
S2V1	D	13.25±2.26	9.06±0.08	6.46±0.13	8.21±0.18	4.23±0.63	-	-
S2V2	D	10.98±1.87	8.95±0.43	6.40±0.23	7.58±0.04	3.80±0.32	-	-
S2	I	33.80±0.63	27.96±1.05	20.81±0.63	22.36±0.36	19.21±0.45	16.76±0.22	24.65±0.38
S2V1	I	18.69±1.00	16.34±0.31	11.34±0.54	13.88±0.60	11.88±0.12	11.17±0.18	15.92±2.08
S2V2	I	23.30±0.80	21.86±2.03	14.52±0.53	15.59±0.06	14.20±0.28	13.12±0.13	16.86±3.01

Figure 4 shows the three main pesticide fractions (desorbed, extracted and remaining) of diuron and imidacloprid detected in the experiment. After incubation in sandy soil S1, around 60% of the diuron applied is still susceptible to the leaching process. However, the addition of vermicompost considerably reduced the desorbed and extracted fractions. Therefore, after 144d of incubation, all the diuron was transformed or considerably sorbed by the amendments. In silty-clay loam soil S2, no important differences were observed between unamended and amended samples. After 61 d, only around 10% of diuron is vulnerable to leaching, and the desorbed fraction was not determined. Furthermore, the remaining fraction in this soil increased faster in the first 7d than in S1 for all the treatments.

With respect to the desorbed amount of imidacloprid (Table 3), higher values were observed for this fraction than for diuron. In relation to soil S1, imidacloprid had lower sorption capacity. The vermicompost addition significantly decreased the availability of this insecticide ($P < 0.05$). The highest reduction in the desorbed fraction occurred with V1, falling from 69.04 to 22.08% in S1 and from 33.80 to 18.68% in S2. Regarding incubation time, we found significant differences in imidacloprid desorption between the beginning and end of the experiment in all the samples ($P < 0.05$) except for S2V1. Nevertheless, at the end of the experiment, large amounts of imidacloprid were still detected in water (Figure 4). In soil S1, the desorbed fraction was observed to be higher than that for amended samples S1V1 and S1V2.

However, after incubation, the amount susceptible to leaching was around 80% in all samples. Again, in S2, the desorbed fraction is higher in the unamended soils than in the amended soils, although no major differences were observed between both vermicomposts. After incubation, more than 78% of I is potentially available for lixiviation, which was also true for S1. Although the remaining fraction of imidacloprid was similar for unamended and amended samples from S1, it was greater and more constant in soil S2 amended with vermicompost (Figure 4).

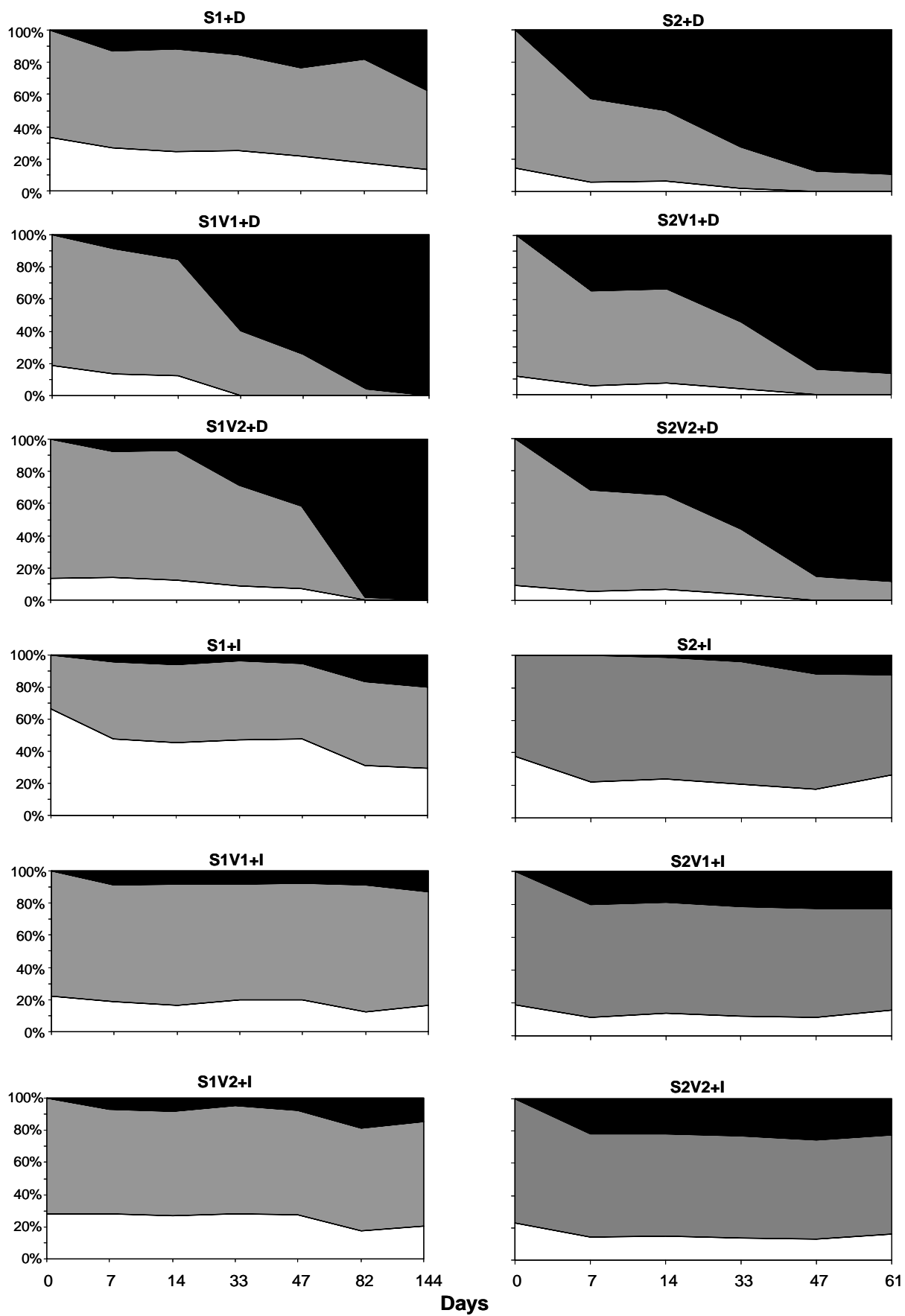


Figure 4. Desorbed (white), extracted (grey) and remaining (black) phases during the incubation of pesticide residue fractions of diuron and imidacloprid in unamended and amended soils S1 and S2.

Modelization (Appendix I)

Diuron

Diuron degradation in all the samples closely conform to the SFO kinetic, presenting X^2 calculated values equal to X^2 tabulated values ($X^2_{5,0.05} = X^2_{calculated} = 11.07$). In unamended soil S1, the degradation kinetic showed the lowest degradation rate with a DT_{50} of 259 days (Table 4). The only metabolite susceptible to detection was DPMU. However, in amended S1 samples, the degradation rate was considerably higher, with the DT_{50} reduced to 25 and 41 days for S1V1 and S1V2, respectively. In these amended samples, DPMU and DPU metabolites were found but no DCA was detected. Although DCA was probably produced, it was not detected due to its low recovery rate. This hypothesis can be confirmed by the results obtained previously under similar conditions with ^{14}C -Diuron in samples S1, S1V1 and S1V2 (Fernández-Bayo et al., 2007), where a small amount of $^{14}CO_2$ was detected after 77 d.

In soil S2, the diuron degradation rate (k) was faster and its DT_{50} of 16.5 d was the lowest (Table 4). However, only a small amount of DPMU was detected. When vermicomposts were added to the soil, slight differences were observed. Degradation rates decreased, with the DT_{50} slightly increasing to 22 d and 21 d for S2V1 and S2V2, respectively. Due to the high degradation rate and the limited presence of DPMU in S2, S2V1 and S2V2, the sink fraction was considerably higher than in S1, S1V1 and S1V2.

Imidacloprid

Because the degradation of *imidacloprid* is much slower than that for diuron, its persistence in soil is longer. CNA was not found in any of the samples. In general, the SFO kinetic model shows a good fit in relation to the experimental data ($X^2_{5,0.05} = X^2_{calculated} = 11.07$). However, it can be seen (Appendix 1) that some cases showed a fast initial degradation phase followed by a slower degradation phase. Imidacloprid degradation was also therefore modelized using the FOMC model which had a good fit ($X^2_{4,0.05} = X^2_{calculated} = 9.49$). Soil S1 had a lower err_{scaled} in the SFO kinetic model and a DT_{50} around 30 d shorter than with the FOMC model (Table 4). Sample S1V1 only conformed to the SFO model, while its DT_{50} increased to 1363 days. Although sample S1V2 seems to fit both models well, the higher R^2 value and slightly lower err_{scaled} for FOMC compared with SFO indicated a better fit. There was a significant difference in the DT_{50} between the two models. With the SFO model, the half-life is about 680d compared with the extremely high value of $2 \cdot 10^6$ d using the FOMC model, which makes no sense in relation to the normal stay of a pesticide in soil. In unamended soil S2, degradation presented a good fit for both models although DT_{50} was 366 d for SFO

(with a lower err_{scaled}) and 232 d for FOMC. Nevertheless, the degradation process in amended soils S2V1 and S2V2 differed, marked by rapid degradation in the first week followed by a much slower second phase. The FOMC model therefore fits better with these samples, which is confirmed by the higher R^2 and the lower err_{scaled} values. The degradation rate for imidacloprid after 7d in S2V1 and S2V2 was so slow with this model that the DT_{50} value was again unrealistic (Table 4). This reduction in the amount of insecticide found in the first week of incubation may be due to sorption rather than degradation.

Table 4. Values for parameters based on the SFO and FOMC models for unamended and amended soils S1 and S2. Values for determination coefficient (R^2), percentage error (err) and scaled error (err_{scaled}).

DIURON (SFO)							
Muestra	Ci±SD %	Ci* %	k·10⁻³ days ⁻¹	R²	DT₅₀ days	err	err_{scaled}
S1	97.89±0.53	91.70	2.67	0.99	259	3.78	3.13
S1V1	97.83±1.73	104.89	27.5	0.94	25	10.10	4.87
S1V2	100.67±1.49	108.48	16.8	0.94	41	16.40	9.82
S2	112.08±6.05	100.93	42.1	0.98	16	9.60	5.24
S2V1	115.23±2.26	107.92	31.5	0.98	22	9.40	5.93
S2V2	114.21±2.16	111.36	33.2	0.98	21	8.20	5.20
IMIDACLOPRID (SFO)							
Muestra	Ci±SD %	Ci* %	k·10⁻³ days ⁻¹	R²	DT₅₀ days	err	err_{scaled}
S1	103.71±2.51	102.03	1.52	0.87	455	2.00	1.89
S1V1	99.04±1.39	93.23	0.51	0.40	1363	2.20	1.99
S1V2	103.61±3.33	98.82	1.02	0.45	680	3.10	2.90
S2	89.48±3.07	93.10	1.89	0.63	366	2.00	1.78
S2V1	100.61±0.38	91.96	3.56	0.52	195	5.40	4.58
S2V2	102.75±7.36	92.98	3.84	0.43	180	7.10	6.14
IMIDACLOPRID (FOMC)							
	Ci* %	α	β	R²	DT₅₀ days	err	err_{scaled}
S1	102.41	4.07	2604.38	0.89	478	2.10	2.03
S1V1	-	-	-	-	-	-	-
S1V2	102.35	0.06	8.98	0.69	2.20x10 ⁶	3.00	2.82
S2	93.10	195.40	103246.50	0.92	233	1.20	1.96
S2V1	100.97	0.06	0.54	0.87	73027	3.10	2.63
S2V2	103.23	0.07	0.58	0.77	7989	5.40	4.50

*Initial Concentration estimated in the model

DISCUSSION

In general, the addition of vermicompost increased dehydrogenase activity, and there was a direct relationship between OC content and dehydrogenase activity at 0d ($R^2=0.70$; $P<0.01$) in the amended and unamended soil samples. No direct relationship could be observed between pesticide degradation and enzymatic activities, and neither diuron nor imidacloprid appeared to have any significant effect on enzymatic activities. The toxic effects of diuron on soil microbiota following degradation are reported in the literature (Prado and Airoidi, 2001; Sorensen et al., 2003). However, this possible toxicity was not reflected in the enzymatic activity analysed in our study. Imidacloprid appeared to have only a slight toxic effect in S2V1 at the beginning of the incubation process. Imidacloprid initially inhibited dehydrogenase activity and then, after a certain period of time, enzymatic activity increased again (Figure 2d). The increment was more pronounced in urease activity (Figure 3d). This could be explained by the release of easily degraded material from dead cells due to the initial toxic effect of imidacloprid at the beginning of the incubation process, although no references to this phenomenon have been found in the literature.

We found a higher degradation rate for diuron and smaller amounts of metabolites in unamended and amended soil S2, which could be explained by the higher level of urease activity detected in these samples compared with S1. Because urease enzymes are said to attack the carboxyl group in the urea compounds (Burns, 1978), a rapid transformation of diuron, DPMU and DPU can occur, thus releasing DCA, which is then strongly adsorbed. Some studies also report that phenylurea herbicides sorb less than aniline metabolites (Sorensen et al., 2003).

Figure 4 shows that the dissipation rate for diuron in the aqueous phase is lower than the incremental rate in the remaining phase. This is explained by the reduction in the desorption phase of pesticides due to the rate of degradation, while the increment in the remaining fraction is attributed to degradation and the ageing process (Walker et al., 2005). This ageing of pesticides is related to diffusion to less accessible sorption sites. Although additions of vermicompost enhance diuron's dissipation rate in S1 during the aqueous phase, previous studies have shown that they do not enhance the ageing process (Fernández-Bayo et al., 2007), which is more marked in unamended and amended soil S2 than in S1. The presence of clay in S1 contributes to the formation of micropores where diuron can diffuse. This characteristic together with diuron's high rate of dissipation and the small amount of metabolites proves that so-called bound residues are formed. Also, it is possible that part of a pesticide's sorbed fraction is degraded by microorganisms (Arias-Estevez et al., 2008).

Imidacloprid behaved differently. As previous studies have shown (Romero et al., 2006; Fernández-Bayo et al., 2007; Fernández-Bayo et al., 2007a; Fernández-Bayo et al., 2008), imidacloprid is sorbed less than diuron due to its higher solubility, and the addition of vermicompost significantly increases the sorption capacity of both soils and both pesticide residues (Table 3). However, this greater availability of imidacloprid does not lead to a higher rate of degradation, as degradation does not only depend on the availability of the pesticide. The apparent ageing effect is very low compared with diuron. The large size of imidacloprid prevents it from entering the clay's interlayers (Weiping et al., 2006) and the soil's micropores, thus limiting the formation of ageing residues.

As the experiments were carried out in the dark and the chemical degradation of both pesticides is negligible at the pH levels studied, we can therefore state that the degradation measured was mainly microbiological in nature. Microbial degradation has been reported to be the main cause of diuron dissipation in soils (Giacomazzi and Cochet, 2004). Diuron-degrading microorganisms have actually been isolated in laboratory cultures (Widehem et al., 2002). However, it is believed that the degradation of diuron is caused by a bacterial consortium rather than by single strains (Barra Caracciolo et al., 2005). Some research has indicated that the addition of exogenous amendments can enhance pesticide degradation due to the introduction of exogenous microorganisms (Delgado-Moreno and Peña, 2007), and dehydrogenase results show that microbial activity is stimulated by vermicompost additions, possibly explaining the lower DT_{50} in S1 amended samples (Table 4). Other researchers have found that pesticides are less available for degradation due to the higher sorption of the amended samples (Sánchez et al., 2003). This could be due to the slight increase in diuron's DT_{50} in unamended soil S2 in relation to the amended soil (Table 4). In all our experiments, the half life of diuron is in line with that found in the literature (Giacomazzi and Cochet, 2004).

The DT_{50} values for imidacloprid reported in the literature range from 33 to 129d (Rouchaud et al., 1994; Sarkar et al., 2001; Cox et al., 2004), which are much lower than in our experiments. Many studies have demonstrated the imidacloprid's sensitivity to photodegradation and hydrolysis at alkaline pHs, which reduce its half life considerably (Liu et al., 2003; Cox et al., 2004; Weiping et al., 2006). The absence of photodegradation and the neutral pH values of the samples contribute to the stability of imidacloprid molecules in these soils. In line with our study, other research has found a slow dissipation rate for imidacloprid in Mediterranean soils (Capri et al., 2001). In addition, the absence of microbial activation as well as the slight toxic effect observed in sample S2V1 and the low degradation rate of imidacloprid indicate the absence of a biotic component capable of degradation. Both these arguments may explain the long

half-life presented by this insecticide, even though other studies have indicated that organic amendments enhance imidacloprid degradation (Moorman et al., 2001). Vermicompost additions from wine waste either protect the compound from degradation, as already observed by Rouchaud et al (2004), or the microorganisms tend to degrade the more labile organic fractions in the amendments rather than the target pesticide (Moorman et al., 2001).

REFERENCES

Albarrán A, Celis R, Hermosín MC, López-Pineiro, Cornejo J. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* 2004; 54: 717-724.

Arias-Estevez M, Lopez-Periago E, Martinez-Carballo E, Simal-Gandara J, Mejuto JC, Garcia-Rio L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 2008; 123: 247-260.

Barra Caracciolo A, Giuliano G, Grenni P, Guzzella L, Pozzoni F, Bottoni P, Fava L, Crobe A, Orru M, Funari E. Degradation and leaching of the herbicides metolachlor and diuron: a case study in an area of Northern Italy. *Environmental Pollution* 2005; 134: 525-534.

Boivin A, Cherrier R, Schiavon M. A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. *Chemosphere* 2005; 61: 668-676.

Burns RG. *Soil enzymes*. Academic Press, Kent, 1978, -380 pp.

Capri E, Camisa MG, Flores C, Glass CR, Gonzalez-Pradas E, Trevisan M. Imidacloprid and pyrimethanil soil sorption. *Agronomie* 2001; 21: 57-64.

Cox L, Cecchi A, Celis R, Hermosín MC, Koskinen WC, Cornejo J. Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Sci Soc Am J* 2001; 65: 1688-1695.

Cox L, Hermosín MC, Cornejo J. Influence of organic amendments on sorption and dissipation of imidacloprid in soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2004; 84: 95-102.

Delgado-Moreno L, Peña A. Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 6213-6218.

Elvira C, Sampedro L, Benítez E, Nogales R. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot-scale study. *Bioresource Technology* 1998; 63: 205-211.

Fernández-Bayo JD, Nogales R, Romero E. Evaluation of the Sorption Process for Imidacloprid and Diuron in Eight Agricultural Soils from Southern Europe Using Various Kinetic Models. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 5266-5272.

Fernández-Bayo JD, Romero E, Schnitzler F, Burauel P. Assessment of pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery vermicompost. *Environmental Pollution* 2007; 154: 330-337.

Fernandez-Bayo JD, Nogales R, Romero E. Improved retention of imidacloprid (Confidor(R)) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Science of The Total Environment* 2007a; 378: 95-100.

Fernandez-Bayo JD, Nogales R, Romero E. Improved retention of imidacloprid (Confidor(R)) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Science of The Total Environment* 2007b; 378: 95-100.

Fernandez-Bayo JD, Nogales R, Romero E. Improved retention of imidacloprid (Confidor(R)) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Science of The Total Environment* 2007c; 378: 95-100.

FOCUS. "Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration" Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics. 2006, 1-434 pp.

García C, Hernández MT, Costa F. Potencial use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 1997; 28: 123-134.

Giacomazzi S, Cochet N. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* 2004; 56: 1021-1032.

Guo L, Jury WA, Wagenet RJ, Flury M. Dependence of pesticide degradation on sorption: Nonequilibrium model and application to soil reactors. *Journal of Contaminant Hydrology* 2000; 43: 45-62.

Koskinen WC, Cox L, Yen P. Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biology and Fertility of Soils* 2001; 33: 546-550.

Liu JF, Chao JB, Jiang GB, Cai YQ, Liu JM. Trace analysis of sulfonylurea herbicides in water by on-line continuous flow liquid membrane extraction-C18 precolumn liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection. *Journal of Chromatography A* 2003; 995: 21-28.

Moorman TB, Cowan JK, Arthur EL, Coats JR. Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils* 2001; 33: 541-545.

Park JH, Feng Y, Ji P, Voice TC, Boyd SA. Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69: 3288-3298.

Polati S, Roz M, Angioi S, Gianotti V, Gosetti F, Marengo E, Rinaudo C, Gennaro MC. Statistical evaluation of recovery of 3,4-dichloroaniline in soil as function of particle size and analyte concentration. *Talanta* 2005; 68: 93-98.

Prado AGS, Airoldi C. The effect of the herbicide diuron on soil microbial activity. *Pest Management Science* 2001; 57: 640-644.

Romero E, Salido A, Cifuentes C, Fernández JD, Nogales R. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2006; 86: 289-297.

Rouchaud J, Gustin F, Wauters A. Soil biodegradation and leaf transfer of insecticide imidacloprid applied in seed dressing in sugar beet crops. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1994; 53: 344-350.

Sánchez L, Peña A, Sánchez-Rasero F, Romero E. Methidathion degradation in soil amended with biosolids and a cationic surfactant: Use of different kinetic models. *Biology and Fertility of Soils* 2003; 37: 319-323.

Sánchez ME, Estrada IB, Martínez O, Villacorta J, Aller A, Moran A. Influence of the application of sewage sludge on the degradation of pesticides in the soil. *Chemosphere* 2004; 57: 673-679.

Sarkar MA, Roy S, Kole RK, Chowdhury A. Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal. *Pest Management Science* 2001; 57: 598-602.

Sorensen SR, Bending GD, Jacobsen CS, Walker A, Aamand J. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. *FEMS Microbiology Ecology* 2003; 45: 1-11.

Tixier C, Sancelme M, Bonnemoy F, Cuer A, Veschambre H. Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: Synthesis, ecotoxicity, and biotransformation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2001; 20: 1381-1389.

Tomlin CDS. *The Pesticide Manual*. UK, 2003, 1-1300 pp.

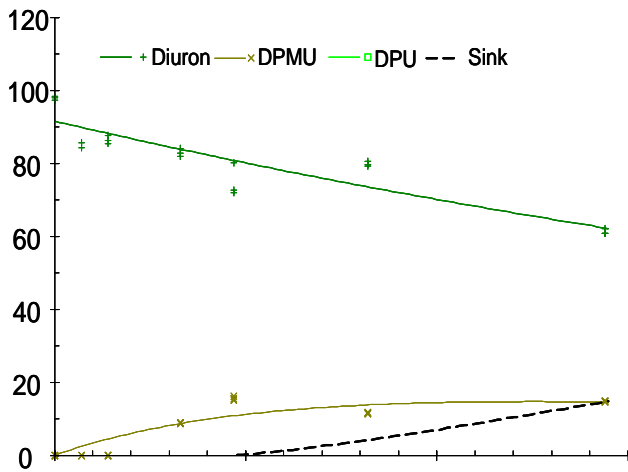
Walker A, Rodriguez-Cruz MS, Mitchell MJ. Influence of ageing of residues on the availability of herbicides for leaching. *Environmental Pollution* 2005; 133: 43-51.

Weiping L, Wei Z, Yun M, Liu KK. Sorption and Degradation of Imidacloprid in Soil and Water. *Journal of Environmental Science & Health, Part B -- Pesticides, Food Contaminants, & Agricultural Wastes* 2006; 41: 623-634.

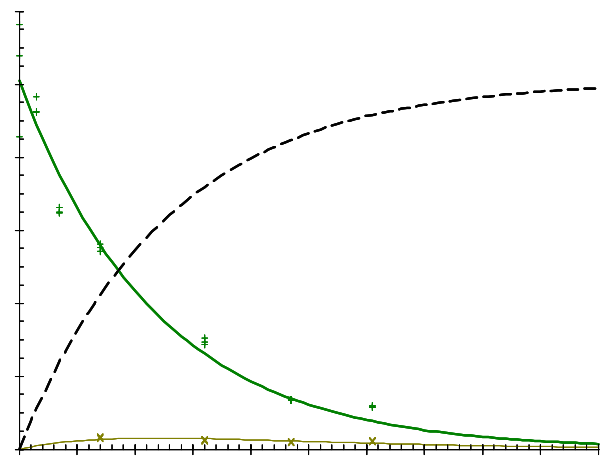
Widehem P, At-Assa S, Tixier C, Sancelme M, Veschambre H, Truffaut N. Isolation, characterization and diuron transformation capacities of a bacterial strain *Arthrobacter* sp. N2. *Chemosphere* 2002; 46: 527-534.

APPENDIX 1

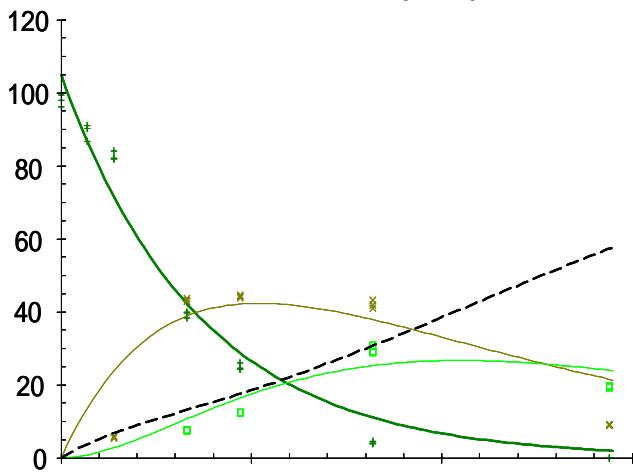
S1+D (SFO)



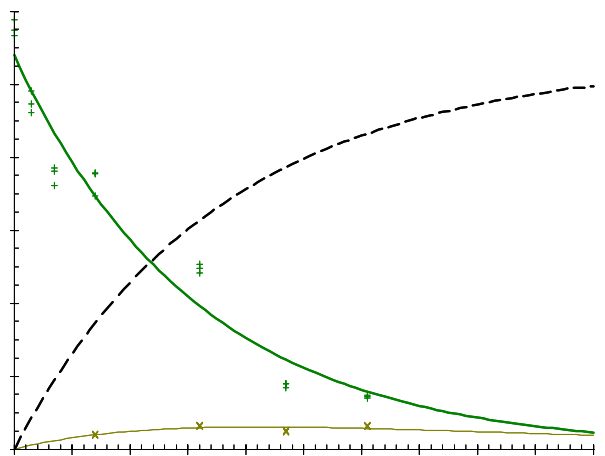
S2+D (SFO)



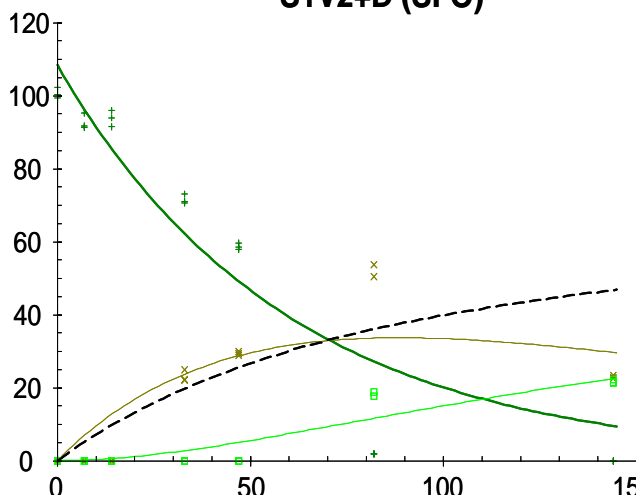
S1V1+D (SFO)



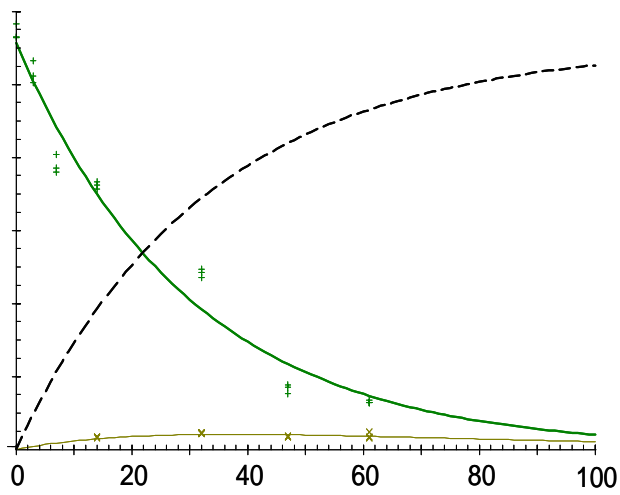
S2V1+D (SFO)



S1V2+D (SFO)

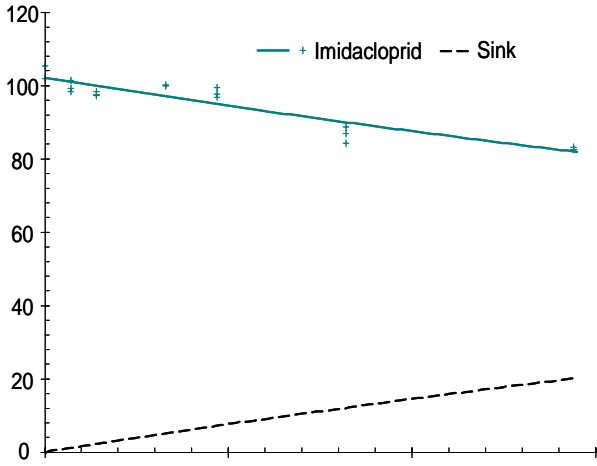


S2V2+D (SFO)

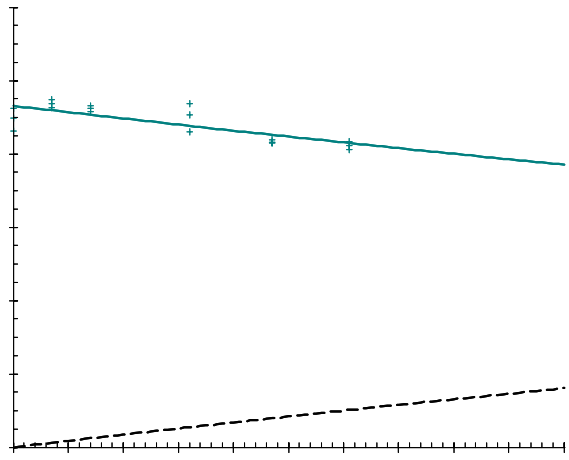


Days

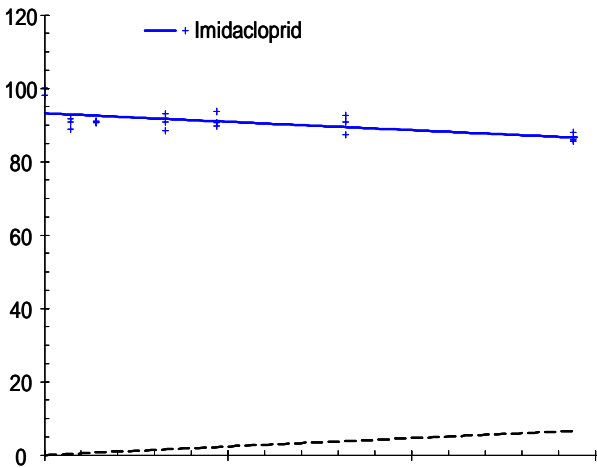
S1+I (FOMC)



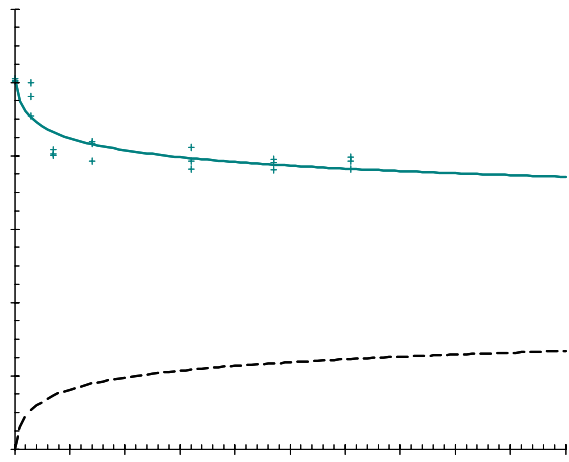
S2+I (FOCM)



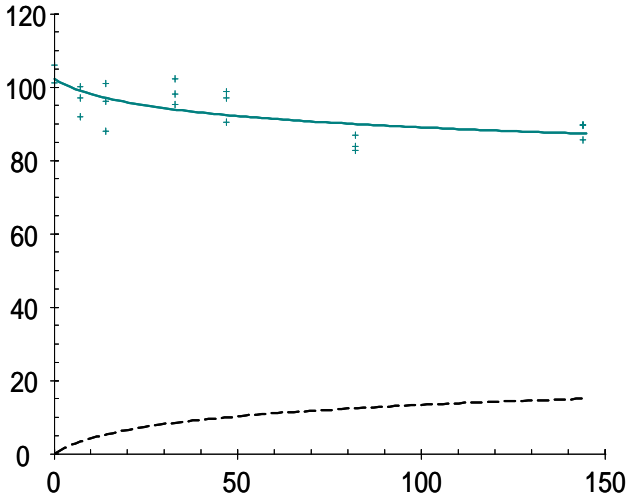
S1V1+I (SFO)



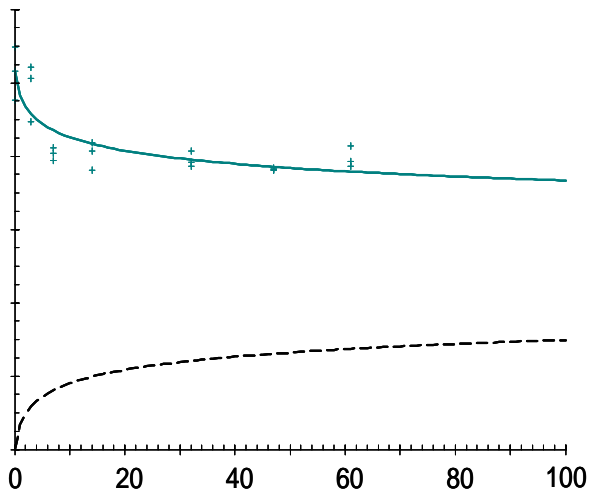
S2V1+I (FOMC)



S1V2+I (FOMC)



S2V2+I (FOMC)



CAPÍTULO 9
DISCUSIÓN GENERAL



El comportamiento de un plaguicida está determinado por las características del plaguicida, las características del sorbente y las condiciones ambientales y actuaciones antrópicas. Todas estas diferentes características interactuarán entre sí conformando un comportamiento específico para cada plaguicida en un contexto ambiental determinado. A pesar de esto, si se puede concluir con cierta seguridad, que la materia orgánica del suelo es la propiedad más influyente en el comportamiento de plaguicidas. Numerosos trabajos atribuyen a esta propiedad un papel fundamental tanto en la adsorción (Albarrán y col., 2004) como en la degradación (Kah y col., 2007). Además de la cantidad de materia orgánica, el origen y la naturaleza de ésta son piezas fundamentales en el comportamiento de los plaguicidas (Ahangar y col., 2008; Ahmad y col., 2001). No obstante, esta propiedad no es única, y en suelos con bajo contenido en materia orgánica serán otras propiedades las que prevalezcan (Spark y Swift, 2002).

Los residuos orgánicos seleccionados mostraron capacidad para retener plaguicidas tanto en su forma natural como vermicompostada. Su eficacia de adsorción vino definida por la composición de los residuos y por las propiedades de los plaguicidas. Así, los plaguicidas sufonilureicos no demostraron gran afinidad por los residuos orgánicos, debido a su carácter aniónico y a su dependencia del pH. La ineficacia de este tipo de residuos para retener plaguicidas sulfonilureicos también fue observada por Delgado-Moreno y Peña (2008). Por ello, es posible que tratamientos destinados a la modificación del pH del suelo o la adición de surfactantes, sean más eficaces para prevenir la contaminación de plaguicidas iónicos (Sánchez y col., 2003b). En cambio, era de esperar la afinidad de imidacloprid y diuron por los residuos puesto que numerosos estudios confirman la inclinación de ambos por el carbono orgánico del suelo (Ahangar y col., 2008; Cox y col., 1998b; Weiping y col., 2006). Pero también sus diferentes propiedades, principalmente su solubilidad e hidrofobicidad van a determinar comportamientos dispares para cada plaguicida. En general, la mayor solubilidad del imidacloprid, su mayor tamaño, la polaridad atribuida a la molécula, su capacidad de protonarse en el grupo -NH (Cox y col., 1998a; Kagabu y Matsuno, 1997), hacen, por un lado, que su adsorción sea menor y, por otro, que interaccione con otras propiedades del suelo como el contenido en arcillas y la capacidad de intercambio catiónico sea más importante. Si bien la estructura química de la molécula de imidacloprid determinó en gran parte su adsorción, la forma de aplicación, es decir, ya sea como sustancia pura o a través de un formulado usado en campo (confidor), no parece intervenir en la adsorción de éste compuesto.

Por su parte el diurón, debido a su menor solubilidad y mayor hidrofobicidad siempre ha presentado mayor adsorción y una mayor interacción con la materia orgánica del suelo.

El proceso de estabilización de los residuos orgánicos por medio de vermicompostaje fue eficiente para humificar y reducir la toxicidad de los sustratos iniciales y además afectó a otras propiedades reduciendo el contenido en carbono orgánico total e incrementando el pH de los residuos. En general, la fracción húmica de los sustratos obtenidos tras el vermicompostaje es mayor y más semejante a la fracción húmica del suelo (Romero y col., 2007), por ello, este tipo de vermicompost se pueden considerar agrónomicamente eficientes y ambientalmente seguros según conocimientos actuales (Senesi y col., 2007).

Tras el proceso de vermicompostaje, se produjo una reducción general de la capacidad de adsorción de los plaguicidas sulfonilureicos, puesto que se produjo un incremento en el pH y éstas se encontraban totalmente disociadas. Pero también se redujo la adsorción de imidacloprid y diuron, excepto en el vermicompost de lodo de vinaza y sarmiento. El descenso y la transformación del carbono orgánico de los residuos sería la principal causa de la menor adsorción. La capacidad de adsorción de los residuos viene determinada, además de por la cantidad de carbono orgánico, por la composición, estructura y grupos funcionales de la materia orgánica. Es por ello, que la adsorción de ambos plaguicidas se relacionó inversamente con las propiedades que disminuían el carbono orgánico en fase sólida, como el carbono extraíble total y los ácidos fúlvicos. En cambio se correlacionó muy bien con el contenido en ligninas ($r=0,93$ y $r=0.83$, para imidacloprid y diurón respectivamente). Así, por su alto contenido en ligninas, los residuos con mayor capacidad de adsorción fueron el orujo vitivinícola agotado y el orujo vitivinícola agotado mezclado con lías tanto en su forma natural como vermicompostada. Esto es atribuido al contenido en ligninas, ya que presentan numerosos grupos funcionales con diferente reactividad, grupos aromáticos, carbonilos, hidroxilo, etc (Lange y col., 1998). De hecho, existen estudios sobre el uso de ligninas para controlar la liberación de imidacloprid al medio y prevenir su desplazamiento a aguas subterráneas (Fernández-Pérez y col., 1998). Por el contrario, la mezcla de alperujo y estiércol presentó la menor adsorción debido a que era el residuo con menor contenido en carbono orgánico y, de este carbono orgánico, gran parte pertenece a la fracción del carbono orgánico disuelto (Tablas 1, Capítulos III y VI).

La mezcla de lodos de vinazas y sarmientos presentó una capacidad de adsorción intermedia entre los orujos vinícolas agotados y el alperujo-estiércol. Su capacidad de adsorción estuvo más atribuida a su contenido en sustancia húmicas, por ello, tras el proceso de vermicompostaje, en lugar de disminuir su capacidad de adsorción, esta se mantuvo o incrementó. La estructura de las sustancias húmicas consiste en anillos aromáticos unidos a cadenas largas de estructura alifáticas lo que les confiere una estructura flexible. Además las sustancias húmicas presentan oxígenos en forma de grupos carboxilo, carbonilos, hidroxilos alcohólicos y fenólicos, éteres, ésteres, así como nitrógenos en estructuras heterocíclicas y nitrilos. Todos

estos grupos funcionales le confieren a este tipo de sustancias una gran capacidad de interaccionar con diferentes moléculas como los plaguicidas. Por ello, las sustancias húmicas influyen de manera significativa en el transporte, deposición, disponibilidad, acumulación y dinámica de los plaguicidas (Landgraf y col., 1998).

Las cinéticas de adsorción llevadas a cabo en 8 suelos de diferentes propiedades pero con bajo contenido en carbono orgánico mostraron un comportamiento diferente para imidacloprid y diurón. La adsorción de ambos plaguicidas alcanzó un equilibrio aparente antes de las 6h, sin embargo, tras éste periodo, con la ampliación del tiempo de contacto entre la solución y el suelo las muestras presentaban un ligero incremento de la adsorción. En general, la adsorción de imidacloprid fue menor y sus diferencias en la adsorción entre los primeros instantes y hasta que se alcanza el equilibrio son menores que para diurón. Los diferentes modelos usados en el estudio de las cinéticas de adsorción de imidacloprid y diuron demostraron ser válidos para explicar la velocidad y la forma en que se produce su adsorción en suelos, excepto el modelo hiperbólico. Además, el uso de estos modelos permitió conocer mejor la forma de interaccionar entre ambos plaguicidas y suelos con diferentes propiedades. No se observó una correlación clara entre el contenido en el carbono orgánico de los suelos y la capacidad de adsorción tanto de imidacloprid y diuron, tal vez por el bajo contenido en materia orgánica de estos suelos. Esto hizo que otras propiedades, normalmente eclipsadas por el carbono orgánico, dominen el proceso de adsorción. De esta manera la máxima adsorción (q_{max}) del imidacloprid se correlacionó positivamente con la capacidad de intercambio catiónico y el contenido en limos e inversamente con el contenido en arena.

La falta de correlación entre diurón y el carbono orgánico se explica por varios motivos. En primer lugar, la adsorción de diurón está más influenciada por la naturaleza química del carbono orgánico, por ejemplo la aromaticidad de la materia orgánica, que por la cantidad en sí (Ahangar y col., 2008; Ahmad y col., 2001). Aun cuando el contenido en carbono orgánico sea alto, las interacciones de la materia orgánica con las arcillas puede reducir la eficacia para adsorber diurón. De la misma manera, en suelos con alto contenido en $CaCO_3$ (como el suelo S6, Tabla 1, Capítulo 4), la capacidad de retención de plaguicidas, como el diuron (Nkedi-Kizza y col., 2006), se puede ver mermada. Por su parte, el suelo S3 presentó un alto contenido en iones Ca^{2+} (Tabla 1, capítulo 4), lo que también puede alterar el comportamiento de plaguicidas en suelos. Precisamente, en el estudio de los suelos enmendados (capítulo 6) también se observó un efecto negativo sobre la adsorción de diurón atribuido a la presencia de $CaCl_2$ en la solución de suelo (Alva y Singh, 1990). La presencia de elevadas concentraciones en solución puede dar lugar a procesos de complejación de diurón, a procesos de competición por los lugares de adsorción o afectar a la distribución y forma de la materia orgánica del suelo, exponiendo en el

lado de la solución la cara hidrofílica de las moléculas anfifílicas y disminuyendo su área de contacto (Kleber y col., 2007; Murphy y col., 1994). Todo esto daría lugar a un efecto sobre la adsorción de diurón.

El modelo de Elovich mostró una adsorción bifásica para ambos plaguicidas en casi todos los suelos. Confirmando así, la teoría que supone dos etapas en el proceso de adsorción, una fase rápida de adsorción en los lugares más accesibles y otra más lenta, atribuida a procesos de difusión y de redistribución de las moléculas adsorbidas a lugares más recónditos (Boesten y col., 1989). Sin embargo el suelo S4 y S6 presentaron una adsorción instantánea para imidacloprid y, en el caso del diuron, fueron los suelos S1 y S6. El alto contenido de arcillas del suelo S6 permite explicar la rápida adsorción que se produce de ambos plaguicidas que ya fue observada por los altos valores de la velocidad de reacción (k) del modelo de pseudo-segundo orden. En los otros suelos, S1 y S4, su baja capacidad de adsorción, podría ser debida a sus contenidos en arenas y bajo contenido en CO los que explicasen esta adsorción en una fase (Regitano y col., 2001).

El modelo de Weber y Morris demostró que la adsorción de estos agroquímicos no estaba limitada por un simple proceso. Se observó un efecto de la capa límite, atribuido a la adsorción instantánea en los lugares más accesibles de los plaguicidas, esta capa límite fue más importante en el caso del diurón. Los suelos con mayor contenido en carbono orgánico fueron los que presentaron un predominio del proceso de difusión para el imidacloprid. El proceso de partición de la molécula de diurón explicaría el mayor efecto de la capa límite para el diurón. Ésta capa límite más amplia hace que el fenómeno de transferencia de masas (indicado por la primera pendiente de la Figura 6, capítulo 4) y luego es el proceso de difusión el proceso limitante en la adsorción (segunda pendiente). En el caso del diurón, también aquellos suelos con mayor contenido en carbono orgánico parecen presentar un mayor proceso de difusión.

Una vez analizada la cinética del proceso de adsorción de los dos plaguicidas en suelos sin enmendar, se hace imperativo conocer la capacidad de adsorción, a través de la ecuación de Freundlich, y correlacionarla con las diferentes propiedades. Para ello, se investigó la capacidad de adsorción de imidacloprid de suelos con diferentes propiedades y el efecto de la temperatura.

Se encontró una cierta correlación entre la capacidad de adsorción y el contenido en carbono orgánico del suelo para el insecticida imidacloprid (Figura 1, Capítulo 5). Sin embargo, siguen apareciendo excepciones en esta correlación evidenciando una vez más la importancia de otras propiedades del suelo en la adsorción de imidacloprid.

Además de las características del plaguicida y del suelo, en el proceso de adsorción, los factores ambientales pueden ser determinantes. Uno de estos factores es la temperatura ambiental, que tiene gran variabilidad en el clima mediterráneo. Durante el ensayo de adsorción de imidacloprid a diferentes temperaturas (15 y 25°C), se observó una adsorción menor a mayor temperatura. En nuestro caso, un incremento de 10°C disminuyó en 1,5 y 1,8 veces la capacidad de adsorción de los suelos ensayados. Esto es de esperar dado que el proceso de adsorción es un proceso exotérmico (Dios Cancela y col., 1992; Limousin y col., 2007). Por ello la aplicación de este insecticida en época o lugares de temperaturas elevadas, como los invernaderos, debe de ser tenido en cuenta puesto que si su adsorción es menor, mayor será el riesgo de que se produzca una lixiviación hacia aguas subterráneas.

Una vez estudiado el comportamiento de imidacloprid y diurón en los vermicomposts, por un lado, y en diferentes suelos, se procedió al estudio de su comportamiento en suelos enmendados con vermicomposts.

La adición de los vermicomposts de orujo vitivinícola, lodo de vinaza mezclado con sarmiento y alperujo-estiércol como enmiendas orgánicas, a un suelo franco arenoso y otro franco-arcillo-limoso tuvo consecuencias importantes sobre las propiedades del suelo. La más destacable fue el incremento en carbono orgánico del suelo, este incremento fue mayor cuanto mayor fue la dosis aplicada. No se apreciaron diferencias significativas en el aporte de carbono orgánico debidas al tipo de vermicompost y al tipo de suelo, solamente el suelo franco-arcillo-limoso enmendado al 10% con vermicomposts de lodo de vinaza y sarmientos y alperujo-estiércol, presentó un incremento ligeramente superior que el enmendado con vermicompost de orujo vitivinícola agotado. Pero además de modificar esta propiedad, las enmiendas alteraron los valores de la capacidad de intercambio catiónico, conductividad eléctrica, pH, carbono orgánico disuelto y ácidos húmicos (Tabla 1, Capítulo 6). Por su parte, cuando estas enmiendas fueron incubadas durante 6 semanas en el suelo, se produjeron una serie de procesos que modificaron el contenido y/o estructura del carbono orgánico de las enmiendas. Durante el ensayo con vermicompost de orujo vitivinícola y lodo de vinaza mezclado con sarmiento en el suelo franco-arenoso (Capítulo 7), no se apreciaron cambios texturales significativos durante el periodo de incubación, aunque si presentó una distribución del tamaño de partícula diferente. Esto es debido a que parte de las fracciones más pequeñas están agregadas a otras partículas dando lugar a un material más grueso, en el proceso de fraccionamiento suave usado en el capítulo 7, donde el pretratamiento con H₂O₂ y polifosfato sódico para destruir la materia orgánica y romper cualquier tipo de agregado formado en el suelo fue eliminado.

Finalmente, otra propiedad alterada por la adición de enmiendas es el carbono orgánico disuelto. El carbono orgánico disuelto aumentó en los dos suelos

seleccionados por la adición de vermicomposts, siendo este incremento más evidente en el suelo franco-arenoso (Figura 1a, Capítulo 6). Si en el aporte al carbono orgánico total por la adición de las enmiendas no hubo grandes diferencias debidas al tipo de vermicompost, no ocurrió lo mismo con el carbono orgánico disuelto. El vermicompost de alperujo-estiércol, fue el que presentó una mayor cantidad de carbono orgánico disuelto (Tabla 1, Capítulo 6). Durante el ensayo de incubación con ^{14}C -diurón (Capítulo 7), también se observó que la adición de enmiendas incrementó el carbono orgánico disuelto, pero el incremento es mayor para el lodo de vinaza que para el orujo agotado, cosa que no sucedía en el ensayo del capítulo 6. Esto se puede explicar porque en el capítulo 6 la fracción de carbono orgánico disuelto determinado es aquel que atravesaba un filtro de $0,45\ \mu\text{m}$, que es la fracción considerada como propia de la materia orgánica disuelta en numerosos trabajos (Leenheer y Croué, 2003). Sin embargo, en el estudio de fraccionamiento físico la fracción considerada como similar a la materia orgánica disuelta era inferior a $0,05\ \mu\text{m}$.

A pesar de no haber encontrado una correlación clara entre el contenido en CO de los suelos y la adsorción de los plaguicidas, la adición de enmiendas orgánicas a estos dos suelos supuso un incremento considerable en la adsorción de ambos plaguicidas.

Para imidacloprid se investigó el efecto de la adición de vermicompost de orujo vinícola agotado como único enmendante, pero a diferente tamaño. La adición de éste vermicompost supuso un incremento de entre 2,9 y 15,7 veces la capacidad de adsorción de imidacloprid de los suelos (Tabla 3, Capítulo 5). Este incremento se puede atribuir al mayor contenido en carbono orgánico y a la mayor capacidad de intercambio catiónico de la muestra enmendada (Tabla VI.1). Otros estudios sobre la aplicación de enmiendas no han encontrado un efecto tan importante sobre la adsorción de imidacloprid (Cox y col., 2004b). Este efecto fue más evidente en suelo con menor contenido en materia orgánica y cuanto mayor fue la cantidad de enmienda aplicada. Sin embargo, la forma de aplicación de la enmienda, es decir, sin moler o molida, también tuvo efecto en la capacidad de adsorción. Como es de esperar, la forma molida, presenta una mayor área superficial y una mayor facilidad para que el compuesto alcance los lugares de adsorción, por lo que incrementó la capacidad de adsorción mayor medida. El efecto de la enmienda en la adsorción en suelo con contenido en carbono orgánico bajo es tan importante, que una vez aplicada la enmienda no se aprecia diferencias en la adsorción entre un suelo de un tipo u otro.

Por su parte, en el caso de diuron, se investigó la aplicación de los tres vermicomposts ensayados, orujo vitivinícola, lodo de vinaza mezclado con sarmiento y alperujo-estiércol, como enmendantes. Las tres enmiendas aplicadas (Capítulo 6),

en diferente medida, incrementaron su adsorción. Se encontró una correlación positiva entre el contenido en carbono orgánico de las muestras y una negativa entre el contenido en carbono orgánico disuelto. La correlación positiva se explica bien por la influencia del carbono orgánico en la adsorción de diurón, mientras que la correlación negativa con el carbono orgánico disuelto se puede explicar por el descenso en el contenido en carbono orgánico que presenta la fase sólida a mayor disolución de éste y a la mayor hidrofobicidad de la solución del suelo atribuida al COD (Cox y col., 2007; Spark y Swift, 2002). El enmendante más eficaz fue el vermicompost de orujo vinícola agotado, por su mayor cantidad de ligninas, mientras que el menos eficaz fue el vermicompost de alperujo-estiércol, precisamente el que presentaba una mayor cantidad de carbono orgánico disuelto y menor contenido en ligninas.

Tras la incubación de los residuos en los suelos, fue el vermicompost de lodos de vinazas y sarmientos el que se mostró más eficaz a la hora de incrementar la capacidad de adsorción de los suelos. Durante la incubación del orujo agotado en el suelo S1, la fracción determinada como semejante a AH se redujo de manera significativa (Figura 3, Capítulo 6). De hecho, en el ensayo de incubación del capítulo 7, si observamos la evolución del índice de humificación (Figura 2, Capítulo 7), se ve que la muestra enmendada con vermicompost de lodo de vinazas y sarmientos incrementa éste índice durante la incubación, mientras que en el caso del vermicompost de orujo vinícola agotado este índice parece descender ligeramente. Estas transformaciones durante la incubación disminuyeron considerablemente la capacidad de adsorción de este suelo enmendado. Es posible, que durante la determinación de esta fracción húmica se incluya una parte las moléculas determinadas como ligninas y esta fracción fuese transformada durante la incubación. Sin embargo, en el suelo arcilloso, estas ligninas podrían formar complejos organominerales con la arcilla, protegiéndose de la degradación, pero también disminuyendo su eficacia de adsorción para el diurón. Por su parte, el vermicompost de alperujo-estiércol, a pesar de mostrar la menor capacidad de adsorción ésta parece haber sido llevada a cabo por la fracción más estable de este residuo ya que no modificó su adsorción durante la incubación, a pesar del descenso en el contenido en carbono orgánico. Esto se puede explicar por el mayor índice de humificación presentado por éste vermicompost (Tabla 1, Capítulo 3).

Cuando se normalizan los valores de K_f obtenidos en los ensayos con el contenido en carbono orgánico de cada muestra (K_{OC}), ni en los residuos (Tabla 2, Capítulo 3), ni en los suelos (Tabla 2, Capítulo 3), ni en los vermicomposts (Tabla 2, Capítulo 4), ni las diferentes fracciones de suelo estudiadas (Tabla 3, Capítulo 6) muestran una homogenización de los valores de K_{OC} para imidacloprid o diurón. Esto confirma que la adsorción de ambos plaguicidas viene influenciada no solo por la cantidad de carbono orgánico, sino que también por la naturaleza de éste carbono

orgánico y, cuando el contenido es bajo, por otras propiedades. Los rangos de valores de K_{OC} de imidacloprid están entre 51 hasta los 562. Principalmente todos los valores están por debajo de 500, lo que indica una alta movilidad de este plaguicida (Fushiwaki y Urano, 2001). En el caso del diuron el rango de valores es más amplio desde 170 en el alperujo-estiércol sin vermicompostar, hasta el valor de 18926, encontrado en la fracción gruesa obtenida en el fraccionamiento del suelo franco-arenoso enmendado con vermicompost de lodo de vinaza mezclado con sarmiento. La mayoría de los valores, sobre todo en los suelos enmendados (Tabla 2, Capítulo 6), se encuentran por encima de 500, por lo que el diurón presenta una movilidad media.

A la hora de estudiar la capacidad de adsorción de un suelo también es importante la fuerza con la que es retenido, o lo que es lo mismo, la velocidad en la que se desorbe el compuesto. Esto se mide a través de los procesos de adsorción-desorción, expresados mediante el índice de histéresis aparente (IHA). Este índice mostró, para el imidacloprid, una mayor eficacia en la adsorción en el suelo franco-arcilloso-limoso que en el franco-arenoso, 0,66 y 0,95 respectivamente. Se habla de una mayor eficacia de adsorción puesto que la desorción en suelos con índice de histéresis aparente baja es más lenta y, por tanto, su liberación al medio ambiente va a ser más gradual que en suelos con un índice de histéresis aparente más alto. La explicación a este comportamiento la podemos encontrar en el mayor contenido en carbono orgánico y arcillas de este suelo. Además, uno de los procesos a los que se atribuye la aparición de fenómenos de histéresis en el suelo es la presencia de procesos de difusión y, precisamente éste suelo, el S3, mostró tener proceso de difusión según el modelo de Weber-Morris (Figura 6, Capítulo 4).

Por otro lado, en los resultados obtenidos de éste índice para diurón, es el suelo arenoso (0,26) el que presenta un menor índice de histéresis aparente que el suelo arcilloso (0,35). Puesto que la difusión en este suelo no parece ser tan importante como en el arcilloso, el tipo de enlace formado en este suelo puede ser más específico e irreversible y por ello presenta un menor índice de histéresis aparente. Ambos procesos, difusión y enlaces específicos, son los que determinarían que el vermicompost de orujo agotado fuese la enmienda con menor índice de histéresis aparente para los dos suelos. De hecho, algunos estudios muestran que la irreversibilidad en la adsorción es más evidente en la materia orgánica que en otros substratos como las arcillas (Moreau-Kervevan y Mouvet, 1998), lo que explicaría los valores de índice de histéresis aparente más bajos en el suelo arcilloso enmendado (Tabla 3, Capítulo 6).

Los valores obtenidos de $1/n$ en todos los ensayos son, tanto para imidacloprid como para diurón, iguales o menores que 1. Sólo los residuos de orujo vitivinícola, lodo de vinaza mezclado con sarmiento y alperujo-estiércol, sin vermicompostar y los vermicompost de orujo vitivinícola mezclado con lías y alperujo-estiércol,

presentaron valores superiores a 1, demostrando una redistribución de las moléculas con la concentración de diurón que permitía un incremento en su capacidad de adsorción (Limousin y col., 2007). Este valor fue siempre inferior para imidacloprid que para diurón en todos los ensayos, lo que confirma una adsorción de diurón dominada por procesos de partición. La adición de enmiendas orgánicas siempre incrementó los valores de $1/n$, lo que indica un aumento de los lugares de adsorción y un fomento del proceso de partición.

El proceso conocido como ageing o envejecimiento de los residuos fue estudiado directamente en el ensayo de incubación con ^{14}C -diurón (Capítulo 7) e, indirectamente, en el ensayo del Capítulo 8. Este proceso dio lugar a la formación de residuos no extraíbles de diurón. La formación de residuos no extraíbles se puede dar por medio de una o más de las numerosas interacciones que se pueden suceder entre una molécula y un adsorbente, tales como, enlaces iónicos, covalentes, puentes de hidrógeno, transferencia de carga o mecanismos donadores-aceptores de electrones, intercambio de ligandos, enlaces hidrofóbicos, fuerzas de Van der Waals o partición (Gevao y col., 2000). Lo que ocurre durante el proceso de envejecimiento de residuos es que se favorece una redistribución del contaminante desde las zonas débilmente enlazadas a aquellas donde se produce una adsorción más fuerte, como lugares donde el plaguicida queda "secuestrado" o zonas donde se formen enlaces covalentes (White y col., 1997). Las cloroanilinas, por ejemplo, reaccionan principalmente con el suelo mediante la formación de enlaces covalentes (Gevao y col., 2000). Esto puede explicar parte del incremento en la formación de residuos no extraíbles de diurón. Esto explica, además, que la eficacia de extracción de la dicloroanilina sea tan baja (Tabla 3, Capítulo 8), y que además no se detectase mediante la cromatografía de capa fina (Capítulo 7), ni en el ensayo de incubación (Capítulo 8).

También es de esperar que la fuerte interacción de la dicloroanilina con el suelo haga que su degradación sea considerablemente más lenta. Por ello, como la formación de dicloroanilina es un paso previo para la mineralización de diuron, apenas se observa la formación de $^{14}\text{CO}_2$ y apenas existen diferencias entre la aplicación o no de los vermicomposts.

La formación de residuos no extraíbles en las diferentes fracciones del suelo (capítulo 7), fue más importante en la fracción gruesa, que es la que está compuesta sólo por material vermicompostado. En esta fracción, la formación de residuos no extraíbles fue más importante en el material más humificado, lodo de vinaza con sarmiento. El material humificado parece ser más reactivo en la formación de residuos no extraíbles (Wanner y col., 2000) y, como ya se comentó, tienen mayor capacidad de formar enlaces covalentes sobre las cloroanilinas. Con el estudio del fraccionamiento del suelo, además, se pudo observar que la adición de las enmiendas

no favorecía la lixiviación de diuron por su interacción con la materia orgánica disuelta y, tampoco se favorecía la lixiviación por su posible interacción con la fracción coloidal del suelo que es susceptible de moverse a otros horizontes del suelo.

Algunos estudios han observado un incremento en la formación de residuos no extraíbles por la adición de enmiendas (Printz y col., 1995), no obstante, las enmiendas usadas en este estudio no promocionaron la formación de residuos no extraíbles de diurón (Capítulo 7), con respecto al suelo sin enmendar. Sin embargo, durante el ensayo de degradación (Capítulo 8) si que se apreciaron diferencias importantes entre la fracción remanente del suelo franco-arenoso sin enmendar y el mismo enmendado (Anexo VIII.I). Estos diferentes resultados obtenidos se atribuyen a que, en el capítulo 7, el proceso de extracción de este suelo, fue tras el fraccionamiento físico. De esta manera, se usó una relación peso volumen de 1:2 (fracción de suelo:extractante), para la extracción de la fracción gruesa y fracción arena, mientras que en la fracción de tamaño similar a limo esta proporción fue 1:16(fracción semejante al limo:extractante), lo que pudo fortalecer considerablemente el proceso de extracción en esta fracción, que además demostró ser la fracción mas importante en la retención de diurón después de la fracción gruesa. Además, la fracción remanente del capítulo 6, es calculada indirectamente por modelos e incluye fracciones de diurón como la parte mineralizada.

Otra posible explicación podría deberse a los diferentes valores de los índices de histéresis aparentes encontrados para este suelo sin enmendar (0,26) y enmendados (>0,39) que podrían equilibrar la formación de residuos no extraíbles. Es decir, el en suelo sin enmienda se adsorbe menos cantidad pero con mayor fuerza, mientras que la adsorción en el suelo enmendado es mayor pero más débil, por lo que el resultado final sería un valor similar de residuos no extraíbles.

En el ensayo de degradación (Capítulo 8) de imidacloprid y diurón se observaron comportamientos muy distintos para ambos. Diurón se disipó muy rápidamente y su DT_{50} fue de las más bajas (<41d) encontradas en la bibliografía (Giacomazzi y Cochet, 2004), excepto en el suelo franco-arenoso sin enmendar (259d). El efecto que tienen los vermicompost sobre la degradación de diuron estuvo definido por el tipo de suelo. Así en el suelo franco-arenoso, se aprecia claramente que la presencia de vermicompost favorece la degradación del compuesto y se determinan concentraciones importantes de sus metabolitos. En el suelo S2, la transformación y disipación de diurón es también muy importante, pero independiente de la adición de enmiendas. La influencia del tipo de suelo en la degradación de pesticidas ya ha sido observada por Kah y col. (2007). Gevao y col. (2000, 2005), demuestra el importante papel que tienen los microorganismos y las enzimas del suelo en la formación de enlaces covalentes. La actividad ureasa,

bastante más importante en el suelo franco-arcillo-limoso que el suelo arenoso (Figuras 2 y 3, Capítulo 8), contribuye a explicar la rápida desaparición de diurón y la formación de residuos no extraíbles en este suelo durante la incubación (Anexo VIII.1).

Por otro lado, imidacloprid demostró ser más persistente en el suelo a pesar de su mayor disponibilidad. Aunque ninguno de los dos plaguicidas tuvo importantes repercusiones en las actividades enzimáticas del suelo, el insecticida imidacloprid pareció tener un ligero efecto sobre la microbiota del suelo franco-arcillo-limoso enmendado con orujo agotado. Por lo tanto, imidacloprid pudo haber provocado posibles alteraciones en la diversidad microbiana del suelo y podrían ser investigadas en futuros estudios.

Por otro lado, la cinética de degradación de ambos pesticidas fue diferente. Mientras que diurón fue degradado siguiendo una cinética de primer orden, imidacloprid mostró, principalmente en los suelos enmendados, una cinética de degradación bifásica, con una fase de degradación rápida al inicio y una degradación mucho más lenta tras los 14 días de incubación. Este periodo coincide con el periodo en el que la actividad enzimática presentó las variaciones más importantes.

Por otro lado, si bien diurón presentó claros indicios de formación de residuos no extraíbles y más aún en el suelo franco-arcillo-limoso, en el caso del imidacloprid no fue así. En el ensayo de incubación, se puede observar que la fracción de residuos remanentes (en la que se encontrarían los residuos no extraíbles), en ningún caso es superior al 30% de la cantidad inicial aplicada. Una de las explicaciones de esta baja formación de residuos no extraíbles puede ser el tamaño de la molécula (Weiping y col., 2006).

En resumen se puede decir que el diuron tiene una mayor interacción con el suelo que el imidacloprid y la adición de enmiendas reduce la disponibilidad de ambos plaguicidas. La enmienda más efectiva a corto plazo para la retención de plaguicidas es el vermicompost de orujo agotado por su contenido en ligninas, mientras que a largo plazo parece ser más efectivo el vermicompost de lodos de vinaza mezclado con sarmiento, por ser este material más humificado. La adición de enmiendas no favorece procesos de formación de residuos no extraíbles y sólo parece incrementar la degradación de estos compuestos en el suelo franco-arenoso, a pesar de que incrementan la actividad biológica y enzimática del suelo. Por ello, parece ser que la adición de enmiendas es más efectiva en el suelo arenoso, puesto que incrementan en mayor medida la capacidad de adsorción de éste y favorecen la disipación en comparación con el suelo sin enmendar. Imidacloprid puede ser considerado como un compuesto potencialmente más contaminante que diurón puesto que es menos adsorbido y su residencia en los suelos, enmendados o sin

enmendar, es considerablemente superior a la exhibida por diurón. Aunque estos resultados podrían variar considerablemente en ensayos de campo, puesto que imidacloprid es bastante más fotosensible que diurón y su degradación puede ser considerablemente más rápida (Cox y col., 2004b; Weiping y col., 2006).

CONCLUSIONES



1. Los residuos vitivinícolas (orujos vinícolas agotados, mezcla de orujos vinícolas agotados y lías y mezcla de lodos de vinazas y sarmientos) y los residuos oleícolas (mezcla de alperujo y estiércol) sin vermicompostar o vermicompostados mostraron una elevada efectividad como adsorbentes de plaguicidas no iónicos como Imidacloprid y diuron. Sin embargo, presentaron una escasa capacidad de adsorción para los herbicidas de la familia de las sulfonilureas debido al pK_a de estas moléculas, de carácter aniónico al pH de los substratos. Comparativamente, los orujos vinícolas agotados tuvieron una mayor capacidad de adsorción atribuible a su elevado contenido en ligninas. El proceso de vermicompostaje de los residuos redujo la capacidad de adsorción de los residuos agroindustriales ensayados, excepto en el vermicompost de lodo de vinaza con sarmiento que aumentó para imidacloprid y se mantuvo para diurón.

2. Imidacloprid y diuron presentaron una cinética de adsorción de pseudo-segundo orden en diferentes suelos con bajo contenido en carbono orgánico. No se observó una correlación directa con el contenido de carbono del suelo debido a su bajo contenido y a la influencia de otros componentes del suelo. La adsorción de imidacloprid estuvo correlacionada con otras propiedades como la capacidad de intercambio catiónico y el contenido en arenas y limos. También se encontró un efecto importante con el contenido y tipo de arcilla de los suelos. En el caso del diuron, la adsorción por los suelos fue mayor y estuvo más atribuida al área superficial de los mismos y al carácter hidrófobo de este herbicida. La ecuación de Élovich mostró que ambos plaguicidas presentaron, en casi todos los suelos, un proceso de adsorción de dos fases, una inicial rápida seguida por una bastante más lenta. Los suelos con mayor contenido de carbono orgánico fueron los que presentaron un proceso de difusión lenta, como el principal mecanismo de adsorción de imidacloprid. El modelo Weber and Morris mostró para el diuron un importante efecto de la capa de suelo limitante indicando que el proceso de partición de esta molécula tiene una gran influencia en la etapa inicial del proceso de adsorción.

3. El modelo de adsorción de Freundlich describió las isotermas de adsorción de ambos plaguicidas en los suelos estudiados. Los bajos valores de K_{oc} y la alta solubilidad de imidacloprid manifiestan un alto potencial de este compuesto para ser transportado a través del suelo. El incremento de la temperatura redujo los valores de la constante de adsorción para el imidacloprid. La adición de vermicompost de orujo vinícola agotado aumentó significativamente el valor de la constante de adsorción de imidacloprid por los suelos. El aumento en la adsorción fue más significativo cuando el vermicompost se adicionó molido. Esto indica que el incremento de la superficie de contacto generada al disminuir el tamaño de partícula de estos materiales favorece su adsorción. La adición de vermicompost tuvo un efecto más apreciable en el suelo franco arenoso.

4. La adición de vermicomposts de orujo vinícola agotado, lodo de vinaza con sarmiento, y alperujo con estiércol, aumentaron la capacidad de adsorción de diuron en un suelo franco-arenoso y en un suelo franco-arcillo-limoso. El enmendante más eficaz tanto por el aumento en la capacidad de adsorción como por su histéresis fue el vermicompost de orujo vinícola agotado. El menos eficaz fue el vermicompost de alperujo con estiércol por la correlación inversa encontrada entre la adsorción de diuron y el contenido en carbono orgánico disuelto. Después de seis semanas de incubación de los suelos enmendados, se observó que los suelos tratados con los vermicomposts vitivinícolas disminuyeron su capacidad de adsorción mientras que en el vermicompost oleícola no varió. A pesar de esa variación, el vermicompost de lodo de vinaza mezclado sarmiento fue el que fomentó en los suelos los valores mas altos en la constante de adsorción.

5. La adición de vermicomposts de orujo vinícola agotado y de lodo de vinaza con sarmiento no favoreció la formación de residuos no extraíbles de diurón, ni su mineralización. En el suelo sin enmendar, la fracción más importante en la formación de residuos no extraíbles de diurón fue la de tamaño semejante al limo, mientras que en los suelos enmendados con los vermicomposts fue la fracción gruesa, destacando el del lodo de vinaza mezclado con y sarmiento. Pese al aumento de la fracción coloidal y del carbono orgánico disuelto en los suelos enmendados con vermicomposts respecto a los suelos sin enmendar, la concentración de diuron determinada no aumentó en dichas fracciones. Esto indicaría una escasa interacción del herbicida con estas fracciones disueltas. Por tanto, es de esperar que la adición de estas enmiendas no favorezca la transferencia de diuron a otros compartimentos del suelo a través de estas fracciones.

6. El herbicida diurón se degrada rápidamente siguiendo una cinética de degradación de primer orden. La aplicación de vermicomposts de orujo vinícola agotado y lodo de vinaza con sarmiento favoreció la degradación de diurón en el suelo franco arenoso, mientras que en el suelo franco-arcillo-limoso su degradación fue rápida e independiente de la adición de las enmiendas orgánicas. Sin embargo, el diuron no parece inhibir las actividades enzimáticas del suelo (deshidrogenasa y ureasa). El insecticida imidacloprid presentó una cinética de degradación bifásica. Durante la incubación, la fracción de imidacloprid disponible en el suelo fue mayor que la del diuron, aunque su velocidad de degradación fue menor. La escasa degradación del imidacloprid podría ser atribuible a la presencia de otras fuentes de carbono mas fácilmente asimilables por los microorganismos o bien al impacto que sobre la actividad microbiana provocó el tratamiento con este insecticida.

CONCLUSIONS

1. - Vermicomposted and non-vermicomposted winery residues (spent grape marc, spent grape marc mixed with lees cake and biosolid vinasse mixed with vine shoots) and olive oil residues (*alperujo* mixed with goat manure) proved to be highly efficient as non-ionic pesticide sorbents, such as imidacloprid and diuron. However, their capacity to sorb sulfonylurea herbicides was limited due to the pK_a of these molecules, which are anionic at the pH values of the substrates. The two spent grape marc residues had greater sorption capacity because of their higher lignin content. The vermicomposting process reduced the sorption capacity of the agroindustrial wastes assayed, except in biosolid vinasse mixed with vine shoot where the sorption of imidacloprid increased and diuron sorption did not vary.

2. - Imidacloprid and diuron fit a pseudosecond-order sorption kinetic for different soils with low organic carbon content. No correlation between sorption and organic carbon content was observed, mainly due to the low organic carbon content and other components of these soils. Imidacloprid sorption correlated with cation exchange capacity as well as silt and sand content. Clay content and type also had a major impact. In relation to diuron, soil sorption was higher, which can be explained by the surface area of these soils and the hydrophobic nature of the herbicide. The Elovich equation showed that both pesticides had a two-phase sorption in almost all the soils, which involved an initial fast phase followed by slower stage. The Weber and Morris model demonstrated that diuron caused an important boundary layer effect, indicating that this molecule's partition process has an important influence on the initial stage of the sorption process.

3. - The Freundlich sorption model adequately described the sorption isotherms of both insecticides in the soils studied. The low K_{OC} values and imidacloprid's high solubility show that this insecticide has a high leaching potential in the soil. The increment in temperature reduced the sorption constant values of imidacloprid. The spent grape marc vermicompost addition significantly boosted the imidacloprid sorption constant in soils. Sorption increased more sharply when ground vermicompost was used. This indicates that the increment in the surface area due to the smaller size of particles enhanced sorption. The addition of vermicompost had a greater impact in the sandy loam soil.

4.- The Freundlich sorption model adequately described diuron's sorption isotherms in the soils studied. The addition of vermicompost containing spent grape marc, biosolid vinasse mixed with vine shoots and *alperujo* mixed with manure increased the sorption capacity of diuron in sandy loam and silty clay loam soils. Given its increased sorption capacity and its hysteresis index, the most efficient amendment was the spent grape marc vermicompost. *Alperujo*-manure was the least efficient vermicompost due to the inverse correlation found between diuron sorption capacity

and dissolved organic carbon content. After six weeks of incubation in the selected soils, the winery vermicompost reduced sorption capacity, while there was no change in the *alperujo*-manure vermicompost. Nevertheless, the biosolid vinasse vermicompost showed the highest sorption values after incubation.

5. - The addition of vermicompost from spent grape marc and biosolid vinasse mixed with vine shoots did not enhance the formation of diuron's bound residues or its mineralization. In the unamended soil, the most important fraction in bound residue formation was the silt-sized fraction whereas, in the amended soils, it was the coarse waste fraction, with biosolid vinasse having a particularly outstanding role in this area. Although the clay-sized and dissolved organic matter phases were longer, the presence of diuron did not increase in these fractions. There was therefore limited interaction between the herbicide and these fractions. The vermicompost addition is not expected to enhance the transfer of diuron to other soil compartments.

6. Diuron herbicide is rapidly degraded following the single first order kinetic. The vermicompost addition of spent grape marc and biosolid vinasse enhanced diuron degradation in the sandy-loam soil. In silty clay loam soil, degradation occurred at a fast rate and independently of vermicompost additions. Furthermore, diuron did not appear to inhibit the soil's enzymatic activities (dehydrogenase and urease). With imidacloprid, degradation was biphasic. During incubation, imidacloprid's available fraction was higher than that for diuron, although degradation rate was slower. Imidacloprid's limited degradation could be attributed to the presence of other carbon sources more easily assimilated by microorganisms or to the impact on the soil's enzymatic activity induced by this insecticide.

BIBLIOGRAFIA

- Adani, F., Genevini, P., Tambone, F., y Montoneri, E. (2006). Compost effect on soil humic acid: A NMR study. *Chemosphere*. 65, 1414-1418.
- Ahangar, A. G., Smernik, R. J., Kookana, R. S., y Chittleborough, D. J. (2008). Clear effects of soil organic matter chemistry, as determined by NMR spectroscopy, on the sorption of diuron. *Chemosphere*. 70, 1153-1160.
- Ahmad, R., Kookana, R. S., Alston, A. M., y Skjemstad, J. O. (2001). The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ¹³C CPMAS NMR spectroscopy. *Environmental Science and Technology*. 35, 878-884.
- Ahmad, R., Nelson, P. N., y Kookana, R. S. (2006). The molecular composition of soil organic matter as determined by ¹³C NMR and elemental analyses and correlation with pesticide sorption. *European Journal of Soil Science*. 57, 883-893.
- Alba J., Ruiz M.A. y Hidalgo F. (1992). Control de elaboración y características analíticas de los productos obtenidos en una línea continua ecológica. *Dossier Oleo*, 2, 43- 48 XII Mostra mercato di olio nuovo. Impruneta (Italia).
- Albarrán, A., Celis, R., Herмосín, M. C., López-Pineiro, y Cornejo, J. (2004). Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere*. 54, 717-724.
- Albarrán, Celis, Herмосín, López-Piñeiro y Cornejo (2002). Effect of solid olive-mill waste amendment on pesticide sorption and leaching in soil. *Waste Management and the Environment*. 351-359
- Alva, A. K. y Singh, M. (1990). Effects of soil-cation composition on reactions of four herbicides in a candler fine sand. *Water, Air, & Soil Pollution*. 52, 175-182.
- Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gandara, J., Mejuto, J. C., y García-Río, L. (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 123, 247-260.
- Attaway, H. H., Camper, N. D., y Paynter, M. J. B. (1982). Anaerobic microbial degradation of diuron by pond sediment. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 17, 96-101.
- Barberá, C. (1976). *Pesticidas agrícolas*. 3rd. Omega. Barcelona. 569 pp.
- Barriuso, E., Laird, D. A., Koskinen, W. C., y Dowdy, R. H. (1994). Atrazine Desorption from Smectites. *Soil Science Society of American Journal*. 58, 1632-1638.

- Baskaran, S., Bolan, N. S., Rahman, A., y Tillman, R. W. (1996). Effect of exogenous carbon on the sorption and movement of atrazine and 2,4-D by soils. *Australian Journal of Soil Resource*. 34, 609-622.
- Bending, G. D., Shaw, E., y Walker, A. (2001). Spatial heterogeneity in the metabolism and dynamics of isoproturon degrading microbial communities in soil. *Biology and Fertility of Soils*. 33, 484-489.
- Benítez, E., Melgar, R., Sainz, H., Gómez, M., y Nogales, R. (2000). Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annum*, L.) grown with olive cake mulches. *Soil Biology and Biochemistry*. 32, 1829-1835.
- Benítez, E., Sainz, H., y Nogales, R. (2005). Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource Technology*. 96, 785-790.
- Biggar, J. W., Mingelgrin, U., y Cheung, M. W. (1978). Equilibrium and kinetics of adsorption of picloram and parathion with soils. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 26, 1306-1312.
- Boesten, J. J. T. I., Van der Pas, L. J. T., y Smelt, J. H. (1989). Field test of a mathematical model for non-equilibrium transport of pesticides in soil. *Pesticide Science*. 25, 187-203.
- Botella, B., Crespo, J., Rivas, A., Cerrillo, I., Olea-Serrano, M. F., y Olea, N. (2004). Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environmental Research*. 96, 34-40.
- Briceño, G., Palma, G., y Durán, N. (2007). Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 37, 233-271.
- Bronick, C. J. y Lal, R. (2005). Soil structure and management: A review. *Geoderma*. 124, 3-22.
- Brown, C. D., Carter, A. D., and Hollis, J. M. (1995). Soil and Pesticide Mobility. *Environmental Behaviour of Agrochemicals*. Roberts, T. R and Kearney, P. C. Chichester. 131-184.
- Burauel, P. y Bassmann, F. (2005). Soils as filter and buffer for pesticides-- experimental concepts to understand soil functions. *Environmental Pollution*. 133, 11-16.
- Burauel, Wais y Fuhr (1998). Soil-Bound Residues. 177-188.

- Burgoa, B and Wauchope, R. D. (1995). Pesticides in run-off and surface waters. *Environmental Behaviour of Agrochemicals*. Roberts, T. R and Kearney, P. C. Chichester. 221-255.
- Burns, R. G. (1978). *Soil enzymes*. Burns, R. G. Kent. 380 pp.
- Bustamante, M. A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., y Pérez-Murcia, M. D. (2008). Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*. 28, 372-380.
- Bustamante, Paredes, Moral, Moreno-Caselles, Pérez-Murcia, Pérez-Espinosa y Bernal (2007). Co-composting of distillery and winery wastes with sewage sludge. 2, 187-192.
- Calvet, R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives*. 83, 145-177.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Fernández-Laespada, M. E., Calvo-Serono, L., y Sánchez-San Román, F. J. (2003). Evolution over time of the agricultural pollution of waters in an area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Research*. 37, 928-938.
- Carpenter-Boggs, L., Kennedy, A. C., y Reganold, J. P. (2000). Organic and biodynamic management: Effects on soil biology. *Soil Science Society of American Journal*. 64, 1651-1659.
- Carreño, J., Rivas, A., Granada, A., Jose Lopez-Espinosa, M., Mariscal, M., Olea, N., y Olea-Serrano, F. (2007). Exposure of young men to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environmental Research*. 103, 55-61.
- Carter, A. D. (2000). Herbicide movement in soils: Principles, pathways and processes. *Weed Research*. 40, 113-122.
- Cate, J. R. y Hinkle H.K. (1994). *Integrated Pest Management: the path of a paradigm*. The National Audubon Society Special Report. 43 pp.
- Celis, R., Barriuso, E., y Houot, S. (1998). Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: Dissolved organic matter effects. *Journal of Environmental Quality*. 27, 1348-1356.
- Chantigny, M. H. (2003). Dissolved and water-extractable organic matter in soils: A review on the influence of land use and management practices. *Geoderma*. 113, 357-380.

- Cheung, C. W., Porter, J. F., y McKay, G. (2000). Elovich equation and modified second-order equation for sorption of cadmium ions onto bone char. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 75, 963-970.
- Chiou, C. T., Malcolm, R. L., Brinton, T. I., y Kile, D. E. (1986). Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environmental Science and Technology*. 20, 502-508.
- Chiron, S., Valverde, A., Fernández-Alba, A., y Barceló, D. (1995). Automated sample preparation for monitoring groundwater pollution by carbamate insecticides and their transformation products. *Journal of AOAC International*., 78, 1346-1352.
- Cho, H. H., Choi, J., Goltz, M. N., y Park, J. W. (2002). Combined effect of natural organic matter and surfactants on the apparent solubility of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality*. 31, 275-280.
- Claver, A., Ormad, P., Rodríguez, L., y Ovelleiro, J. L. (2006). Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). *Chemosphere*. 64, 1437-1443.
- Cohen, S. Z., Wauchope, R. D., Klein, A. W., Eadsforth, C. V., y Graney, R. (1995). Pesticides report 35. Offsite transport of pesticides in water: Mathematical models of pesticide leaching and runoff (Technical Report). *Pure Applied Chemistry*. 67, 2109-2148.
- Cox, C. (2001). Insecticide Factsheet: Imidacloprid. *Journal of Pesticide Reform*. 21, 15-21.
- Cox, C. (2003). Herbicide factsheet: Diuron. *Journal of Pesticide Reform*. 23, 1-9.
- Cox, L., Celis, R., Hermosín, M. C., Cornejo, J., Zsolnay, A., y Zeller, K. (2000). Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*. 34, 4600-4605.
- Cox, L., Hermosín, M. C., y Cornejo, J. (2004a). Influence of organic amendments on sorption and dissipation of imidacloprid in soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 84, 95-102.
- Cox, L., Hermosín, M. C., y Cornejo, J. (2004b). Influence of organic amendments on sorption and dissipation of imidacloprid in soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 84, 95-102.
- Cox, L., Koskinen, W. C., Celis, R., Yen, P. Y., Hermosín, M. C., y Cornejo, J. (1998a). Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components. *Soil Science Society of American Journal*. 62, 911-915.

- Cox, L., Koskinen, W. C., y Yen, P. Y. (1998b). Influence of soil properties on sorption-desorption of imidacloprid. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 33, 123-134.
- Cox, L., Koskinen, W. C., y Yen, P. Y. (1998c). Changes in sorption of imidacloprid with incubation time. *Soil Science Society of American Journal*. 62, 342-347.
- Cox, L., Velarde, P., Cabrera, A., Hermosín, M. C., y Cornejo, J. (2007). Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *European Journal of Soil Science*. 58, 714-721.
- Cuadros, L., García, A. M., Jiménez, C., y Román, M. (1993). Estimation of Performance Characteristics of an Analytical Method Using the Data Set Of The Calibration Experiment. *Analytical Letters*. 26, 1243-1258.
- Dabin, B (1971). Etude d'une méthode d'extraction de la matière humique du sol. *Science du Sol*, 47-48.
- Dalva, M. y Moore, T. R. (1991). Sources and sinks of dissolved organic carbon in a forested swamp catchment. *Biogeochemistry*. 15, 1-19.
- Delgado Calvo-Flores, G. (1983). Estudio edáfico de la zona de Linares. Capacidad de uso de los suelos. Tesis Doctorales de la Universidad de Granada
- Delgado-Moreno, L. y Peña, A. (2008). Sorption/desorption behaviour of sulfonylurea herbicides as affected by the addition of fresh and composted olive cake to soil. *Weed Research*. 48, 461-469.
- Delgado-Moreno, L. y Peña, A. (2007). Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 55, 6213-6218.
- Dios Cancela, G., Romero Taboada, E., y Sanchez-Rasero, F. (1992). Carbendazim adsorption on montmorillonite, peat and soils. *Journal of Soil Science*. 43, 99-111.
- Dios, C., Romero Taboada, E., y Sanchez-Rasero, F. (1990). Adsorption of cyanazine on peat and montmorillonite clay surfaces. *Soil Science*. 150, 836-843.
- E.P.A. (1994). Imidacloprid Pesticide Fact Sheet.
- Edwards, C. A. y Bohlen, P. J. (1996). *Biology and ecology of earthworms*. Springer 3rd edition. 1-440.
- Elliott, J. A., Cessna, A. J., Nicholaichuk, W., y Tollefson, L. C. (2000). Leaching Rates and Preferential Flow of Selected Herbicides through Tilled and Untilled Soil. *Journal Environmental Quality*. 29, 1650-1656.

- Farenhorst, A. (2006). Importance of soil organic matter fractions in soil-landscape and regional assessments of pesticide sorption and leaching in soil. *Soil Science Society of American Journal*. 70, 1005-1012.
- Fernández-Bayo, J. D., Nogales, R., y Romero, E. (2007a). Improved retention of imidacloprid (Confidor(R)) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Science of The Total Environment*. 378, 95-100.
- Fernández-Bayo, J. D., Romero, E., Schnitzler, F., y Burauel, P. (2007b). Assessment of pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery vermicompost. *Environmental Pollution*. 154, 330-337.
- Fernández-Pérez, M., González-Pradas, E., Amate, M. D., Wilkins, R. M., y Lindup, I. (1998). Controlled Release of Imidacloprid from a Lignin Matrix: Water Release Kinetics and Soil Mobility Study. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 46, 3828-3834.
- Ferreras, L., Gómez, E., Toresani, S., Firpo, I., y Rotondo, R. (2006). Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. *Bioresource Technology*. 97, 635-640.
- Flores-Céspedes, F., Fernández-Pérez, M., Villafranca-Sánchez, M., y González-Pradas, E. (2006). Cosorption study of organic pollutants and dissolved organic matter in a soil. *Environmental Pollution*. 142, 449-456.
- Flores-Céspedes, F., González-Pradas, E., Fernández-Pérez, M., Villafranca-Sánchez, M., Socias-Viciano, M., y Ureña-Amate, M. D. (2002). Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil. *Journal of Environmental Quality*. 31, 880-888.
- Fontaine, D. D., Lehmann, R. G., y Miller, J. R. (1991). Soil adsorption of neutral and anionic forms of a sulfonamide herbicide, flumetsulam. *Journal of Environmental Quality*. 20, 759-762.
- Fushiwaki, Y. y Urano, K. (2001). Adsorption of pesticides and their biodegraded products on clay minerals and soils. *Journal of Health Science*. 47, 429-432.
- Gallardo-Lara, F. y Nogales, R. (1987). Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: a review. *Biological Wastes*. 19, 35-62.
- Gao, J. P., Maguhn, J., Spitzauer, P., y Kettrup, A. (1998). Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. *Water Research*. 32, 1662-1672.

- García Ortiz, A. y Frías Ruiz L. (1994). El alpechín y los orujos húmedos. Sus posibles usos. *Agricultura*, 746, 815-819.
- Garratt, J. A., Kennedy, A., Wilkins, R. M., Urena-Amate, M. D., Gonzalez-Pradas, E., Flores-Cespedes, F., y Fernandez-Perez, M. (2007). Modeling Pesticide Leaching and Dissipation in a Mediterranean Littoral Greenhouse. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 55, 7052-7061.
- Gerecke, A. C., Canonica, S., Muller, S. R., Scharer, M., y Schwarzenbach, R. P. (2001). Quantification of dissolved natural organic matter (DOM) mediated phototransformation of phenylurea herbicides in lakes. *Environmental Science and Technology*. 35, 3915-3923.
- Gevao, B., Semple, K. T., y Jones, K. C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*. 108, 3-14.
- Gevao, B., Jones, K. C., y Semple, K. T. (2005). Formation and release of non-extractable 14C-Dicamba residues in soil under sterile and non-sterile regimes. *Environmental Pollution*. 133, 17-24.
- Giacomazzi, S. y Cochet, N. (2004). Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere*. 56, 1021-1032.
- Giles, C. H., MacEwan, T. H., Nakhwa, S. N., y Smith, D. (1960). Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*. 3973-3993.
- Guetzloff y Rice (1996). *Micellar Nature of Humic Colloids*. J.S. Gaffey, N.A. Marley and S.B. Clark, Editors. 651. 17-25
- Guo, L., Jury, W. A., Wagenet, R. J., y Flury, M. (2000). Dependence of pesticide degradation on sorption: Nonequilibrium model and application to soil reactors. *Journal of Contaminant Hydrology*. 43, 45-62.
- Hamaker, J. W and Thompson J.M. (1972). *Adsorption in Organic Chemicals in the Soil Environment*. Vol. 1. Hamaker, J. W and Goring, C. A. I. New York. 49-144.
- Hesketh, N., Brookes, P. C., y Addiscott, T. M. (2001). Effect of suspended soil material and pig slurry on the facilitated transport of pesticides, phosphate and bromide in sandy soil. *European Journal of Soil Science*. 52, 287-296.
- Ho, Y. S. y McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry*. 34, 451-465.
- Hornsby, A. G., Wauchope, R. D., y Herner, A. E. (1996). *Pesticide properties in the environment*. Springer, cop. New York. 227 pp.

- Huang, X. y Lee, L. S. (2001). Effects of dissolved organic matter from animal waste effluent on chlorpyrifos sorption by soils. *Journal of Environmental Quality*. 30, 1258-1265.
- Jackson M.L. (1970). *Análisis químico de suelos*. 662 pp. Ed. Omega, S.A. Barcelona.
- Ingelmo, F. and Rubio, J. (2008). Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. *Compostaje*. Moreno Caso, J. and Moral Herrero, R. Madrid. 305-327.
- Ingelmo-Sánchez y Ibañez-Granell (1998). Runoff and infiltration in soils amended with sludge under dry Mediterranean climate. *Advances in Ecological Sciences* 1, 511-520.
- Kagabu, S. y Matsuno, H. (1997). Chloronicotinyl Insecticides. 8. Crystal and Molecular Structures of Imidacloprid and Analogous Compounds. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 45, 276-281.
- Kah, M., Beulke, S., y Brown, C. D. (2007). Factors influencing degradation of pesticides in soil. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 55, 4487-4492.
- Kan, A. T. y Tomson, M. B. (1990). Effect of pH concentration on the transport of naphthalene in saturated aquifer media. *Journal of Contaminant Hydrology*., 5, 235-251.
- Keeling, P. (1961). The Examination of clays by IL/MA: *Transactions of the British Ceramic Society*. 60, 217-244.
- Kile, D. E. y Chiou, C. T. (1989). Water solubility enhancements of DDT and trichlorobenzene by some surfactants below and above the critical micelle concentration. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23, 832-838.
- Kleber, M., Sollins, P., y Sutton, R. (2007). A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: Self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry*. 85, 9-24.
- Kohler, J., Tortosa, G., Cegarra, J., Caravaca, F., y Roldán, A. (2008). Impact of DOM from composted "alperujo" on soil structure, AM fungi, microbial activity and growth of *Medicago sativa*. *Waste Management*. 28, 1423-1431.
- Kordel, W. y Klein, M. (2006). Prediction of leaching and groundwater contamination by pesticides. *Pure and Applied Chemistry*. 78, 1081-1090.
- Koskinen, W. C., Cox, L., y Yen, P. (2001). Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biology and Fertility of Soils*. 33, 546-550.

- Koskinen, W. C., Rice, P. J., Anhalt, J. A., Sakaliene, O., Moorman, T. B., y Arthur, E. L. (2002). Sorption-desorption of "aged" sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides in soil. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 50, 5368-5372.
- Koskinen, W. C., Stone, D. M., y Harris, A. R. (1996). Sorption of hexazinone, sulfometuron methyl, and tebuthiuron on acid, low base saturated sands. *Chemosphere*. 32, 1681-1689.
- Krohn, J. y Hellpointner, E. (2002). Environmental Fate of Imidacloprid. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 55, 1-27.
- Lamoree, M. H., Swart, C. P., Van Der Horst, A., y Van Hattum, B. (2002). Determination of diuron and the antifouling paint biocide Irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal waters. *Journal of Chromatography A*. 970, 183-190.
- Landgraf, M. D., Da Silva, S. C., y De, O. R. (1998). Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Analytica Chimica Acta*. 368, 155-164.
- Lange, B. M., Hertkorn, N., y Sandermann, J. (1998). Chloroaniline/lignin conjugates as model system for nonextractable pesticide residues in crop plants. *Environmental Science and Technology*. 32, 2113-2118.
- LeBaron, H. M. y Gressel, G. (1982). *Herbicide Resistance in Plants*. LeBaron, H. M. y Gressel., G. New York. 401 pp.
- Lee, D. Y. y Farmer, W. J. (1989). Dissolved organic matter interaction with napropamide and four other nonionic pesticides. *Journal of Environmental Quality*. 18, 468-474.
- Leenheer, J. A. y Croué, J. P. (2003). Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*. 37,
- Lennartz, B., Louchart, X., Voltz, M., y Andrieux, P. (1997). Diuron and Simazine Losses to Runoff Water in Mediterranean Vineyards. *Journal of Environmental Quality*. 26, 1493-1502.
- Li, H., Teppen, B. J., Laird, D. A., Johnston, C. T., y Boyd, S. A. (2006). Effects of Increasing Potassium Chloride and Calcium Chloride Ionic Strength on Pesticide Sorption by Potassium- and Calcium-Smectite. *Soil Science Society of American Journal*. 70, 1889-1895.
- Li, K., Xing, B., y Torello, W. A. (2005). Effect of organic fertilizers derived dissolved organic matter on pesticide sorption and leaching. *Environmental Pollution*. 134, 187-194.

- Limousin, G., Gaudet, J. P., Charlet, L., Szenknect, S., Barthes, V., y Krimissa, M. (2007). Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement. *Applied Geochemistry*. 22, 249-275.
- Linn, D. M., Carski, T. H., Brusseau, M. L., y Chang, F. H. (1993). Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil. Proceedings of a symposium, Denver, October 1991. Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil. Proceedings of a symposium, Denver, October 1991.,
- Lopez-Espinosa, M. J., Granada, A., Carreno, J., Salvatierra, M., Olea-Serrano, F., y Olea, N. (2007). Organochlorine Pesticides in Placentas from Southern Spain and Some Related Factors. *Placenta*. 28, 631-638.
- López-Pérez G.C., Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Soto-González, B., Cancho-Grande, B., y Simal-Gándara, J. (2006). Dynamics of pesticides in potato crops. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 54, 1797-1803.
- Luo, Y., Zang, Y., Zhong, Y., y Kong, Z. (1999). Toxicological study of two novel pesticides on earthworm *Eisenia foetida*. *Chemosphere*. 39, 2347-2356.
- Majumdar, K. y Singh, N. (2007). Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*. 66, 630-637.
- Malato, S., Blanco, J., Cáceres, J., Fernández-Alba, A. R., Agüera, A., y Rodríguez, A. (2002). Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy. *Catalysis Today*. 76, 209-220.
- Marinari, S., Masciandaro, G., Ceccanti, B., y Grego, S. (2000). Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology*. 72, 9-17.
- Menniti, C., Cambon, J. P., y Bastide, J. (2003). Soil transformation of prosulfuron. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 51, 3525-3527.
- Moreau-Kervevan, C. y Mouvet, C. (1998). Adsorption and Desorption of Atrazine, Deethylatrazine, and Hydroxyatrazine by Soil Components. *Journal of Environmental Quality*. 27, 46-53.
- Moreno Casco, J. y Moral Herrero, R. (2008). Compostaje. Moreno Caso, J. y Moral Herrero, R. Madrid. 570 pp.
- Moreno, R., Benítez, E., Melgar, R., Polo, A., Gómez, M., y Nogales, R. (2000). Vermicomposting as an alternative for reusing by-products from the olive oil industry. *Fresenius Environmental Bulletin*. 9, 001-008.

- Morillo, E., Maqueda, C., Reinoso, R., y Undabeytia, T. (2002). Effect of two organic amendments on norflurazon retention and release by soils of different characteristics. *Environmental Science and Technology*. 36, 4319-4325.
- Murphy, E. M., Zachara, J. M., Smith, S. C., Phillips, J. L., y Wietsma, T. W. (1994). Interaction of Hydrophobic Organic Compounds with Mineral-Bound Humic Substances. *Environmental Science and Technology*. 28, 1291-1299.
- Nam, K. y Alexander, M. (1998). Role of nonporosity and hydrophobicity in sequestration and bioavailability: Tests with model solids. *Environmental Science and Technology*. 32, 71-74.
- Nauen, R., Tietjen, K., Wagner, K., y Elbert, A. (1998). Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). *Pesticide Science*. 52, 53-57.
- Nicholls, P. H. y Evans, A. A. (1991a). Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 1: acids. *Pesticide Science*. 33, 319-330.
- Nicholls, P. H. y Evans, A. A. (1991b). Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 2: cations, bases and zwitterions. *Pesticide Science*. 33, 331-345.
- Nkedi-Kizza, P., Shinde, D., Savabi, M. R., Ouyang, Y., y Nieves, L. (2006). Sorption kinetics and equilibria of organic pesticides in carbonatic soils from South Florida. *Journal of Environmental Quality*. 35, 268-276.
- Nogales, R., Domínguez, J., and Mato de la iglesia, S. (2008). Vermicompostaje. Compostaje. Moreno Caso, J. and Moral Herrero, R. Madrid. 187-207.
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E., y Gómez, M. (1996). Uso agrícola de compost y vermicompost de basuras urbanas (III): Capacidad de cesión de nutrientes al suelo y la planta. *Residuos*. 29, 54-60.
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E., y Gómez, M. (1995). Uso agrícola de compost y vermicompost de basuras urbanas (I): procesos, madurez y calidad de los productos. *Residuos*. 26, 53-57.
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E., Thompson, R., y Gómez, M. (1999). Feasibility of vermicomposting dairy biosolids using a modified system to avoid earthworm mortality. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 34, 151-169.
- Nogales, R., Thompson, R., Calmet, A., Benítez, E., Gómez, M., y Elvira, C. (1998). Feasibility of vermicomposting residues from olive oil production obtained using two stage centrifugation. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 33, 1491-1506.

- Oi, M. (1999). Time-dependent sorption of imidacloprid in two different soils. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 47, 327-332.
- Okamura, H., Aoyama, I., Ono, Y., y Nishida, T. (2003). Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. *Marine Pollution Bulletin*. 47, 59-67.
- Park, J. H., Feng, Y., Ji, P., Voice, T. C., y Boyd, S. A. (2003). Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Applied and Environmental Microbiology*. 69, 3288-3298.
- Parrilla, P., Martínez-Vidal, J. L., y Fernández-Alba, A. R. (1993). Optimization of the separation, isolation and recovery of selected pesticides in water samples by solid-phase extraction and HPLC photodiode array detection. *Journal of Liquid Chromatography*. 16, 4019-4029.
- Piccolo (2002). The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Serial Book monograph*. 75, 57-134.
- Pignatello, J. J. y Xing, B. (1996). Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environmental Science and Technology*. 30, 1-11.
- Pimentel, D. (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8, 17-29.
- Plaza, C., Senesi, N., Polo, A., Brunetti, G., Gil, J. C., y D'Orazio, V. (2003). Soil fulvic acid properties as a means to assess the use of pig slurry amendment. *Soil and Tillage Research*. 74, 179-190.
- Pons, N. y Barriuso, E. (1998). Fate of metsulfuron-methyl in soils in relation to pedo-climatic conditions. *Pesticide Science*. 53, 311-323.
- Porta, J., López-Acevedo, M., y Roquero, C. (2003). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. 3ª. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 929 pp.
- Portal, J. M., Pillon, P., Jeanson, P., y Gerard, B. (1986). Oxygen-containing functional groups in land-derived humic acids - i. evaluation by derivatization methods. *Organic Geochemistry*. 9, 305-311.
- Prado, A. G. S. y Airoidi, C. (2001). The effect of the herbicide diuron on soil microbial activity. *Pest Management Science*. 57, 640-644.
- Printz, H., Burauel, P., y Fuhr, F. (1995). Effect of organic amendment on degradation and formation of bound residues of methabenzthiazuron in soil under constant climatic conditions. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 30, 435-456.

- Regitano, J. B., Tornisielo, V. L., Lavorenti, A., y Pacovsky, R. S. (2001). Transformation pathways of 14C-chlorothalonil in tropical soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 40, 295-302.
- Reichenberger, S., Bach, M., Skitschak, A., y Frede, H. G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. *Science of The Total Environment*. 384, 1-35.
- Rial Otero, R., Cancho Grande, B., y Simal, G. (2003). Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography A*. 992, 121-131.
- Rodriguez-Cruz, S., Andrades, M. S., Sanchez-Camazano, M., y Sanchez-Martin, M. J. (2007). Relationship between the adsorption capacity of pesticides by wood residues and the properties of woods and pesticides. *Environmental science & technology*. 41, 3613-3619.
- Romero, E., Plaza, C., Senesi, N., Nogales, R., y Polo, A. (2007). Humic acid-like fractions in raw and vermicomposted winery and distillery wastes. *Geoderma*. 139, 397-406.
- Romero, E., Benítez, E., y Nogales, R. (2005). Suitability of Wastes from Olive-Oil Industry for Initial Reclamation of a Pb/Zn Mine Tailing. *Water, Air, & Soil Pollution*. 165, 153-165.
- Romero, E., Dios, G., Mingorance, M. D., Matallo, M. B., Peña, A., y Sánchez-Rasero, F. (1998). Photodegradation of mecoprop and dichlorprop on dry, moist and amended soil surfaces exposed to sunlight. *Chemosphere*. 37, 577-589.
- Romero, E., Matallo, M. B., Peña, A., Sánchez-Rasero, F., Schmitt-Kopplin, P., y Dios, G. (2000). Dissipation of racemic mecoprop and dichlorprop and their pure R-enantiomers in three calcareous soils with and without peat addition. *Environmental Pollution*. 111, 209-215.
- Romero, E., Salido, A., Cifuentes, C., Fernández, J. D., y Nogales, R. (2006). Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 86, 289-297.
- Romero, T., Barifouse, M., Rasero, F. S., Peña, A., De La, C. G., y Dios, C. (1997). Fate of methabenzthiazuron in calcareous soils from southeastern Spain. *Journal of Environmental Quality*., 26, 466-471.

- Rouchaud, J., Gustin, F., y Wauters, A. (1994). Soil biodegradation and leaf transfer of insecticide imidacloprid applied in seed dressing in sugar beet crops. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53, 344-350.
- Rouchaud, J., Gustin, F., y Wauters, A. (1996). Imidacloprid insecticide soil metabolism in sugar beet field crops. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 56, 29-36.
- Rouchaud, J., Neus, O., Bulcke, R., Cools, K., Eelen, H., y Dekkers, T. (2000). Soil dissipation of diuron, chlorotoluron, simazine, propyzamide, and diflufenican herbicides after repeated applications in fruit tree orchards. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 39, 60-65.
- Saavedra, M., Benítez, E., Cifuentes, C., y Nogales, R. (2006). Enzyme activities and chemical changes in wet olive cake after treatment with *Pleurotus ostreatus* or *Eisenia fetida*. *Biodegradation*. 17, 93-102.
- Sánchez, L., Peña, A., Sánchez-Rasero, F., y Romero, E. (2003a). Methidathion degradation in soil amended with biosolids and a cationic surfactant: Use of different kinetic models. *Biology and Fertility of Soils*. 37, 319-323.
- Sánchez, L., Romero, E., Sanchez-Rasero, F., Dios, G., y Peña, A. (2003b). Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Management Science*. 59, 857-864.
- Sánchez, L., Romero, E., y Peña, A. (2003c). Ability of biosolids and a cationic surfactant to modify methidathion leaching. *Modelling with pescol. Chemosphere*. 53, 843-850.
- Sarkar, M. A., Roy, S., Kole, R. K., y Chowdhury, A. (2001). Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal. *Pest Management Science*. 57, 598-602.
- Scheunert, I. (1992). Physical and physicochemical processes governing the residue behaviour of pesticides in terrestrial ecosystems. Ebing, W. Berlin. 22 pp.
- Schnitzer, M. (1991). Soil organic matter - the next 75 years. *Soil Science*. 151, 41-58.
- Schnitzler, F., Lavorenti, A., Berns, A. E., Drewes, N., Vereecken, H., y Burauel, P. (2007). The influence of maize residues on the mobility and binding of benazolin: Investigating physically extracted soil fractions. *Environmental Pollution*. 147, 4-13.
- Senesi, N. and Chen, Y. (1989). Interactions of toxic organic chemicals with humic substances. *Toxic Organic Chemicals in Porous Media*. Gerlst, Z, Chen, Y, Mingelgrin, U, and Yaron, B. Berlin. 37-90.

- Senesi, N., Plaza, C., Brunetti, G., y Polo, A. (2007). A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendment and effects on native soil humic substances. *Soil Biology and Biochemistry*. 39, 1244-1262.
- Sheng, G., Yang, Y., Huang, M., y Yang, K. (2005). Influence of pH on pesticide sorption by soil containing wheat residue-derived char. *Environmental Pollution*. 134, 457-463.
- Shiralipour, A., McConnell, D. B., y Smith, W. H. (1992). Physical and chemical properties of soils as affected by municipal solid waste compost application. *Biomass & Bioenergy*. 3, 261-266.
- Simpson, A. J., Kingery, W. L., Hayes, M. H., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., Kerssebaum, R., Godejohann, M., y Hofmann, M. (2002). Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften*. 89, 84-88.
- Soil Conservation Service (1972). Soil survey laboratory methods and procedures for collecting soils samples, Soil Surv. Report. USDA, Washington (USA).
- Sorensen, S. R., Bending, G. D., Jacobsen, C. S., Walker, A., y Aamand, J. (2003). Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. *FEMS Microbiology Ecology*. 45, 1-11.
- Southwick, L. M., Willis, G. H., Johnson, D. C., y Selim, H. M. (1995). Leaching of nitrate, atrazine, and metribuzin from sugarcane in Southern Louisiana. *Journal Environmental Quality*. 24, 684-690.
- Spark, K. M. y Swift, R. S. (2002). Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Science of The Total Environment*., 298, 147-161.
- Stevenson, F. J. (1994). *Humus Chemistry*. 2nd. Wiley & Sons. New York.
- Stevenson, F.J. (1972). Organic matter reactions involving herbicides in soils. *Journal of Environmental Quality*. 1, pp. 333-343.
- Szeto, S. Y. y Price, P. M. (1991). Persistence of pesticide residues in mineral and organic soils in the fraser valley of British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39, 1679-1684.
- Tixier, C., Bogaerts, P., Sancelme, M., Bonnemoy, F., Twagilimana, L., Cuer, A., Bohatier, J., y Veschambre, H. (2000). Fungal biodegradation of a phenylurea herbicide, diuron: Structure and toxicity of metabolites. *Pest Management Science*. 56, 455-462.

- Tixier, C., Sancelme, M., Bonnemoy, F., Cuer, A., y Veschambre, H. (2001). Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: Synthesis, ecotoxicity, and biotransformation. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20, 1381-1389.
- Tomlin, C. D. S. (2003). *The Pesticide Manual*. 12nd. British Crop Protection Council. UK. 1300 pp.
- Totsche, K. U., Danzer, J., y Köl-Knabner, I. (1997). Dissolved organic matter-enhanced retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil miscible displacement experiments. *Journal of Environmental Quality*. 26, 1090-1100.
- Troiano, J., Garretson, C., Krauter, C., Brownell, J., y Huston, J. (1993). Influence of amount and method of irrigation water application on leaching of atrazine. *Journal of Environmental Quality*. 22, 290-298.
- Vincent, A., Benoit, P., Pot, V., Madrigal, I., Delgado-Moreno, L., y Labat, C. (2007). Impact of different land uses on the migration of two herbicides in a silt loam soil: Unsaturated soil column displacement studies. *European Journal of Soil Science*. 58, 320-328.
- Wagner, G. H. y Stevenson, F. J. (1965). Structural Arrangement of Functional Groups in Soil Humic Acid as Revealed by Infrared Analyses. *Soil Science Society of American Journal*. 29, 43-48.
- Wanner, U., Burauel, P., y Fuhr, F. (2000). Characterisation of soil-bound residue fractions of the fungicide dithianon by gel permeation chromatography and polyacrylamide gel electrophoresis. *Environmental Pollution*. 108, 53-59.
- Wanner, U., Fuhr, F., y Burauel, P. (2005a). Influence of the amendment of corn straw on the degradation behaviour of the fungicide dithianon in soil. *Environmental Pollution*. 133, 63-70.
- Wanner, U., Fuhr, F., deGraaf, A. A., y Burauel, P. (2005b). Characterization of non-extractable residues of the fungicide dithianon in soil using ¹³C/¹⁴C-labelling techniques. *Environmental Pollution*. 133, 35-41.
- Ware, G. W. (1986). *Fundamentals of Pesticides*. Thomsom Publ. Fresno (California).
- Ware, G. W. y Whitacre, D. M. (2004). *The Pesticide Book*. 6th Edition. MeisterPro Information Resources. Willoughby, Ohio. 468 pp.
- Wauchope, R. D. (1978). The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - A review. *Journal of Environmental Quality*. 7, 459-472.
- Wauchope, R. D., Yeh, S., Linders, J. B. H. J., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B., Katayama, A., Kördel, W., Gerstl, Z., Lane, M., y Unsworth, J. B. (2002a).

- Pesticide soil sorption parameters: Theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*. 58, 419-445.
- Weber, W. (1989). Pesticides and similar compounds in groundwater and drinking water: tendencies in analysis from the viewpoint of chemical study arrangements. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene*. 79, 183-216.
- Weiping, L., Wei, Z., Yun, M., y Liu, K. K. (2006). Sorption and Degradation of Imidacloprid in Soil and Water. *Journal of Environmental Science & Health, Part B -- Pesticides, Food Contaminants, & Agricultural Wastes*. 41, 623-634.
- Werkheiser, W. O. y Anderson, S. J. (1996). Effect of soil properties and surfactant on primisulfuron sorption. *Journal of Environmental Quality*. 25, 809-814.
- White, J. C., Kelsey, J. W., Hatzinger, P. B., y Alexander, M. (1997). Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16, 2040-2045.
- White, R. E., Dyson, J. S., Gersti, Z., y Yaron, B. (1986). Leaching of Herbicides Through Undisturbed Cores of a Structured Clay Soil. *Soil Science Society of American Journal*. 50, 277-283.
- WHO (2004). *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard*. World Health Organization. Geneva. 56 pp.
- Williams, C. F., Agassi, M., Letey, J., Farmer, W. J., Nelson, S. D., y Ben-Hur, M. (2000). Facilitated transport of napropamide by dissolved organic matter through soil columns. *Soil Science Society of American Journal*. 64, 590-594.
- Worrall, F., Parker, A., Rae, J. E., y Johnson, A. C. (1999). A study of suspended and colloidal matter in the leachate from lysimeters and its role in pesticide transport. *Journal of Environmental Quality*. 28, 595-604.
- Zang, Y., Zhong, Y., Luo, Y., y Kong, Z. M. (2000). Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm, *Eisenia fetida*. *Environmental Pollution*. 108, 271-278.
- Zsolnay, A. y Gurlitz, H. (1994). Water extractable organic matter in arable soils: Effects of drought and long-term fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*. 26, 1257-1261.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

Dorronsoro, C. Introducción a la Edafología. <http://edafologia.ugr.es>

European Crop Protection Association. Memoria ECPA 2007. www.ecpa.eu

European Environmenta Agency. 2000. Waterbase, Eurowaternet.

www.eea.europa.eu.

EEA. 2006. What is waste? European Topic Centre on Resource and Waste Management, European Environmental Agency. <http://waste.eionet.europa.eu/waste>.

European soil bureau. <http://eusoils.jrc.it>

INE. 2006. Encuesta sobre generación de residuos y sobre reciclado y tratamiento de residuos. Instituto Nacional de Estadística. www.ine.es.

KEPOS. 2000. Impactos ambientales en la bodega. Fundación Caja Rioja. Logroño. P. 24.

OIV. 2003. Situación y estadísticas del sector vitivinícola mundial en el 2003. Organization Internacionale de la Vigne et du Vin. <http://www.oiv.int>.

PMRC. History of pest Management (<http://www.pestmanagement.co.uk/lib/history.shtml>)