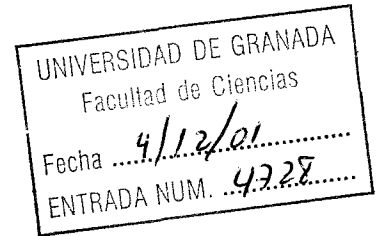


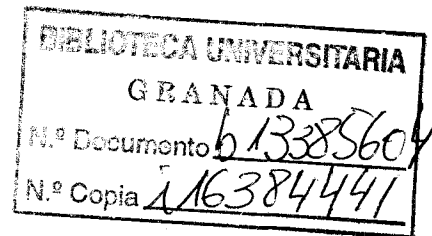
~~9. Nov. 24/108~~  
T 10/94

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR  
PLAGUICIDAS, DE LAS ZONAS NO SATURADA Y  
SATURADA DE ACUÍFEROS DETRÍTICOS, MEDIANTE EL  
EMPLEO DE LODOS TRATADOS URBANOS Y/O  
SURFACTANTES.  
ESTUDIOS DE LOS PROCESOS QUE LA RIGEN**



**Tesis Doctoral**

**M<sup>a</sup> Lourdes Sánchez Moreno**

**Granada, 2001**

**PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS, DE  
LAS ZONAS NO SATURADA Y SATURADA DE ACUÍFEROS  
DETRÍTICOS, MEDIANTE EL EMPLEO DE LODOS TRATADOS  
URBANOS Y/O SURFACTANTES.  
ESTUDIOS DE LOS PROCESOS QUE LA RIGEN**

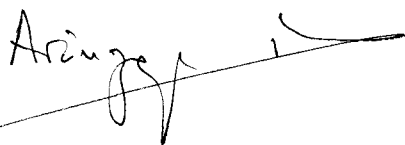
Memoria que presenta la Licenciada en Ciencias Químicas M<sup>a</sup> Lourdes Sánchez Moreno,  
para aspirar al título de doctora en Ciencias Químicas

Granada, 21 de Noviembre del 2001



Fdo. M<sup>a</sup> Lourdes Sánchez Moreno

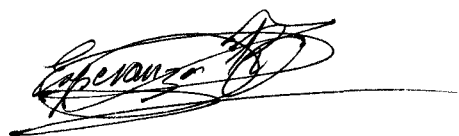
V<sup>o</sup> B<sup>o</sup> de los directores de la Tesis:



Fdo. M<sup>a</sup> Aranzazu Peña Heras

Dr. en Ciencias Químicas

Científico Titular del CSIC



Fdo. Esperanza Romero Taboada

Dr. en Ciencias Farmacéuticas



Esta Tesis doctoral ha sido realizada en el Departamento de Ciencias de la Tierra y Química Ambiental de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada.

**SUMMARY: Prevention of pesticide contamination in the vadose and non-vadose zones of detritic aquifers by adding urban sewage sludge and/or surfactants. Study of the processes involved.**

The present work deals with the behaviour of an organophosphorous insecticide, methidathion, in soil from the "Vega de Granada". Its aim was to investigate the effects on its environmental fate by the addition of amendments with relatively high organic matter content (sewage sludge) and surfactants. These effects were studied at two different research levels: laboratory and field tests. Laboratory tests included sorption, leaching, biotic/abiotic degradation and photodegradation. The results obtained with the laboratory assays were used for the field tests. Two different models were employed to simulate the experimental data from lixiviation and field experiments.

**1 Laboratory tests:**

First, to determine the presence of methidathion in aqueous or soil samples, analytical methods were optimised.

For sorption studies, among the different surfactants assayed, which included cationic, anionic and non-ionic surfactants, only TDTMA (a cationic one) elicited a significant increment of methidathion adsorption on soil. This enhancement occurred when TDTMA concentration was above its critical micellar concentration. The amendment of sewage sludge also promoted insecticide adsorption. But the greatest effect was observed when both amendments, TDTMA and sewage sludge, were combined.

The effect of the amendments on the organophosphorous insecticide mobility in the leaching experiments agreed with the adsorption results. The main retardation factors corresponded to the amendments with TDTMA and both sewage sludge and TDTMA followed by sewage sludge.

The results concerning degradation experiments (biotic, abiotic and photolitic degradation) concluded that there was not a significant effect with respect of the addition of the amendments.

**2 Field tests:**

Three field tests were conducted in field plots placed in the Vega de Granada from 1998 to 2000. The effect of the amendments as well as of irrigation were studied. Methidathion mobility in soil was monitored by analysing soil and water soil samples. For the latter, ceramic suction cup lysimeters introduced in soil at different depths were employed. In general, the addition of the amendments, under the conditions assayed, did not contribute to the leaching of methidathion to the vadose zone, which showed a greater dependence on irrigation volume. Although the lysimeters failed to work properly along the different experiments, methidathion proved to be quite an immobile pesticide and remained mostly in the first 25 cm of soil.

**3 Mathematical models:**

Finally, two mathematical models were applied to the experimental data: The PESCOL model which was used to modelize methidathion mobility in soil columns and the FOCUSPELMO 1.1.1, applied to the field results. The models predicted reasonably the experimental results encountered and helped to explain the main disagreements found between the predicted and measured data. They are a helpful tool to interpret the complicated behaviour of a pesticide in soil.

**CAPITULO I: Introducción**

<b>1 La Vega de Granada .....</b>	<b>7</b>
1.1. Antecedentes históricos .....	7
1.2. Características físicas y socioeconómicas de la Vega de Granada .....	7
1.3. Calidad de las aguas del acuífero de la Vega de Granada y en el mundo .....	8
<b>2 El uso de los insecticidas a lo largo de la historia.....</b>	<b>9</b>
2.1. Tipos de insecticidas .....	11
2.1.a. Insecticidas orgánicos .....	11
2.1.a.1 Insecticidas organoclorados (OCLs) .....	11
2.1.a.2 Insecticidas organofosforados (Ops) .....	11
2.1.a.3 Insecticidas carbámicos .....	13
2.1.a.4 Otros .....	14
2.1.b Insecticidas inorgánicos .....	15
2.1.c Bioplaguicidas .....	16
2.2. Modo de actuación .....	17
2.3 Efecto de los insecticidas sobre el medio .....	18
2.4 Estado actual y desarrollo de nuevos insecticidas .....	19
2.5 Consumo de plaguicidas .....	21
<b>3 Análisis de residuos de plaguicidas en aguas y suelos .....</b>	<b>22</b>
3.1 Toma de muestra, almacenamiento y conservación .....	23
3.2 Métodos de extracción de plaguicidas en suelos .....	25
3.2.a Extracción líquido-sólido, Soxhlet, Soxtec y Sonicación.....	25
3.3 Métodos de extracción de plaguicidas en aguas .....	26
3.3.a Extracción líquido-líquido (ELL) .....	26
3.3.b Método de extracción en fase sólida (SPE) .....	27
3.3.c SPE on-line y automática .....	29
3.3.d Microextracción en fase sólida (SPME) .....	30

3.4 Otros métodos de extracción para matrices acuosas o sólidas .....	31
3.4.a Extracción mediante fluidos supercríticos (SFE) .....	31
3.4.b Extracción asistida por microondas (MAE).....	33
3.4.c Extracción acelerada con disolventes (ASE).....	34
3.5 Métodos de concentración del disolvente.....	37
3.6 Métodos de detección .....	38
3.6.a Cromatografía de gases (CG).....	39
4 Movimiento de Plaguicidas en el suelo .....	42
4.1 Características del plaguicida.....	43
4.2 Características del suelo .....	45
4.3 Fenómenos de adsorción .....	50
4.4 Degradación de los plaguicidas en el suelo.....	51
4.4.a Degradación microbiológica.....	51
4.4.b Fotodegradación.....	53
4.4.c Degradación química.....	53
4.5 Otros factores.....	55
5 Medidas preventivas en la contaminación por plaguicidas: adición de enmendantes... .....	56
5.1 Surfactantes .....	58
5.1.a Características y tipos de surfactantes .....	61
5.1.b Modo de actuación según el tipo de surfactante empleado.....	62
5.1.c Toxicidad .....	67
5.1.d Normativas en materia de surfactantes.....	69
5.2 Lodos de depuradora .....	69
5.2.a Definición y características .....	72
5.2.b Sistema de depuración de empleado en la ciudad de Granada .....	73
5.2.c Normativas que regulan el uso de los lodos residuales.....	75
6 Modelos matemáticos .....	77

CAPITULO II: Metodología analítica

1	Introducción .....	85
2	Material y métodos.....	85
2.1	Insecticidas .....	85
2.2	Surfactantes .....	87
2.3	Otros .....	88
2.4	Condiciones Cromatográficas.....	90
2.5	Preparación de soluciones patrón .....	91
2.5.a	Patrones en disolventes orgánicos .....	91
2.5.b	Patrones en solución acuosa.....	92
2.6	Curvas de calibrado .....	92
2.6.a	Curvas concentradas: METCPI y METMEZCPI .....	92
2.6.b	Curva diluida: METDILPI .....	92
2.6.c	Curva micro: METMIPI.....	92
2.6.d	Parámetros estadísticos de las curvas empleadas .....	93
2.7	Características del suelo utilizado .....	93
2.7.a	Toma de muestra.....	94
2.7.b	Determinación de la humedad .....	94
2.7.c	Determinación de la capacidad de campo (CC) .....	94
2.7.d	Determinación del pH .....	95
2.7.e	Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) .....	95
2.7.f	Determinación del carbono orgánico total (C.O.T.) .....	95
2.8	Características de los lodos de depuradora.....	95
3	Metodología .....	98
3.1	Extracción de soluciones acuosas diluidas.....	98
3.2	Extracción de soluciones acuosas concentradas.....	98
3.3	Extracción de muestras de suelo.....	99

4 Resultados y discusión .....	100
4.1 Soluciones acuosas diluidas.....	100
4.2 Soluciones acuosas concentradas .....	102
4.2.a Extracción simultánea de metidation, malation y metilazinfos.....	
Comparación con los métodos convencionales .....	107
4.2.b Estabilidad de las soluciones acuosas concentradas de metidation	110
4.2.c Estudio de la adición de surfactantes: efecto matriz .....	113
4.3 Muestras de suelo .....	115
4.3.a Estudio de la adición de enmendantes: efecto matriz .....	117

### CAPITULO III: Ensayos de laboratorio

1 Estudios de adsorción.....	123
1.1 Material y métodos .....	123
1.1.a Metodología seguida en las cinéticas .....	124
1.1.b Metodología para la realización de las isotermas de adsorción .....	125
1.2 Resultados y discusión.....	125
1.2.a Cinéticas de adsorción .....	125
1.2.b Isotermas de adsorción. Generalidades.....	128
1.2.c Isotermas de adsorción. Resultados .....	130

### CAPITULO IV: Ensayos de degradación

1 Introducción .....	141
2 Material y métodos.....	142
2.1 Material empleado.....	142
2.2 Toma de muestra y almacenamiento.....	142
2.3 Condiciones de Incubación y aplicación del insecticida .....	142



2.4	Análisis de las muestras de suelo.....	144
2.5	Actividad deshidrogenasa .....	144
2.6	Ecuaciones para el ajuste de los datos experimentales.....	144
3	Resultados y discusión .....	145
3.1	Degradación en el suelo en le perfil del suelo .....	145
3.1.a	Ajuste a la ecuación exponencial de primer orden .....	146
3.2	Efecto de los enmendantes .....	147
3.2.a	Ajuste de los datos a ecuaciones matemáticas.....	151

CAPITULO V: Fotodegradación

1	Introducción .....	157
2	Material y métodos.....	158
2.1	Material empleado.....	158
2.2	Preparación de las muestras.....	158
2.3	Análisis de las muestras.....	160
2.4	Determinación de los productos por CG-MS .....	160
2.5	Obtención de los espectros de adsorción UV-visible de metidation y TDTMA.....	161
3	Resultados y discusión .....	161
3.1	Efecto de los enmendantes .....	161
3.2	Identificación de los fotoproductos.....	166

CAPITULO VI: Lixiviación

1	Introducción .....	177
2	Material y métodos.....	177
2.1	Material empleado.....	177

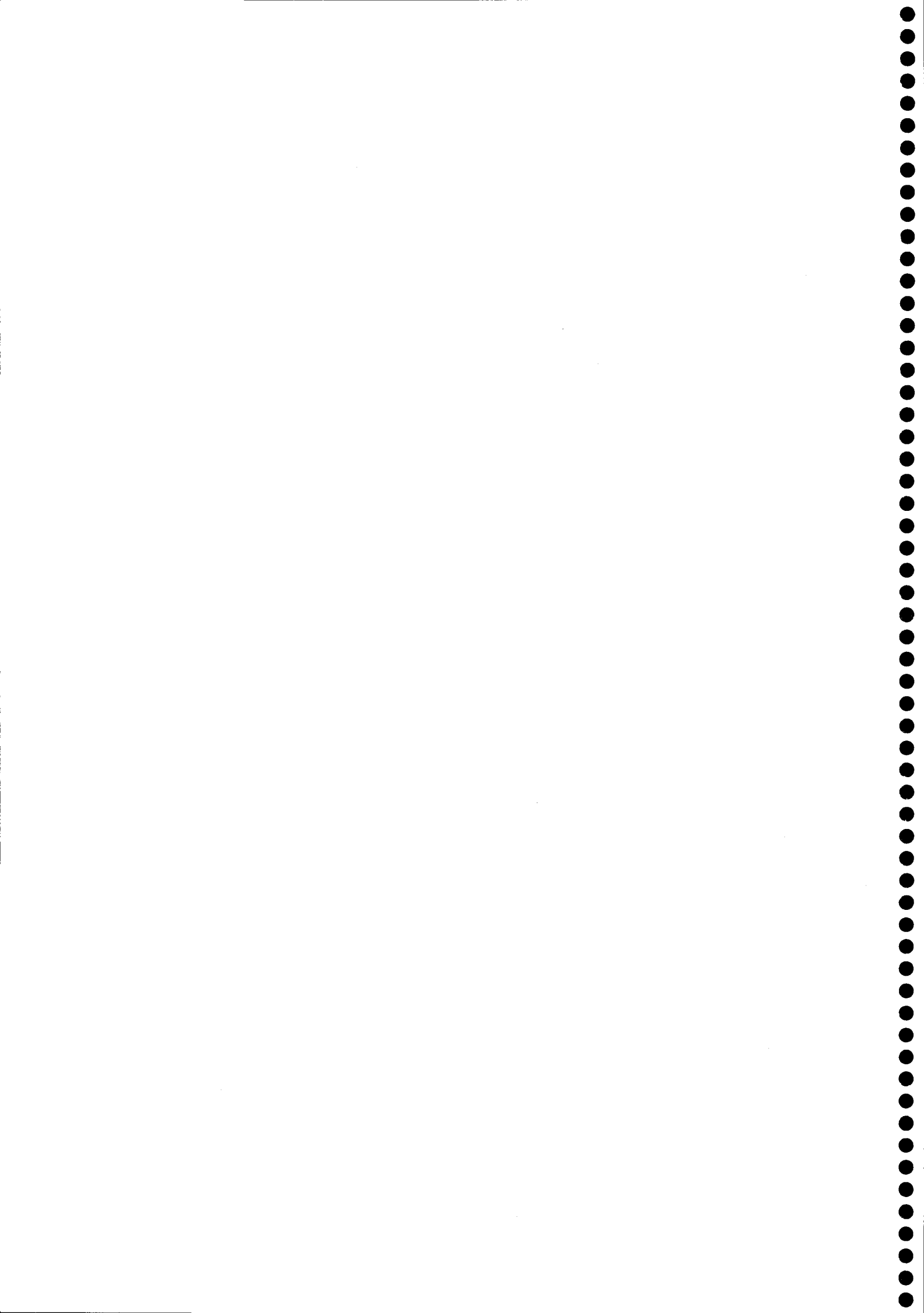
2.2 Preparación de las columnas .....	178
2.3 Aplicación del insecticida y del trazador .....	180
2.4 Recogida y análisis de las muestras.....	180
2.5 Ensayos de estabilidad y/o adsorción al material .....	180
2.6 Aplicación del modelo de lixiviación.....	181
3 Resultados y discusión .....	181
3.1 Características de las columnas.....	181
3.2 Lixiviación del trazador .....	182
3.3 Lixiviación de metidation. Efecto de los enmendantes.....	186
3.4 Modelización del transporte con el modelo PESCOL .....	194
CAPITULO VII: Ensayos de campo	
1 Introducción .....	199
2 Material y métodos.....	200
2.1 Parcela experimental.....	200
2.2 Tratamiento con metidation, adición de los enmendantes .....	201
2.3 Irrigación aplicada y condiciones metereológicas .....	202
2.4 Toma de muestra .....	204
2.5 Métodos de análisis.....	205
2.6 Aplicación del modelo FOCUSPELMO .....	206
3 Resultados y discusión .....	207
3.1 Rendimiento de los hidrocaptoreos .....	207
3.2 Efecto de los enmendantes en la lixiviación de metidation .....	211
3.3 Efecto de los enmendantes en la persistencia de metidation en el suelo ...	220
3.4 Simulación del comportamiento de metidation con el modelo .....	
FOCUSPELMO 111 .....	224
3.4.a Resultados en el suelo .....	227

3.4.b Resultados en los lixiviados.....	233
Conclusiones .....	243
Bibliografía.....	249
Abreviaturas.....	303



# **Capítulo I:**

## **Introducción**



La contaminación de las fuentes de agua potable constituye una seria amenaza para la salud humana, y la de animales y plantas. Debido a los problemas de sequía actuales, cada vez se hace más necesario el uso de aguas profundas para consumo.

La provincia de Granada cuenta con uno de los acuíferos más importantes de Andalucía. Se encuentra situado en la Vega de Granada, en una zona de uso eminentemente agrícola. Por tanto, una de las consecuencias derivadas de las prácticas agrícolas es el uso de plaguicidas, para conseguir cosechas elevadas en calidad y en cantidad. Debido a esto, el acuífero que subyace se encuentra en un peligro potencial de contaminación por estas sustancias, y a su vez la población que se abastece de agua potable se encontraría sometida a este riesgo.

Los problemas que se derivarían de una posible contaminación son de difícil solución, y aunque hoy en día existen muchos estudios encaminados a resolverlos, las medidas preventivas suponen la mejor alternativa. El riesgo potencial de contaminación de los reservorios de aguas por plaguicidas puede reducirse considerablemente si se tienen en cuenta las siguientes precauciones en su utilización:

- Prevenir la aparición de plagas.
- Usar agroquímicos sólo cuando sea necesario.
- Tener en cuenta consideraciones medioambientales a la hora de aplicar el plaguicida.
- El uso de prácticas de mantenimiento que reduce las pérdidas de plaguicidas.

Este estudio está enfocado desde el punto de vista de la prevención de la contaminación que el uso de fitoquímicos pudiera producir durante las prácticas agrícolas. Se ha intentado encontrar una solución de compromiso, que pueda unir la aplicación de fitosanitarios junto con otras sustancias, para prevenir la contaminación de las aguas subterráneas. Las sustancias a las que me refiero, son por un lado surfactantes y por el otro lodos urbanos de depuradoras.

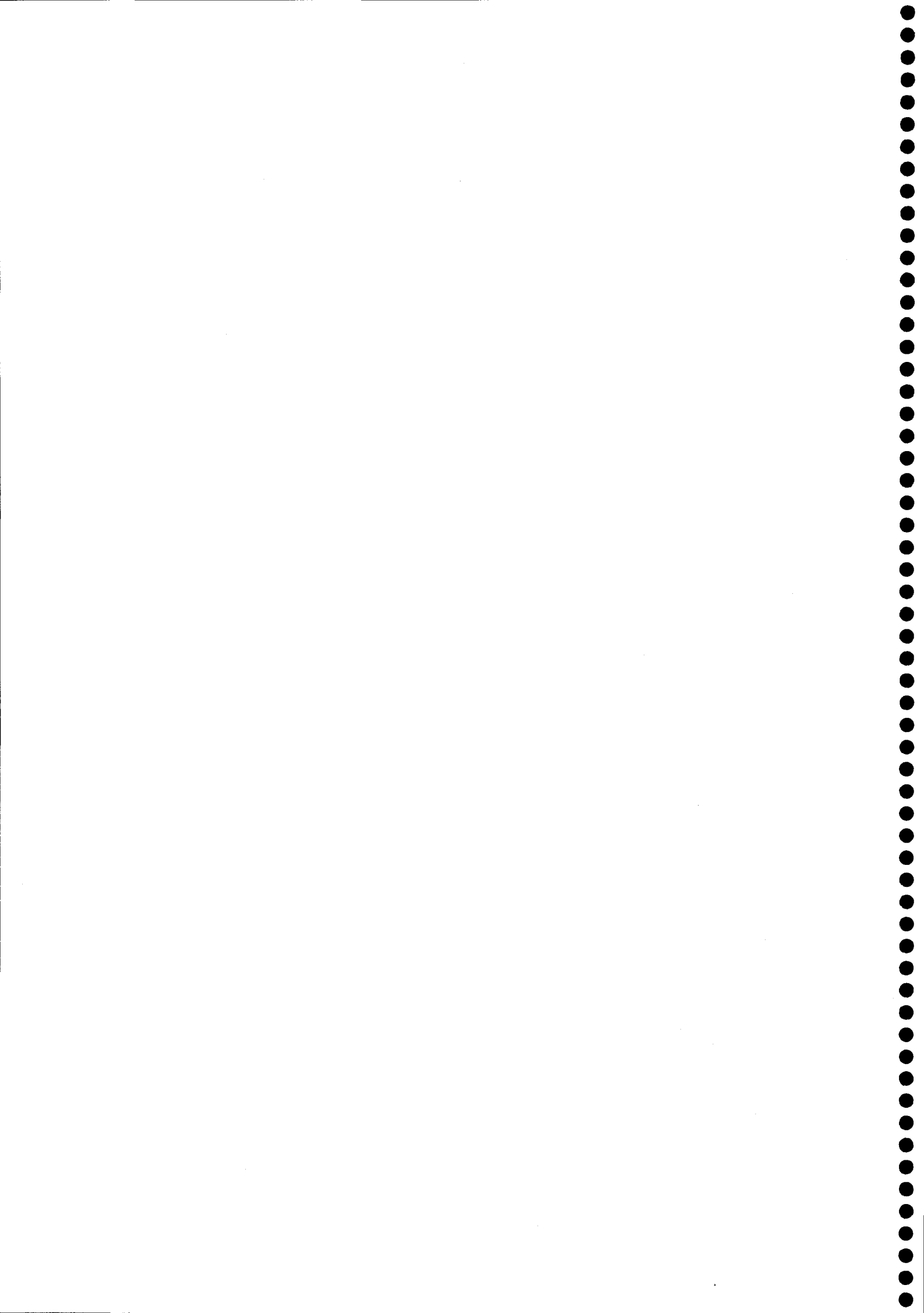


## OBJETIVOS

Para el presente estudio se ha seleccionado un insecticida organofosforado (metidation), por ser este grupo de plaguicidas uno de los más utilizados en la actualidad en las prácticas agrícolas.

Los objetivos del trabajo han sido:

1. Poner a punto la metodología analítica necesaria para la determinación del insecticida en estudio en varios tipos de matrices ambientales (agua y suelo), a distintas concentraciones.
2. Estudiar la adsorción del plaguicida en un suelo de la Vega de Granada así como las modificaciones que en dicho proceso podían inducir la adición de lodos de depuradora y tres tipos de surfactantes.
3. Analizar las distintas formas de degradación del plaguicida (microbiológica, química y por fotodegradación) en el suelo anteriormente citado, enmendado y sin enmendar.
4. Estudiar la movilidad de metidation en columnas empaquetadas con suelo de la Vega, enmendado y sin enmendar, con los elementos que modificaron su comportamiento de adsorción.
5. Realización de ensayos de campo, con enmienda y sin ella, para comprobar si se modifica el desplazamiento del insecticida hacia el acuífero.
6. Aplicar modelos matemáticos que expliquen el movimiento del plaguicida en el perfil del suelo, tanto en los experimentos realizados en el laboratorio como en los ensayos de campo.





# 1 La Vega de Granada

## 1.1 Antecedentes históricos

Hace miles de años la Vega de Granada era una densa zona boscosa, donde se practicaba la caza, y con extensas zonas de marjalería inundadas. La mayor transformación física se debió a la aparición de la agricultura y la ganadería.

Durante la ocupación musulmana se diseñó probablemente el actual sistema de regadío por acequias, que riegan casi toda la Vega de Granada y que derivan de los principales cursos de agua superficial. Existen pocos datos de la utilización del agua en civilizaciones anteriores, aunque se conservan restos de las obras hidráulicas de época romana e incluso íbera.

Hasta la segunda mitad del siglo XX, no se produjeron cambios significativos en la explotación del acuífero. Estos cambios supusieron la creación de pozos de gran diámetro a lo largo del cauce del río Genil, aunque la explotación del acuífero seguía siendo mínima. En años posteriores se siguieron construyendo pozos en la Vega Baja, conservándose en la actualidad más de un millar de este tipo de sondeos.

A partir de los años 60 la agricultura de la Vega de Granada sufre un nuevo empuje, que se ve reflejado en la realización de grandes sondeos, y además se profundizan algunos de los ya existentes. Es en el último cuarto de siglo es cuando se construyen los embalses de Quéntar (1973) y Canales (1988), que recogen una parte importante de las aguas de deshielo.

## 1.2 Características físicas y socioeconómicas de la Vega de Granada

El área de la Vega de Granada corresponde a una vasta llanura aluvial que se extiende a ambos márgenes del río Genil, entre las poblaciones de Cenes de la Vega, al Este, y de Láchar al Oeste.

Los materiales que la forman son los depósitos aluviales del río Genil y de sus afluentes de cabecera, los ríos Dílar, Monachil, Darro, Cubillas y Velillos. Sus dimensiones son de 22 Km de longitud (en sentido Este-Oeste) por unos 8 Km de anchura, con espesores superiores a 250 m en el sector central (Castillo, 1986).

El acuífero detrítico de la Vega de Granada cuenta con unos recursos hídricos de 180 hm<sup>3</sup> a<sup>-1</sup> y unas reservas explotables de 1.000 hm<sup>3</sup>. La explotación neta todavía no alcanza el 50 % de los recursos renovables, y el excedente escapa del sistema a través de emergencias. La pluviometría y temperatura medias anuales del área son de 450 mm y 15 °C, respectivamente (Castillo, 1995).

En la actualidad existen una treintena de poblaciones, incluida Granada capital, en la que se concentra una población estable de 400.000 habitantes. Alrededor de 40.000 personas

dependen exclusivamente del abastecimiento de aguas subterráneas, aunque está previsto realizar una explotación de unos  $600 \text{ L s}^{-1}$  para el abastecimiento de emergencia a la ciudad de Granada.

Por otro lado, existe una intensa explotación agrícola que abarca una superficie de regadío de más de 15.000 ha. Los cultivos más extendidos corresponden a cereal, choperas, hortalizas, maíz y tabaco. Esta zona corresponde al 95 % de la superficie del acuífero, y en ella el espesor no saturado es inferior a 25 m en más de la mitad de su extensión.

### 1.3 Calidad de las aguas subterráneas en la Vega de Granada, y en el mundo

Las aguas del acuífero proceden en más de un 70 % de la infiltración de escorrentías del deshielo de Sierra Nevada, hecho que condiciona que los sectores de mejor calidad se localicen en la cabecera del acuífero (área Suroriental) y bajo la cabecera del río Genil.

Existen focos puntuales de contaminación salina y de contaminación por nitratos (Castillo, 1995), esta última debida al empleo de fertilizantes agrícolas. Las aguas más salinas se localizan en los sectores de Sierra Elvira-Alitaje, Aeropuerto-Romilla-Láchar y Maracena-Pulianas.

En cuanto a la contaminación por plaguicidas, que es el tema que nos ocupa, estudios realizados en la década de los 80, mostraban contaminaciones por plaguicidas organoclorados (OCIs). Los resultados del trabajo realizado por Acuña en 1981, sobre la contaminación por plaguicidas OCIs, indicaron una contaminación por compuestos de este tipo. En un estudio posterior del año 1983 (Augustin, 1983) sobre la contaminación por plaguicidas de las aguas superficiales y suelos de cultivo de la provincia de Granada, se encuentran también importantes contaminaciones por plaguicidas OCIs en la Vega. Los plaguicidas OCIs presentan una elevada persistencia y hoy en día su uso se halla muy restringido o prohibido.

En un estudio realizado en aguas de la zona saturada del acuífero entre los años 1993 y 1994 (de la Colina, 1996), sólo se encontraron 10 contaminaciones cercanas o superiores al nivel establecido por la U.E., siendo la contaminación más importante encontrada por su extensión la debida a *captan*. Este plaguicida es un fungicida relativamente polar y de baja solubilidad en agua, y se encontró después de una época de lluvias, por lo que probablemente se empleó para prevenir posibles ataques favorecidos por la humedad. También se detectaron contaminaciones puntuales y esporádicas por el herbicida triazínico *triazina*, durante los meses de verano. Por tanto, la ausencia de contaminaciones en los trabajos realizados recientemente hace resaltar el poder de depuración de la franja no saturada.

Sin embargo hay que tener en cuenta que la contaminación del acuífero depende de factores externos y no controlables como, el aporte de hídrico que recibe el acuífero y de la cantidad de riego que se aplique en las prácticas agrícolas. El riesgo de contaminación puede ser mayor en estos casos, por lo que los estudios de prevención son importantes

para conservar la calidad de las aguas de este acuífero del que, como ya se ha mencionado, se abastece un número importante de habitantes.

Aunque en el acuífero de la Vega no son importantes las contaminaciones por plaguicidas de las aguas subterráneas, esto no implica que en otras regiones no se den casos de contaminaciones de mayor importancia (Sánchez-Camazano y col., 1995). Tal es el caso de zonas de agricultura intensiva como Almería, donde se han encontrado concentraciones por encima del valor máximo permitido de atrazina ( $2,7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y metiocarb ( $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Parrilla y col., 1993), y de varios insecticidas carbámicos (Chiron y col., 1995) e incluso organofosforados (OPs) como malation y metidation (Garrido y col., 2001).

En países europeos como Holanda, Dijk y Haan (1997) citan la existencia de contaminaciones por cincuenta y nueve plaguicidas distintos en las aguas subterráneas, con valores de concentración entre  $0,01$  y  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$  existiendo referencias sobre la presencia de contaminación en Francia (Legrand y col., 1991), Grecia (Papastergiou y Papadopoulou-Mourkidou, 2001) y en otros países del Este europeo (Leistra y Boesten, 1989). En Inglaterra en el año 1993 se detectaron en aguas subterráneas un total de 18 plaguicidas o metabolitos en concentraciones superiores al nivel máximo permitido ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Carter y Heather, 1995).

En Estados Unidos, ya en 1962 Carson habla en su libro "Silent Spring" de la contaminación por plaguicidas en aguas superficiales y profundas. Existen diversas referencias que citan la presencia de este tipo de contaminación en aguas subterráneas en el estado de Washington (Bouwer, 1990; Cohen, 1990; Pignatello y Cohen, 1990; Washington Toxics Coalition and Cooperative Extension-Washington State University, 1994), y en otras zonas del país (Hallberg, 1989). Aldicarb (un insecticida), alacloro y atrazina (herbicidas), son los tres plaguicidas más encontrados en aguas subterráneas de este país (Detroy y col., 1988; Thurman y col., 1991; Squillace y col., 1993; Pimentel y Greiner, 1997).

El incremento de la detección de plaguicidas en las aguas subterráneas se puede atribuir a tres causas fundamentalmente: a la sustitución de plaguicidas muy persistentes y a su vez con alto grado de adsorción al suelo por otros más fácilmente degradables pero que poseen una mayor capacidad de lixiviación; un aumento del uso de plaguicidas en la agricultura; y a la mejora en la sensibilidad de los métodos de análisis, que permiten determinar cada vez concentraciones más bajas de los mismos (Steenhuis y col., 1990).

## **2 El uso los insecticidas a lo largo de la historia**

El elevado crecimiento que ha experimentado la población mundial en los últimos siglos, ha hecho que el hombre busque en la Ciencia la forma de aumentar la producción agrícola para solucionar los problemas de alimentación.

En la actualidad la población mundial supera los 6 billones de habitantes. Una de las previsiones de crecimiento más pesimistas indican que cada segundo nacerán cinco

personas y morirán dos. A este ritmo de crecimiento, cada 40 años se duplicaría el número de habitantes, de forma que para el año 2040 se alcanzaría la cifra de 12 billones de personas en el planeta Tierra. Otras previsiones más optimistas indican un crecimiento de la población más moderado en el que el número de habitantes para el año 2050 se estima en 9 billones (<http://www.census.gov/ipc/www/img/worldpop.gif>).

Aunque algunos autores (Pinstруп y col., 1996) consideran que las técnicas actuales de producción no serán suficientes para abastecer a la población mundial en el futuro, el uso entre otros de los plaguicidas contribuye a paliar en parte el problema, con la eliminación de diversas plagas en los cultivos. Hay que tener en cuenta que las especies vegetales aportan entre un 80 y un 90 por 100 de las calorías necesarias en la dieta humana, pero además las especies animales que el hombre utiliza para su alimentación precisan también de pastos y piensos vegetales.

Existen alrededor de 10.000 especies de insectos capaces de producir daños a las cosechas durante su cultivo o en el proceso de almacenamiento. De entre este número de especies sólo aproximadamente 700 son las causantes de los mayores daños en todo el mundo (Ross y Lembi, 1985; <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>). En la actualidad, en países como los Estados Unidos, las pérdidas debidas a las plagas afectan al 37% de los cultivos (Pimentel, 1991; Oerke y col., 1994), y los plaguicidas permiten salvar el 10 % (Wood, 1996). El descubrimiento y la utilización de los insecticidas de síntesis química fue un paso decisivo en la protección vegetal, que contribuyó al desarrollo de la agricultura moderna y permitió alcanzar las cifras actuales de producción de alimentos (Escríche y col., 2001). Una de las primeras armas que utilizó el hombre para combatir las plagas fue el uso de compuestos químicos. Ya en el año 2500 A.C. existen datos del uso de azufre por los Sumerios para el control de insectos y arañas. En China en el año 1200 A.C. se usaba mercurio y arsénico para el control de los piojos, y Homero describió en la Odisea como la fumigación de las casas con azufre quemado controlaba la presencia de insectos (Flint y van den Bosch, 1977) .

Plinio el Viejo entre los años 23 y 79 de nuestra era ya recogía en su libro Historia Natural los insecticidas usados hasta entonces, incluido el uso de limaduras de lagarto verde para proteger las manzanas de los gusanos y la putrefacción (Edwards, 2000; <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>).

A principios del siglo XX, era común el uso de arseniatos de plomo y cobre para el control de las plagas de insectos, y también apareció el primer herbicida selectivo usado en el control de las malas hierbas (sulfato de hierro) (Edwards, 1983; <http://www.pestmanagement.co.uk./culture/history.htm>).

Pero no es hasta la década de los 30, cuando se introdujeron los primeros compuestos orgánicos de síntesis para el control de plagas en los cultivos, siendo el DDT uno de los más utilizados. Los insecticidas sintéticos orgánicos sirvieron durante los años cincuenta como herramienta de control de vectores de enfermedades humanas y animales, además de evitar importantes pérdidas en la producción de alimentos.

Tras el descubrimiento de la acción insecticida del DDT, aparecen en el mercado los organoclorados (OCIs), siendo descritas sus propiedades por Slade (1945) y por Dupiere y Raucourt (1942). En los sesenta se desarrollaron la mayoría de los insecticidas organofosforados (OPs) (Schrader, 1963), siendo unos de los más usados en los setenta, junto con los insecticidas OCIs. Los insecticidas carbámicos fueron otra de las familias de insecticidas que se desarrollaron a la par que los ésteres del ácido fosfórico (Haynes y col., 1957).

## 2.1 Tipos de insecticidas

### 2.1.a Insecticidas orgánicos

#### 2.1.a.1 Insecticidas organoclorados (OCIs)

Estos insecticidas se usaron de forma muy amplia en los 25 años posteriores a la Segunda Guerra Mundial, hasta que en el año 1973 la Agencia de Protección Medioambiental norteamericana (EPA) prohibió su uso, al ser un grupo de agroquímicos muy persistentes en suelo y aguas, y de presentar una alta toxicidad. Todos se caracterizan por contener átomos de cloro en su molécula.

A este grupo pertenecen entre otros, los bifenilos alifáticos como *DDT*, *DDD* y *metoxicloro*. El DDT es probablemente uno de los insecticidas mejor conocidos y más importantes del siglo XX (Figura I-2), sirvió para el control de un gran número de plagas muchas de ellas vectores de enfermedades, y en la actualidad se sigue usando en algunos países en vías de desarrollo.

*Lindano* o *γ-hexaclorociclohexano*, es otro de los insecticidas que pertenecen a este grupo, además de los ciclodienos como *aldrín* y *dieldrín* y policloroterpenos como el *toxafeno*.

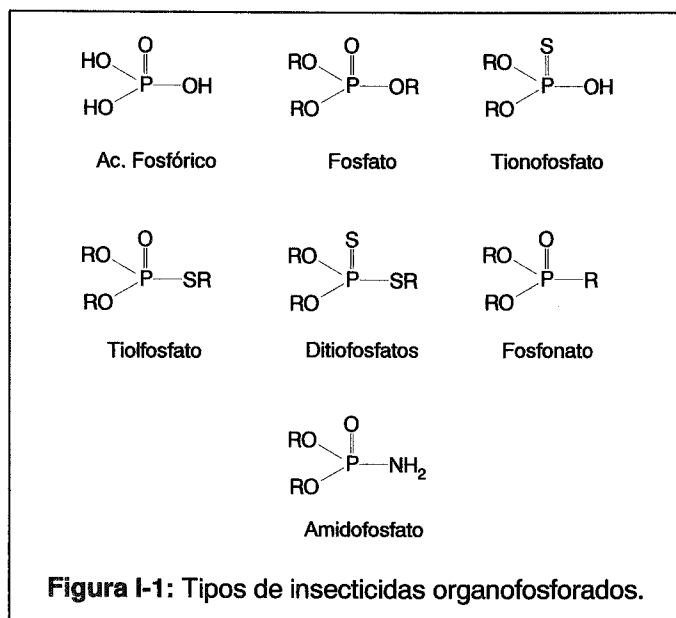
El impacto medioambiental de estos plaguicidas ha sido considerable (Eichelberger y Lichtenberg, 1971; Bagnati y col., 1988; Hinckley y Bidleman, 1989; Lenardon y col., 1993), y aún se pueden encontrar residuos de estos plaguicidas en muchas zonas del planeta debido a su elevada persistencia (Wells, 1994; Hernández y col., 1996; Johnson y col., 1996).

#### 2.1.a.2 Insecticidas organofosforados (OPs)

El desarrollo de los insecticidas OPs tuvo lugar a partir de los denominados "gases nerviosos" (tabun, sarin, soman), utilizados durante la Segunda Guerra Mundial. Bajo este nombre genérico se denomina a todos aquellos insecticidas que presentan un átomo de fósforo en su estructura, y derivan del ácido fosfórico (Figura I-1).

La sustitución de los grupos —OH por grupos —OR (donde R es un radical orgánico) origina los ésteres del ácido fosfórico o fosfatos. La sustitución del enlace P=O por el enlace P=S da lugar a los denominados tionofosfatos, la de un grupo —OR por —SR a los tioletfosfatos, y la de ambos grupos a la vez a los ditiofosfatos. La sustitución de —OR

por un radical orgánico —R origina fosfonatos, y la de un grupo —OH por grupos —NH<sub>2</sub> amidas del ácido fosfórico.



Se dividen en tres grupos: alifáticos, fenólicos y derivados heterocíclicos. Los derivados alifáticos presentan en su estructura una cadena carbonada y en este grupo nos encontramos con compuestos tales como: *malation*, *dimetoato* o *acefato*. Los fenólicos presentan un anillo fenólico en su estructura y ejemplos de este tipo son *paration* o *fenitrothion*. Dentro del grupo de los heterocíclicos tenemos a compuestos como *diazinon*, *metil azinfos* o *metidation*.

Aunque la mayoría de estos plaguicidas son menos persistentes que los OCIs, muchos de ellos presentan una elevada toxicidad sobre los mamíferos y un alto potencial para matar pájaros, peces y otros animales salvajes. Algunas veces pueden producir problemas medioambientales locales sobre todo en la contaminación de aguas (Rechcigl y col., 2000).

Se han encontrado referencias de contaminaciones en aguas de ríos canadienses (Braun y Frank, 1980; Frank y Logan, 1988) y en pozos y charcas de granjas (Frank y col., 1990a; Frank y col., 1990b).

Aston y Seiber, (1997) estudian la presencia de dos plaguicidas OPs (*metidation* y *clorpirifos*) en el valle de las montañas de Sierra Nevada (California), hallándose residuos de ambos tanto en el aire como en agujas de pino. Las cantidades de ambos se estimaron en aproximadamente la mitad del total aplicado en la región, de uso predominantemente agrícola.

Hernández y col. (1996) detectan que la presencia de *metidation* es frecuente en aguas superficiales de la Comunidad Valenciana, con valores superiores a la concentración máxima permitida (0,1 µg L<sup>-1</sup>). Garrido y col. (2001) en un estudio de la contaminación por

plaguicidas en aguas superficiales y subterráneas, detectan la presencia de residuos de metidation y malation, entre otros. Coscollá y Gamón (2001) detectan residuos de metidation en cítricos, en valores superiores a los límites máximos de residuos (LMR). Fernández-Alba y col. (2001) citan el metidation como uno de los plaguicidas más habitualmente empleados en Almería, y cuyos residuos se han seguido entre los años 1998 y 2000.

Los plaguicidas OPs tienen un elevado uso como insecticidas para distintos tipos de cultivos como el arroz (Lacorte y col., 1995), y se emplean para la eliminación de crustáceos (Lacorte y Barceló, 1994), mosca de la fruta (Brown y col., 1993) y mosquitos (Lores y col., 1985; Wang y col., 1987).

### 2.1.a.3 Insecticidas carbámicos

Derivan del ácido carbámico, y el primer insecticida de este grupo fue el *carbaril* (1956) (Figura I-2). Son más persistentes que los OPs en suelo, pero en general menos tóxicos para los mamíferos por consumo oral o por contacto y tienen un amplio espectro de actuación en el control de insectos. Varios insecticidas de este grupo presentan un alto impacto medioambiental, sobre todo en suelo, ya que afectan a nematodos, lombrices y artrópodos.

Insecticidas pertenecientes a este grupo son, *carbofurano*, *aldicarb* o *fenoxycarb*.

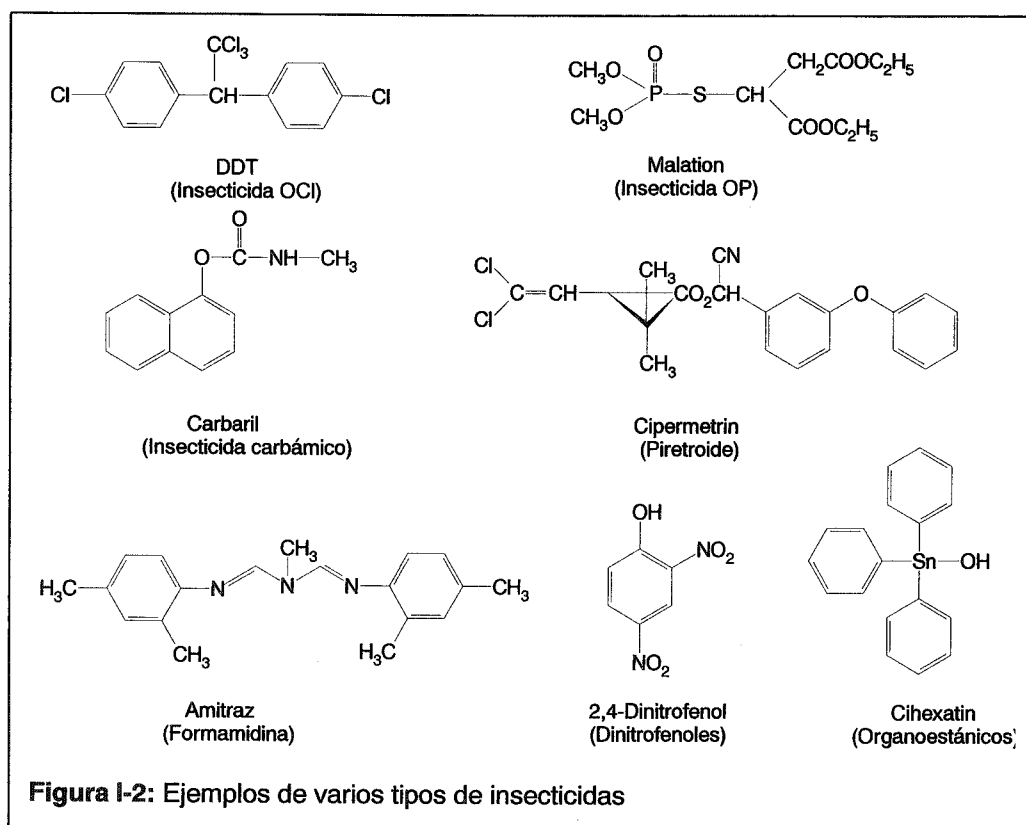
Tabla I-1: Principales grupos de insecticidas y características toxicológicas y medioambientales.

COMPUESTO	TOXICIDAD	DEGRADACIÓN	CENTRO de Actuación
Organofosforados	Baja	Variable	AChE
Carbámicos	Baja	Rápida	AChE
Organoclorados	Alta	Muy lenta	Canales Sodio y GABA
Piretroides	Baja	Alta	GABA

### 2.1.a.4 Otros

Los piretroides, son un grupo de insecticidas sintéticos de baja toxicidad a mamíferos y persistentes. Están relacionados estructuralmente con las piretrinas de origen vegetal, son efectivos a bajas dosis y tienen un amplio rango de actuación. Su mayor problema medioambiental es debido a su amplio espectro de actuación, que hace que sean muy tóxicos para los organismos acuáticos. A este grupo pertenecen insecticidas como *deltametrin*, *cipermetrin* o *esfenvalerato* (Figura I-2).

Las formamidinas, comprenden un pequeño grupo de insecticidas entre los que encontramos a *fundazol*, o *amitraz*. Se utilizan en el control de plagas resistentes a los insecticidas OPs o carbámicos.



El dinitrofenol, pertenece al grupo de los dinitrofenoles, y tiene propiedades como herbicida, insecticida, ovidora y fungicida. *Binat* y *dinocap* son dos insecticidas pertenecientes a este grupo, y se han usado como fungicidas.

Los organoestánicos, son un grupo de insecticidas con acción acaricida y fungicida. Pertenecen a este grupo compuestos tales como el *Plictran* (*r*), *Vendes* (*r*) y *cihexatin*. Presentan el mismo modo de actuación que los dinitrofenoles.

Existen otros grupos menos conocidos como el de las espinosinas, pirroles, piridazinonas, quinazolinonas o benzoilureas, en los que el número de insecticidas que lo componen es mucho menor.



También existen otros grupos que se clasifican por su forma de actuación. Entre ellos podemos destacar a los denominados activadores. Por sí solos no se consideran insecticidas, pero se usan como activadores o para aumentar la actividad de los insecticidas. El primero se introdujo en 1940 para incrementar la actividad de la piretrina. Desde entonces han aparecido muchos otros materiales que se utilizan sobre todo para el control de plagas domésticas. Entre otras podemos encontrar sustancias tales como *butóxido de piperonilo*, molécula que se encontró en el aceite de sésamo y a la que posteriormente se denominó *sesamin*.

Los reguladores del crecimiento, son aquellos insecticidas causantes de la muerte de los insectos por interferencia en los procesos que regulan su crecimiento. Entre otras sustancias nos encontramos con *diflubenzuron* (utilizado contra las larvas de lepidópteros y mosquitos, entre otros) o *methofrene* (control del mosquito) (Graft, 1993). Estos insecticidas presentan una baja toxicidad en mamíferos y poca sobre otros vertebrados, suelo o agua.

Dentro del grupo de los antibióticos, nos encontramos a las *avermectinas*, que tienen propiedades acaricidas, insecticidas y antihelmínticas, y fueron aisladas de los productos de fermentación de *Streptomyces avermitilis* perteneciente a la familia de los actinomicetos. Se utilizan en el control de pequeñas arañas, parásitos internos de animales domésticos y en otras plagas difíciles de controlar en los invernaderos (Meinke, 1994).

Los fumigantes, son moléculas orgánicas pequeñas y volátiles que se transforman en gases a temperaturas por encima de los 5 °C (40 °F), y que tienen en su molécula uno o más átomos de halógenos (Cl, Br o F). Se usan como insecticidas, para eliminar huevos de insectos y microorganismos en edificios, ascensores, suelos, invernaderos y en productos envasados como frutos secos o cereales. Algunos de los fumigantes más comunes son *dicloroetileno*, *óxido de etileno* y el *bromuro de metilo*.

Por último podríamos citar a los denominados repelentes de insectos. Históricamente se han utilizado como repelentes el humo, plantas colgadas, mezclas de plantas o aceites e incluso de tierras. Actualmente los repelentes son sustancias como *dimetilftalato*, *N-butil acetanilina*, o *dimetilcarbarnato*.

### 2.1.b Insecticidas inorgánicos

Se trata de aquellos compuestos químicos que no contienen átomos de carbono en su molécula. Generalmente se trata de sales cristalizadas, estables, solubles en agua y que no sufren evaporación.

El azufre es el insecticida inorgánico más conocido desde la antigüedad y aún se sigue usando en la actualidad. El polvo de azufre es especialmente tóxico para los ácaros, arañas y también se usa como fungicida.

Otros compuestos inorgánicos usados como insecticidas son *mercurio*, *talio*, *arsénico*, *antimonio*, *selenio*, *ácido bórico* y varios *fluoruros inorgánicos*.

El último grupo de insecticidas inorgánicos lo forman los *geles o aereogeles de sílice*, tienen mayoritariamente un uso doméstico, y actúan absorbiendo las ceras de la cutícula de los insectos lo que hace que se deshidraten lentamente hasta la muerte.

### 2.1.c Bioplaguicidas

Los bioplaguicidas o plaguicidas biológicos son aquéllos que se obtienen de la naturaleza, ya sea de animales, plantas, bacterias, y se utilizan para el control de las plagas que afectan a los cultivos.

En los países desarrollados se ha prestado gran atención a este tipo de compuestos, ya que se consideran como una forma de reducir el uso de los plaguicidas de origen sintético. Los países en vías de desarrollo, ven en ellos una alternativa a la importación de productos químicos para combatir las plagas. En la actualidad representan sólo el 1,3 % del mercado de los plaguicidas (Hall y Menn, 1999), aunque se espera que su consumo aumente en un futuro.

A su vez se dividen en cuatro grupos principales (Libman y Macintosh, 2000):

- Insecticidas de origen botánico. Son insecticidas naturales que se obtienen de las plantas, entre los que se encuentran controladores de plagas como el *piretro* (extraído de las flores del crisantemo) y la *rotenona* (producido por las plantas leguminosas). La *nicotina*, que se extrae de la planta del tabaco y el *limonen* extraído de la piel del limón, son otros de los compuestos pertenecientes a este grupo. El piretro es el más importante de los insecticidas botánicos, y su estructura ha servido de base para la síntesis de una amplia variedad de insecticidas piretroides que han reemplazado al DDT y otros insecticidas clorados en el control de plagas. Las ventajas de este grupo de compuestos son por un lado su bajo riesgo medioambiental, y por el otro su amplio espectro.
- Plaguicidas microbiológicos: son aquéllos en los que el ingrediente activo es un microorganismo, que puede ser una bacteria, hongo, virus o protozoo. Se utilizan para el control de una amplia variedad de plagas, aunque son muy específicos. Los más conocidos y utilizados son las subespecies de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, bacteria del suelo que acumula de un modo natural la proteína Bt, que es transformada de una forma tóxica para el insecto (Escriche y col., 2001).
- Mediadores químicos: son aquellas sustancias capaces de controlar la plaga sin ejercer ningún mecanismo tóxico. A este grupo pertenecen sustancias tales como las *feromonas* (sexuales, de agregación, de oviposición...), las *kairomonas* o las *alomonas* (Hummel y Miller, 1984; Hardie y Minks, 1999), que son capaces de atraer a los insectos para que sean eliminados posteriormente.
- Plantas transgénicas. Nos referimos a aquéllas modificadas genéticamente, y que son capaces de fabricar sustancias contra una plaga determinada. El ejemplo más conocido son las plantas en las que se ha introducido la proteína Bt de *Bacillus*

*thuringiensis*, o plantas resistentes a herbicidas (soja resistente a Roundup, *glifosato*, y colza resistente a Basta, *fosfinotricina*).

El problema de alimentación que conlleva el constante crecimiento de la población humana ha hecho que muchos consideren que la genética vegetal puede ser la solución, teniendo como objetivo la consecución de especies altamente productivas y resistentes a plagas y enfermedades, en lo que se ha denominado la Tercera Revolución Verde (García Olmedo, 1998).

Se espera que la nueva generación de plantas transgénicas necesiten menos cantidad de agroquímicos, a la vez que la investigación se dirige a la obtención de productos cada día más compatibles con el medioambiente. Sin embargo el uso de las plantas transgénicas presenta numerosos problemas que hacen que existan muchos detractores en contra de su uso, por varios motivos:

- Como consecuencia de la introducción de las nuevas especies, se produce un desplazamiento de las variedades autóctonas, que puede conducir a su desaparición.
- La introducción de genes ajenos puede producir problemas de alergia entre los consumidores.
- La dispersión incontrolada puede afectar a la descendencia de la planta.
- Transferencia de genes introducidos en una especie a otras.
- Inducción de resistencia de los patógenos y plagas que se quieren controlar.

Algunos autores hablan de la necesidad de una revolución doblemente verde (Manichon, 1996), en la que se puedan combinar los avances en biotecnología con un sistema de cultivos adaptado y sostenible a las necesidades de alimentación de la población mundial en los próximos años.

## 2.2 Modo de actuación

Los 20 insecticidas más importantes en el mundo tienen como blanco de actuación al sistema nervioso. El 62% inhibe la acetilcolinesterasa (AChE), como es el caso de los plaguicidas OPs y metilcarbamatos; un 24% actúa sobre los canales de sodio dependientes del voltaje y cloruro dependientes de GABA (ácido gamma amino butírico), y un 2% centra su acción en los receptores nicotínicos de la acetilcolina (nAChR). El 12% de los insecticidas restantes corresponde a compuestos con una gran variedad de modos de acción.

La aparición de los plaguicidas OPs supuso un cambio radical en los programas de actuación y control de insectos, y en la actualidad son una de las familias de plaguicidas más estudiadas debido al conocimiento que se tiene de la estructura y funcionamiento de la enzima AChE.

Como ejemplo de insecticidas que actúan sobre los canales de sodio tenemos al DDT y a los piretroides. Los canales de cloruro dependientes de GABA son uno de los centros de actuación más importantes de los insecticidas. Este canal fue descubierto por primera vez como centro de actuación en la *picrotoxina*, insecticida y piscicida de origen botánico, y posteriormente en algunos componentes de la familia de los insecticidas OCIs. Los insecticidas que actúan sobre este canal tienen la propiedad de poseer una elevada potencia a la vez que presentan un amplio espectro de actuación, pero presentan como desventaja su elevada persistencia y toxicidad, lo que ha hecho que se reduzca y prohíba su uso en muchos casos.

El receptor nicotínico de la nAChR, es un centro de actuación muy antiguo que se ha usado como insecticida durante más de 300 años. Los plaguicidas que actúan sobre la nAChR son los pertenecientes al grupo de las *cianinas*, caracterizados por su baja toxicidad en mamíferos y por presentar actividad sistémica contra insectos succionadores.

## 2.3 Efecto de los insecticidas sobre el medio

La mayoría de los insecticidas utilizados para el control de plagas tienen un amplio espectro de actuación, por lo que se produce un impacto sobre la flora, la fauna y el medio sobre el que se aplican.

El número de microorganismos presentes en los distintos compartimentos del medio es muy amplio, lo que hace que sea muy difícil evaluar el riesgo que conlleva la utilización de plaguicidas. Al mismo tiempo, muchos microorganismos pueden utilizar a los plaguicidas como fuente de alimentación, siendo esta una de las principales formas de degradación. La mayoría de los trabajos realizados sobre toxicidad en microorganismos, concluyen que el impacto de los insecticidas sobre los microorganismos acuáticos o terrestres es muy bajo (Rechcigl y Rechcigl, 2000).

En cuanto a los invertebrados terrestres, el número de clases que habitan en el suelo es muy diverso e incluye un amplio grupo de variedades taxonómicas, y en muchos casos se sabe todavía poco de la biología y ecología de estas especies. Una de las clases más estudiadas han sido las lombrices de tierra (Buxton y col., 1987; Kuo y Huang, 1993; Mohamed y col., 1995; Zang y col., 2000), debido a los aspectos beneficiosos que esta especie reporta al suelo. A otras especies como los nematodos, no les afectan de forma directa los insecticidas, pero sí que pueden hacerlo a algunos de sus depredadores, lo que conduce a un aumento de su población (Rechcigl, 2000). De todas formas, todavía existe un gran número de especies de invertebrados sobre las que se desconoce el efecto de la aplicación de los insecticidas.

En general, las especies de invertebrados acuáticos son mucho más sensibles a los insecticidas que las especies que habitan en el suelo, en especial cuando el plaguicida es soluble en agua (Wang y col., 1994; Chevreuil y col., 1995; Rechcigl, 2000). Esto es debido a que cuando un insecticida se introduce en un medio acuático se difunde con rapidez y se introduce directamente en el organismo animal. Existen estudios de toxicidad

en un gran número de invertebrados acuáticos (Sakai, 2001; Cengiz y col., 2001) y muchos de ellos presentan una alta sensibilidad a la presencia de plaguicidas en su hábitat.

En general, los insecticidas OCIs son moderadamente tóxicos para las larvas de los insectos y para un gran número de invertebrados acuáticos. Los OPs y carbámicos son menos tóxicos que los OCIs para las larvas, pero son más peligrosos para otras especies. El grupo de insecticidas más tóxicos para estas especies lo forman el grupo de los piretroides, que presentan un amplio espectro de actuación en la mayoría de las especies.

En los peces ocurre lo mismo que en los invertebrados, y los plaguicidas ocupan un lugar importante en la intoxicación de esta clase de organismos acuáticos (Dalela y col., 1980; EPA, 1990; El Idrissi y Amechrouq, 2001).

Cebrián y col. (1991) estudian la toxicidad de dos insecticidas OPs (metidation y triclorfon) sobre una especie de cangrejo de río, encontrando que metidation es más tóxico que triclorfon para esta especie.

No existen muchos datos sobre toxicidad en anfibios y reptiles, sin embargo sí los hay sobre los pájaros, ya que algunas especies son utilizadas en los ensayos de toxicidad.

En cuanto a los mamíferos y aves, también existen varios episodios de muertes y daños de diversa índole (Carlsen, 1992; Fantle, 1994; Fluetsch y Sparling, 1994; Pimentel y Greiner, 1997). Algunas de estas especies se utilizan como referencia en los ensayos de toxicidad, y normalmente aquellos insecticidas que presentan una alta toxicidad en mamíferos tienen más dificultad para ser registrados y comercializados.

## **2.4 Estado actual y desarrollo de nuevos insecticidas**

En la actualidad el desarrollo de nuevos insecticidas OPs o carbámicos es muy limitado, el grupo de los insecticidas piretroides prácticamente ha alcanzado su máximo desarrollo, y el único que puede experimentar algún desarrollo en el futuro es el grupo que engloba a las nuevas clases de insecticidas (Stetter, 1998).

Se están buscando otras formas de actuación para el desarrollo de nuevos insecticidas, entre las que destacamos (Wood, 1996):

- La búsqueda de productos que inhiban la función nerviosa en el canal de sodio, por unirse a sitios no vinculados a la acción de los piretroides. Se han encontrado algunos ejemplos en la naturaleza en los frutos de las Piperáceas (pimienta).
- Receptores para glutamato, ya que este aminoácido es el mediador químico más importante en la sinapsis neuromuscular en insectos, a diferencia de los mamíferos que utilizan la acetilcolina.
- Análogos sintéticos de la hormona del crecimiento en insectos, que prolonguen el desarrollo de la larva y eviten su maduración. La característica fundamental de

este tipo de compuestos es su baja toxicidad para los mamíferos. Unos de los inconvenientes es su lentitud de actuación, y que los efectos no se ponen de manifiesto de forma inmediata (Spindler-Barth, 1992; Graft, 1993).

- Hormonas que aceleran la metamorfosis de las larvas, con consecuencias tóxicas para éstas (*ecdisona*).
- Desacoplantes en procesos como la fosforilación oxidativa y la respiración en los insectos.

Actualmente existen tres grandes caminos en la búsqueda de nuevos insecticidas: la química combinatorial, serendipitía y la ingeniería genética (Briggs, 1994).

La química combinatoria es una nueva técnica usada junto con "screening" masivos, y consiste en el uso de bloques moleculares simples que pueden unirse entre sí como polímeros para dar combinaciones que formarán bibliotecas de compuestos para ser examinados.

La serendipitía se refiere a los descubrimientos realizados al azar, cuando la investigación se dirigía hacia otra dirección (Whittle, 1994). La importancia de esta técnica radica en el hecho de que descubrimientos aparentemente erróneos pueden resultar absolutamente revolucionarios si se aplican a la resolución de otro problema, en este sentido es importante la agudeza del científico o simplemente la suerte.

La ingeniería genética, que se ha usado para la creación de plantas resistentes a plagas de insectos y a los herbicidas.

En la actualidad cada vez es menor el número de nuevos insecticidas que salen al mercado, ya que cada vez son mayores los requisitos que deben reunir los compuestos antes de su comercialización. El desarrollo de un nuevo producto es un proceso largo y costoso que puede durar entre 8-10 años y necesitar una inversión de entre 10.000 y 20.000 millones de pesetas. Esto hace que desde 1990 no se hayan anunciado más de cinco nuevos insecticidas anualmente (Wood, 1996).

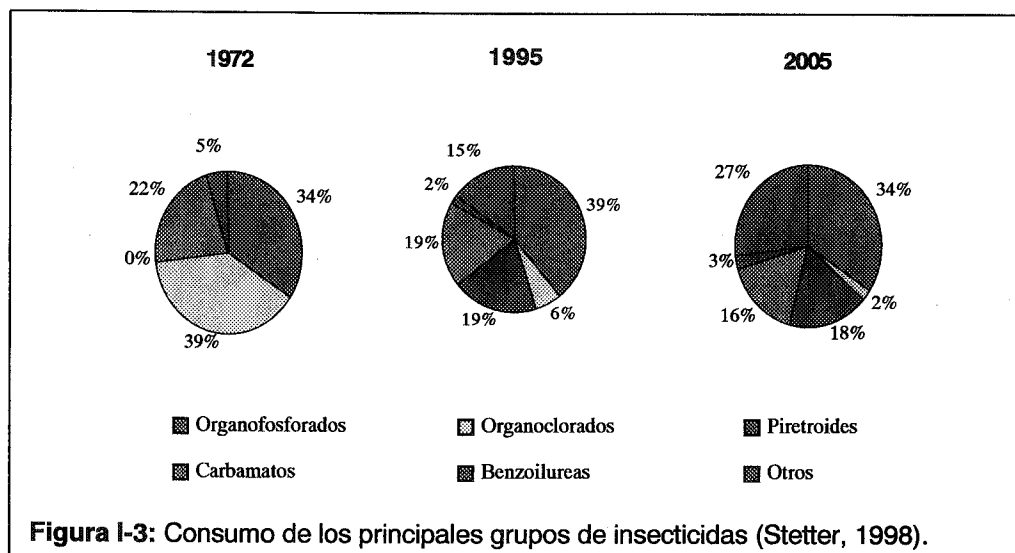
Los nuevos insecticidas son cada vez más potentes, lo que hace que las dosis empleadas sean cada vez más bajas, más selectivos y más respetuosos con el medio. En las nuevas formulaciones se mejoran aspectos tales como biodisponibilidad, y reducción del riesgo del manipulador. Para ello, se tiende a reemplazar los concentrados emulsionables y los polvos mojables por suspensiones concentradas, y gránulos o comprimidos, que reducen el contacto de polvo con el aplicador y el impacto sobre el medio (Dailey y Dowler, 1998; Dowler y col., 1999). También cobra importancia el empleo de semillas tratadas, los formulados microencapsulados, y la forma de aplicación (contenedores que se solubilizan directamente en agua, sistemas de espolvoreo cerrados, gotas cargadas eléctricamente (Stetter, 1998).

La forma de aplicación del producto puede influir de forma decisiva en la presencia de residuos en el medio, aunque de momento son pocos los estudios que se han llevado a cabo para confirmar dicha hipótesis (Mills y Thurman, 1994; Sánchez-Rasero, 1998).

## 2.5 Consumo de plaguicidas

A nivel mundial los plaguicidas OCIs fueron los más utilizados en la década de los cincuenta, mientras que los OPs y carbámicos se introdujeron a partir de los sesenta. La elevada toxicidad y persistencia de los insecticidas OCIs ha hecho que su consumo se reduzca a lo largo de la historia, mientras que el grupo de los OPs se ha mantenido invariable en las últimas décadas (Figura I-3). En la actualidad el consumo de plaguicidas a nivel mundial ronda los 2,5 millones de toneladas en todo el mundo (Pimentel, 1995).

La mitad de los 20 insecticidas más vendidos en el mundo pertenece a la familia de los OPs, entre los cuales se encuentra metidation. Esto es debido a que muchos de los plaguicidas OPs se degradan fácilmente en el medio (Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1983). En esta lista de los más vendidos se incluyen también cuatro insecticidas carbámicos: *aldicarb*, *carbaril*, *carbofuran* y *metomilo*, lo que hace que los insecticidas inhibidores de la AChE, constituyan el 70% de los 20 compuestos más vendidos.



En España, insecticidas y herbicidas son dos de los grupos de agroquímicos más consumidos en los últimos años (Tabla I-2), observándose un aumento progresivo a lo largo del tiempo.

Tabla I-2: Evolución del consumo (millones) de fitosanitarios en España MAPYA)

Año	Insecticidas y acaricidas	Fumigantes y nematocidas	Fungicidas	Herbicidas	Varios	Total (mill.Ptas.)
1985		17.750	8.610	12.830	5.840	45.030
1986		18.750	8.200	13.050	6.100	46.100
1987		19.400	9.900	13.900	7.300	50.500
1988	19.100	2.670	15.430	16.940	6.830	60.970
1989	19.570	2.270	14.720	16.640	6.810	60.010
1990	20.490	2.440	13.920	19.910	6.200	62.960
1991	20.750	2.780	13.080	20.250	6.220	63.080
1992	20.850	2.500	12.450	18.100	6.050	59.950
1993	19.555	2.190	12.890	18.095	5.750	58.480
1994	22.915	2.490	14.550	21.875	6.010	67.840
1995	26.050	2.950	14.800	20.300	7.100	71.200
1996	26.610	3.210	17.900	26.750	7.530	82.000
1997	27.400	3.200	20.300	28.900	7.600	87.400

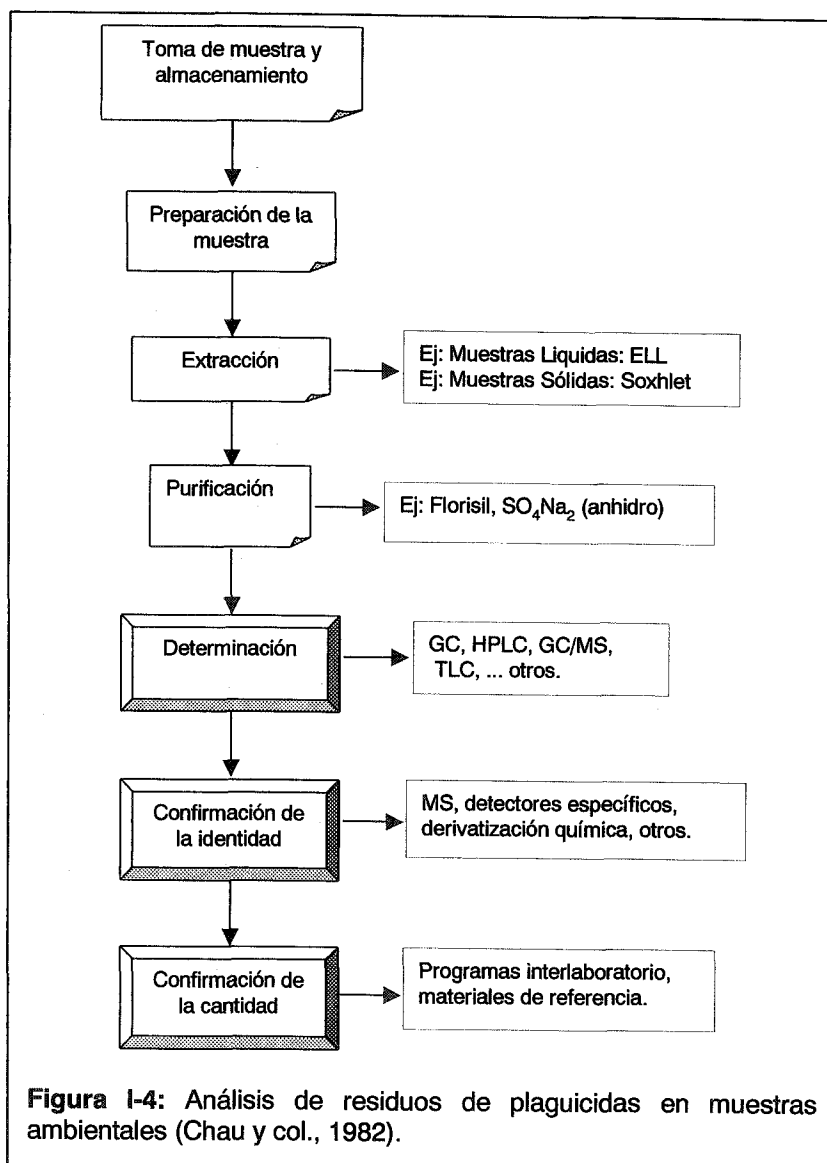
### 3 Análisis de residuos de plaguicidas en aguas y suelos

Después de la aplicación de un plaguicida, los residuos de éste, y sus posibles productos de degradación, pueden aparecer en numerosos compartimentos del medio (sistemas biológicos, agua, suelo o aire). Son los llamados *residuos de plaguicidas*.

El análisis de residuos de plaguicidas es necesario como medida de control de posibles contaminaciones del medio y una forma de protección de la salud pública, y comprende varios procesos que pueden resumirse en el esquema de la Figura I-4.

A menudo es un procedimiento complicado, que se realiza en distintos pasos y que culmina con el uso de una técnica analítica, generalmente de tipo cromatográfico. En la mayoría de los casos la calidad de los resultados no depende del coste del equipo, sino de las operaciones que se realizan antes de la utilización del mismo como el muestreo, almacenamiento, preparación y análisis de la muestra. Sherma (1999) realiza un revisión de las principales técnicas de análisis de residuos de plaguicidas en la actualidad.





### 3.1 Toma de muestra, almacenamiento y conservación.

La toma de muestra es una de las fuentes más importantes de error en las determinaciones analíticas y quizás el elemento más crítico de los estudios ambientales (Gy, 1995; Barceló y Hennion, 1997). Existen en la bibliografía numerosas publicaciones dedicadas a esta materia (Keith, 1988; Barceló, 1993; Mayfield y col., 1993; Wells, 1994; WRC Guide, 1994; Crosby, 1995), pero habitualmente no se le concede demasiada importancia, y la recogida se lleva a cabo con frecuencia por personal no cualificado.

La toma de muestra debe realizarse de tal manera que ésta sea representativa del conjunto, y en cantidad suficiente para que pueda llevarse a cabo su análisis (Cross, 2000; Lehotay, 2001). Este aspecto es especialmente delicado en la toma de muestras

sólidas dada la heterogeneidad intrínseca de la mayoría de materiales del suelo (Cross 2000).

Otro punto a tener en cuenta, es que las características del equipo de muestreo deben ser compatibles con la determinación analítica y evitar problemas de posibles contaminaciones (Siegrist y Jenssen, 1990). Así por ejemplo, para el análisis de residuos de plaguicidas el material utilizado en la recogida de la muestra debe ser de vidrio o teflón, ya que existe el riesgo de adsorción sobre otro tipo de materiales especialmente plásticos (Topp y Smith, 1992).

De todas formas para cada analito hay que asegurarse de que el recipiente empleado en la toma de muestra y su transporte no modifique la concentración del contaminante (por fenómenos tales como la adsorción), o contribuya con interferencias en la determinación final.

Una vez recogida la muestra en el recipiente adecuado, debe ser trasladada lo antes posible al laboratorio para su análisis. En caso contrario, se almacenará de la forma adecuada para preservar la calidad de los resultados.

La forma más habitual de almacenamiento de las muestras de tipo ambiental (suelo y aguas, por ejemplo) es en neveras a 5 °C (Jeannot, 1994). Pero cuando se desconoce la degradación del analito en la matriz es mejor utilizar la congelación a -18 °C, ya que en estas condiciones se reducen la mayor parte de las reacciones enzimáticas y oxidativas. Sin embargo la congelación de la muestra puede ocasionar la floculación de la materia orgánica al descongelarse, provocando problemas de adsorción de los analitos (de la Colina, 1996).

El paso siguiente de preparación de la muestra para su análisis, es en el que mayor tiempo se invierte, y de donde provienen la mayor parte de los errores (Majors, 1991). Para conseguir una mayor calidad en los resultados del análisis se pueden tomar algunas medidas preventivas como son la realización de ensayos rutinarios para comprobar la limpieza de los recipientes, análisis de blancos sobre agua destilada para localizar contaminaciones o el análisis por duplicado de la muestra, cuando esto sea posible. De todas formas, lo más recomendable es la realización de pruebas de estabilidad de los compuestos de interés en cada caso particular (Simmoms, 1991).

El aumento de la estabilidad de los plaguicidas en agua se puede conseguir con la adición de determinados conservantes, tras la recogida de la muestra (Jeannot, 1994; Barceló y Hennion, 1997). Entre los compuestos que actúan como conservantes se encuentran la adición de disolventes que extraigan el plaguicida como cloroformo o diclorometano, y la adición de cloruro mercúrico, sulfato cúprico o ácidos para disminuir el pH. En la Tabla I-3 se recogen algunas formas de conservación de muestras acuosas que contengan diferentes tipos de plaguicidas.

Tabla I-3: Medidas conservativas para plaguicidas en agua ( Dean, 1998)

Plaguicida	Recipiente	Medidas de conservación	Tiempo máximo de almacenamiento
OCIs	Vidrio	1 mL de HgCl <sub>2</sub> (10 mg mL <sup>-1</sup> ) o 1 g L <sup>-1</sup> de Ac. ascórbico o adición de un disolvente orgánico	7 días, 40 días tras extracción
OPs	Vidrio	1 mL de HgCl <sub>2</sub> (10 mg mL <sup>-1</sup> ) o adición de un disolvente orgánico	14 días, 28 días tras extracción
Herbicidas OCIs	Vidrio	Refrigeración, sellado, adición HCl hasta pH <2 Tiosulfato sódico  1 mL de HgCl <sub>2</sub> a 10 mg mL <sup>-1</sup>	14 días 7 días, 28-40 días tras extracción 7 días
Compuestos fenólicos	Vidrio	Refrigeración, adición de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> hasta pH <2	28 días
Plaguicidas polares	Vidrio	1 mL de HgCl <sub>2</sub> a 10 mg mL <sup>-1</sup>	28 días

En el trabajo de Barceló y Alpendura (1996) se recogen los principales problemas que se pueden presentar en el almacenamiento y conservación de plaguicidas polares en muestras acuosas. de la Colina y col. (1997) estudian el efecto del almacenamiento de varios plaguicidas en cartuchos de extracción en fase sólida, presentando éste como una buena medida de conservación, aunque los resultados dependerán de las características del plaguicida (Senseman y col., 1993; Barceló y col., 1994; Johnson y col., 1994; Lacorte y col., 1995).

En estos procesos y en los que a continuación se describen, es necesario evitar en lo posible el uso de plásticos tanto en conexiones como en viales, porque pueden contaminar la muestra (Pattison y Wilkins, 1989) o retener ciertos plaguicidas (Topp y Smith, 1992).

### 3.2 Métodos de extracción de plaguicidas en suelo.

#### 3.2.a Extracción líquido- sólido, Soxhlet, Soxtec y Sonicación

La extracción de contaminantes en muestras de suelo se ha realizado normalmente mediante métodos de extracción líquido-sólido. El más común de estos métodos es la extracción mediante Soxhlet, que fue introducida por el Barón von Soxhlet a mediados del siglo XIX.

Los métodos de extracción líquido-sólido pueden dividirse en: métodos que utilizan calor (Soxhlet, Soxtec) (Di Vincenzo y Dentel, 1996), y métodos que no requieren su uso (sonicación o agitación).

La extracción líquido-sólido convencional, se lleva a cabo mediante la agitación de la muestra de suelo en un recipiente de vidrio con un disolvente. Después de la extracción, el analito se separa de la matriz mediante centrifugación y /o filtración (Romero y col., 1998).

La sonicación, utiliza un baño de ultrasonidos para agitar la mezcla de la muestra con el disolvente. Normalmente la agitación se realiza en un periodo de tiempo corto (3 min), transcurrido el cual es necesario filtrar y /o centrifugar la muestra (Navarro y col., 2000). El proceso entero se puede repetir hasta tres veces, con la combinación de los extractos. Watts y col. (1994), extraen seis plaguicidas de muestras de suelo mediante sonicación, obteniendo valores de recuperación superiores al 70 %.

En la extracción mediante Soxhlet, se utiliza el sistema de extracción del mismo nombre. El proceso se lleva a cabo mediante el paso de forma repetitiva de un disolvente o mezcla de disolventes a través de la muestra, a una temperatura por debajo de su punto de ebullición y durante periodos de tiempo largos (2-24 h) (Snyder y col., 1992; Kimbrough y col., 1994; Frost y col., 1997).

La extracción mediante Soxhlet automática o Soxtec, utiliza un proceso en tres etapas para obtener una extracción más rápida. En un primer paso la muestra se sumerge en el disolvente hirviendo durante aproximadamente 60 min. Después la muestra se extrae en Soxhlet, por un periodo de tiempo similar, y por último el disolvente se evapora directamente en el Soxtec. Mediante este procedimiento se reduce tanto el tiempo de extracción, como el volumen de disolvente empleado y la manipulación de la muestra, y algunos autores proponen su utilización como una alternativa a la extracción con Soxhlet o sonicación, para el análisis de plaguicidas y otros compuestos de suelos y sedimentos (López-Ávila y col., 1993).

El método Soxhlet para el análisis de distintos analitos en suelos sigue siendo uno de los más empleados en la actualidad (Letellier y Budzinski, 1999; Düring y Gath, 2000; Guzzella y col., 2000; Lehotay, 2001). Folch y col. (1996), lo utilizan para la extracción de bifenilos policlorados de muestras de suelo enmendadas con lodos de depuradora. Algunos estudios que comparan la extracción con Soxhlet con otros procedimientos como sonicación, concluyen que el método Soxhlet es el más exacto, robusto y eficiente para la extracción de analitos de suelos (Kimbrough, y col., 1994; López-Avila y col., 1995b; Romero y col., 1996).

### **3.3 Métodos de extracción de plaguicidas en aguas**

#### **3.3.a Extracción líquido-líquido (ELL)**

Ha sido el método de extracción más utilizado en el caso de muestras acuosas, (Liu y col., 1994; Åkerblom, 1995), y todavía se sigue utilizando en la actualidad (Dannenberg y Pehkonen, 1998; Konstantinou y col., 2001).

El principio de la extracción líquido-líquido es un proceso de partición del analito entre dos disolventes inmiscibles, en los cuales el analito y la matriz en la que se encuentra tienen diferentes solubilidades.

El método puede realizarse mediante una extracción en continuo o en discontinuo (Majors, 1997). En el primer caso la extracción se realiza en un matraz de decantación, y el equilibrio entre las dos fases inmiscibles nunca se alcanza, mientras que en el segundo sí. La extracción en continuo se realiza en un sistema Kuderna-Danish.

Es el método de extracción más utilizado, pero presenta algunos inconvenientes:

- Requiere una gran cantidad de tiempo, cuando el número de muestras es alto.
- Las muestras que contienen surfactantes o materia grasa pueden presentar problemas en la separación entre las fases por la formación de emulsiones. La eliminación de éstas se puede conseguir mediante centrifugación, filtración con lana de vidrio, refrigeración o adición de pequeñas cantidades de un disolvente orgánico distinto del utilizado para su extracción.
- Necesidad de utilizar un volumen elevado de disolvente que debe ser eliminado. Este es el caso habitual de disolventes tóxicos, de los que se exige su almacenamiento y posterior retirada.
- Debido a la obtención de elevados volúmenes de disolvente, generalmente se necesita una preconcentración de la muestra antes de su análisis.

Como solución al problema de utilización de elevados volúmenes de disolventes algunos autores utilizan la microextracción líquido-líquido (Beltrán y col. 1997; Sánchez y col., 2000), en la que se emplea un volumen más reducido de disolvente para extraer cantidades de muestras más pequeñas.

### **3.3.b Método de extracción en fase sólida (SPE).**

El método de extracción en fase sólida o de extracción líquido-sólido, consiste en la puesta en contacto de una muestra líquida o gaseosa con una fase sólida o sorbente que retiene al analito de forma selectiva. Una vez retenido el analito, es separado mediante la adición de un disolvente en el que presenta una alta solubilidad (Junk y Richard, 1988).

La elección del disolvente y la fase estacionaria son de vital importancia en esta técnica analítica, ya que si la muestra contiene varios analitos, estos pueden ser retenidos y eluidos en diferentes pasos pero dentro de un mismo análisis.

Los primeros métodos de extracción en fase sólida empleaban resinas macrorreticulares y grandes cantidades de fase estacionaria ( $\approx 15$  g) (Lebel y col., 1979). En la actualidad existe en el mercado una amplia variedad de sistemas de extracción en fase sólida, tanto en el tipo de fase estacionaria empleada como en la cantidad de relleno, que suele oscilar entre los 50 mg y 1 g.

Los sorbentes más comunes utilizan como material de partida partículas de sílice, a las que se unen otros grupos funcionales para cambiar sus propiedades de retención. El grado de recubrimiento no es siempre completo, lo que da lugar a sitios no reactivos de naturaleza distinta que pueden cambiar el modo de interacción del analito con la fase estacionaria (McDowall, 1994).

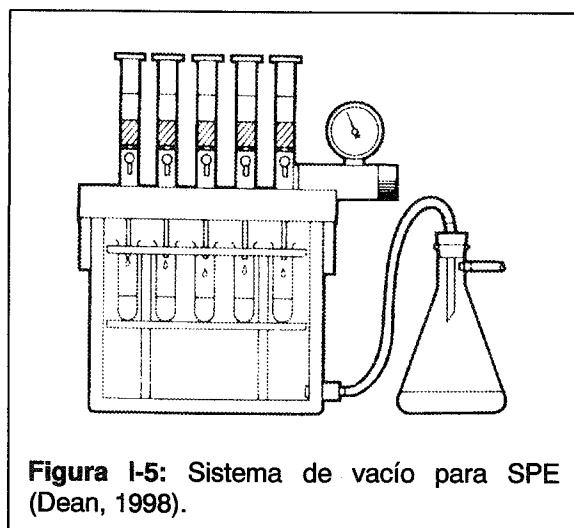
Existen tres tipos de fases estacionarias: normal, reversa y de intercambio iónico. Los sorbentes en fase normal tienen grupos funcionales de naturaleza polar (ciano, amino, o diol) y se utilizan para la retención de compuestos de naturaleza polar. Los sorbentes en fase reversa utilizan grupos funcionales de naturaleza no polar (metilo, octadecilo), y son usados cuando el analito presenta una naturaleza no polar. Las fases estacionarias de intercambio iónico contienen grupos funcionales catiónicos o iónicos, y se utilizan para la retención de compuestos con carga (Tabla I-4). La forma de presentación de los sistemas de extracción en fase sólida van desde cartuchos individuales con diferentes cantidades de relleno o en discos de extracción.

**Tabla I-4:** Algunas de las fases estacionarias más utilizadas en SPE (Dean, 1998).

	Fase	Grupo Funcional
<b>Fases Apolares</b>	C1, metilo	Si-CH <sub>3</sub>
	C8, octilo	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>
	C18, octadecilo	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CH <sub>3</sub>
<b>Fases Polares</b>	Si, sílice	Si-OH
	CN, cianopropilo	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CN
	2OH, diol	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>2</sub> OH
<b>Fases de intercambio iónico</b>	SCX, ácido bencen sulfónico	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
	DEA, amina terciaria	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sup>+</sup> (CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	SAX, amina cuaternaria	Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>

En la actualidad están emergiendo los rellenos de tipo polimérico (Oasis, Absolut Nexus) que son capaces de retener una amplia gama de productos lo que los hace especialmente aconsejables para el análisis multiresiduos (Young, 1998; Wells, 1999). Otras novedades se refieren al uso de inmunosorbentes como rellenos basados en el reconocimiento molecular usando anticuerpos (Delannay-Bertoncini y col., 2001a). Estos rellenos permiten la extracción selectiva de compuestos o familias de compuestos (Lawrence y col., 1996; Ferrer y col., 1997; Pichon y col., 1997; Delannay-Bertoncini y col., 2001b)

El modo de operación se divide en cinco pasos: humectación del sorbente, acondicionamiento de la fase estacionaria, paso de la muestra, elución de interferencias y elución del analito. La elección del disolvente influye directamente sobre la retención del analito sobre la fase estacionaria y su posterior elución, y dependerá de la naturaleza de éste. Otros parámetros a tener en cuenta son el número de sitios activos de la fase estacionaria y la velocidad de paso de la muestra que se regula controlando el vacío en el sistema (Figura I-5).



**Figura I-5:** Sistema de vacío para SPE (Dean, 1998).

El tipo y cantidad de fase estacionaria, la velocidad de paso de la muestra, concentración y volumen de la muestra, pH, fuerza iónica y las características del plaguicida son algunos de los factores que más intervienen en la extracción de plaguicidas de muestras acuosas (Báez y col., 1997)

El método de extracción en fase sólida ha sido muy utilizado en los últimos años para el análisis de residuos de plaguicidas y otros contaminantes de muestras acuosas y de distinta naturaleza (Brooks y col., 1989; Moltó y col., 1991; de la Colina y col., 1995 y 1997; Benfenati y col., 1996; Meney y col., 1998; Pichon, 1998; Baranowska y Pieszko, 2000; Young, y col, 2001). Greerdink y col. (1998) ponen a punto cuatro procedimientos para la extracción de triazinas y algunos de sus productos de degradación de muestras acuosas.

Las innovaciones más recientes apuntan al uso de hasta 96 columnas de SPE simultáneamente (Wells, 1999 y 2000) y a la desorción del analito con ayuda de la temperatura (Duinkerken y col., 2000).

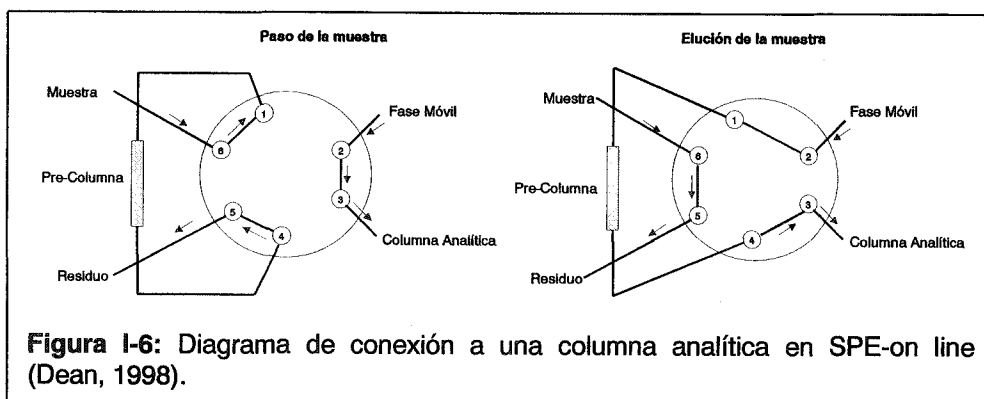
### 3.3.c SPE on-line y automática

La extracción en fase sólida automática permite extraer un gran número de muestras. Existen dos formas de llevarla a cabo: mediante el empleo de la instrumentación adecuada que realiza los mismos pasos que en la extracción manual (Jordan, 1993), y la SPE on-line (Brinkman y Vreuls, 1995). En este último caso el eluyente del cartucho de

extracción se introduce automáticamente en un cromatógrafo para la separación y cuantificación de los analitos de interés (Figura I-6). El empleo de esta técnica presenta como ventaja una reducción en la manipulación de la muestra, que se ve reflejada en una mejora en la precisión de los resultados y en una disminución del riesgo de contaminación (Lacorte y Barceló, 1996; Hennion, 1998).

Esta técnica ha sido muy utilizada para el análisis de plaguicidas, y en algunos casos se ha empleado como primera medida para la detección de contaminaciones por plaguicidas en aguas superficiales (Brinkman, 1994; Chiron y col., 1994). Pichon y col. (1994) utilizan el método SPE on-line, para la separación de varias triazinas y herbicidas uréicos de aguas de bebida y superficiales. van der Hoff y col. (1994) la aplican a la extracción de piretroides mediante SPE automática en aguas superficiales. Este sistema se ha utilizado por su sencillez, conectado a un cromatógrafo líquido de alta resolución (CLAR) (Lacorte y col., 1995b; Hogenboom, 1997), aunque también se ha aplicado en combinación con CG/EM (Lacorte y col., 1995b; Öllers y col., 1997). Para la obtención de buenos rendimientos con esta técnica es imprescindible que el relleno no se seque antes de paso de la muestra. Bouvier y col. (1997) han desarrollado un nuevo relleno polimérico con el que se obtienen buenas recuperaciones en el caso de que esto ocurra.

Barceló y Hennion (1995) realizan una revisión de las distintas técnicas de análisis on-line de plaguicidas en muestras acuosas medioambientales.



### 3.3.d Microextracción en fase sólida (SPME)

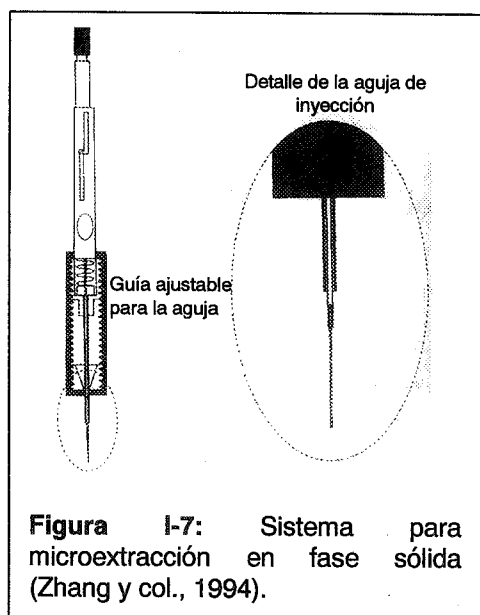
La microextracción en fase sólida o SPME es el método por el cual un analito orgánico es directamente adsorbido sobre la superficie de una fibra polimérica, recubierta con distintos rellenos, según un equilibrio de partición entre la fibra y la solución (Lord y Pawliszyn, 1998 y 2000; Falqui y col., 2001).

La etapa más importante del proceso es la elección de la fase estacionaria adecuada para la adsorción del analito, siendo la de polidimetilsiloxano una de las más utilizadas. Esta fase se utiliza para la extracción de una gran cantidad de compuestos no polares, tanto en aire como en muestras acuosas (Arthur y col., 1992; Zhang y col., 1994).



El sistema físico en el que se encuentra normalmente es un recipiente similar a una jeringa, al que se adapta una aguja para la inyección de la muestra en un CG, donde el analito es desorbido por acción de la elevada temperatura del inyector. Como consecuencia, una de las ventajas de esta técnica es que no necesita ninguna etapa de purificación o concentración de la muestra (Urruty y col., 2001), ausencia del pico del disolvente y límites de detección (LOD) más bajos que los obtenidos por otras técnicas convencionales como ELL o SPE (Falqui y col., 2001). Cuando la muestra se quiere analizar mediante CLAR, es necesaria la presencia de una interfase, para la desorción del analito.

El método SPME, ha sido aplicado por varios autores para la extracción y separación de muestras acuosas de distintos plaguicidas (Miège y Dugay, 1998; Lipinski, 2000). Barnabas y col. (1995), proponen un método para la determinación de cuatro herbicidas triazínicos en muestras acuosas a bajas concentraciones, mediante SPE-CG con detector NPD. Las recuperaciones obtenidas se encuentran alrededor del 90 %, y consiguen detectar concentraciones de los herbicidas que se encontrarían en condiciones normales por debajo del límite de detección del detector utilizado.



Boyd-Boland y col., (1995) realizan un estudio más amplio del análisis de muestras acuosas adicionadas con mezclas de herbicidas, en el que se analizan parámetros tales como tiempo de equilibrio, linealidad de la respuesta, y efecto de la fuerza iónica y el pH. En un estudio posterior (Boyd-Boland, y col., 1996), se analizan matrices acuosas adicionadas con 60 plaguicidas distintos, encontrando resultados similares a los obtenidos mediante extracción líquido-líquido.

Estos sistemas también se aplican a la determinación de plaguicidas en muestras sólidas más complejas (Chen y col., 1998) y por medio de la retención de los analitos presentes en la fase gaseosa en equilibrio con la muestra o "headspace" (Zhang y Pawliszyn, 1993).

### 3.4 Otros métodos de extracción para matrices acuosas o sólidas

#### 3.4.a Extracción mediante fluidos supercríticos (SFE)

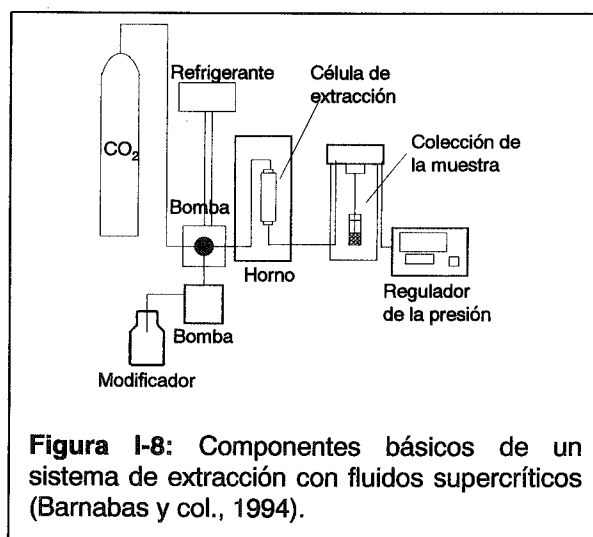
Un fluido supercrítico es cualquier sustancia por encima de su temperatura y presión críticas. La extracción SFE se basa en las propiedades de los fluidos en estado supercrítico para extraer analitos de matrices sólidas, semisólidas o líquidas. Estas propiedades son un buen poder de solvatación, alta difusividad y baja viscosidad y mínima tensión superficial.

El descubrimiento de la fase supercrítica se debe al Baron Cagniard de la Tour en 1822, y desde entonces ha tenido un gran número de aplicaciones en ingeniería, tecnología y análisis de diversas sustancias.

La primera aplicación en cromatografía analítica se recoge en el trabajo de Novotny y col. (1981), pero no es hasta mediados de los ochenta cuando se comercializa a nivel analítico.

La elección del fluido supercrítico depende fundamentalmente de criterios prácticos, como disponibilidad, elevada pureza, seguridad, baja reactividad y bajo costo. Por estas razones y debido a la moderada presión crítica y a la baja temperatura crítica, el dióxido de carbono es la sustancia más utilizada para fines analíticos en SFE. Sin embargo, debido a su naturaleza no polar y dependiendo de las características de la sustancia a analizar, a veces es necesario añadir un disolvente orgánico polar o modificador. Metanol es uno de los modificadores más comúnmente empleados. Levy (2000) hace una revisión de los parámetros más importantes en la extracción SFE de muestras sólidas.

La técnica de SFE se ha empleado a menudo en el análisis de plaguicidas (King y col., 1993; Steinheimer y col., 1994; Valverde, 1994; Lehotay y Eller, 1995; Camel, 1998). Snyder y col. (1992) realizan un estudio comparativo de la extracción en suelo de varios plaguicidas OPs mediante SFE, Soxhlet y sonicación, encontrando resultados similares entre los distintos métodos estudiados.



Dean (1996) recoge los principales factores que afectan a la recuperación de plaguicidas de suelo. Entre esos factores hay que tener en cuenta: las características del suelo, el coeficiente de partición suelo-agua ( $K_d$ ), la solubilidad del plaguicida en el fluido supercrítico, el modificador que se emplee, la presión que se aplique y la presencia de ácidos húmicos y materia orgánica en la muestra.

La necesidad de la adición de modificadores para la extracción de plaguicidas polares de suelo ha sido demostrada por varios autores (Snyder y col., 1993; Barbanas y col., 1994),

que obtienen recuperaciones altas cuando éstos son empleados, mientras que sin su adición las recuperaciones son muy bajas o incluso no son extraídos.

Otra de las aplicaciones de la SFE, ha sido en la extracción de analitos de matrices acuosas. Su utilización se ha realizado de dos formas distintas, una mediante la aplicación directa de CO<sub>2</sub> sobre la muestra, y otra mediante la combinación de la extracción en fase sólida con la SFE. En este último caso, la muestra acuosa que contiene el analito se pasa por un cartucho de extracción SPE, que a continuación se introduce en la célula especial de extracción, SFE y se eluye el analito con el fluido supercrítico.

Las principales ventajas de la extracción con fluidos supercríticos frente a otras técnicas de extracción son (Barceló y Hennion, 1995):

- Una reducción en el tiempo de extracción, si se compara con Soxhlet, ELL o SPE, ya que la elevada difusividad de los fluidos supercríticos permiten que la extracción se realice en un tiempo más corto.
- Requiere pequeños volúmenes de disolvente, semejantes a los utilizados en SPE, lo que disminuye los problemas de contaminación ambiental.
- Utilización de bajas temperaturas de extracción (40-60 °C), lo que permite extraer compuestos termolábiles.
- Posibilidad de fraccionar los extractos.
- Permite realizar extracciones selectivas, mediante la elección del disolvente o del modificador.
- Compatibilidad con los métodos de extracción on-line.

Pero esta técnica analítica también presenta una serie de inconvenientes entre los que se pueden destacar los siguientes (Lehotay, 1998):

- Sólo puede extraerse un tamaño de muestra pequeño, lo que incide en el correspondiente límite de detección.
- Se necesita una alta inversión en equipos y en su mantenimiento, en contra de lo que sucede con métodos de extracción convencionales como ELL, Soxhlet o SPE.
- Necesidad de personal especializado
- El elevado precio y disponibilidad de los gases, que deben ser extremadamente puros.

#### **3.4.b Extracción asistida por microondas (MAE)**

La extracción asistida por microondas utiliza la energía de la radiación electromagnética de la región de las microondas para desorber contaminantes de la matriz a analizar (Zlotorzynski, 1999). Aunque la región de las microondas abarca frecuencias desde los

300 MHz a los 100 GHz, los hornos microondas tanto domésticos como científicos funcionan sólo a frecuencias de 2,45 GHz.

El componente fundamental del sistema, es el generador de microondas o magnetrón. En la extracción asistida por microondas, las ondas son dirigidas hacia el sistema donde se introduce la muestra por medio de un cable coaxial, mientras que en los hornos microondas domésticos esto no ocurre. Otros parámetros que se pueden controlar son la temperatura y la presión en el interior del recipiente de extracción.

La energía de la radiación microondas consigue polarizar a los compuestos que presentan momento dipolar, y en estas condiciones la molécula polarizada rota hasta alinearse con respecto al campo eléctrico a una velocidad de  $10^9$  veces por segundo. En el caso de la extracción MAE de muestras acuosas con disolventes orgánicos, es necesario conocer el valor de su constante dieléctrica.

La primera aplicación de los hornos microondas para la extracción de analitos de matrices utilizando disolventes orgánicos fue realizada por Ganzler y col. en 1986. En este primer trabajo la energía microondas se usó para extraer analitos de suelos, semillas y comida, utilizando como disolventes metanol o una mezcla metanol-agua para compuestos polares y hexano para compuestos no polares.

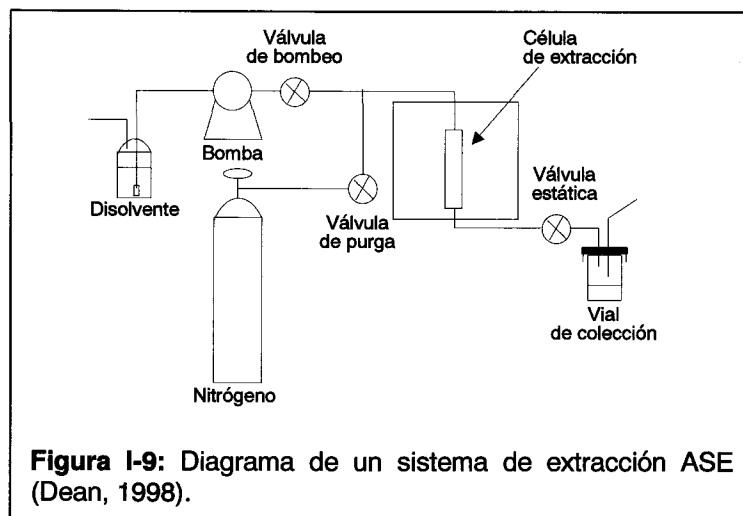
La extracción de plaguicidas de distintas matrices mediante el empleo de las microondas ha sido un campo de amplio estudio en los últimos años (Steinheimer, 1993; Onuska y Terry, 1993; López-Ávila y col., 1995; Stout y col., 1996 y 1997; Font y col., 1998; Xiong y col., 1999; Andréa y col., 2001). Entre las principales ventajas de esta técnica podemos destacar una reducción del tiempo de preparación y extracción de la muestra, en el uso de disolventes y una mejora de las recuperaciones (Letellier y Budzinski, 1999; Letellier y col., 1999).

#### **3.4.c Extracción acelerada con disolventes (ASE)**

Esta extracción utiliza disolventes a elevada temperatura y presión para extraer contaminantes de matrices medioambientales. Fue propuesta como método analítico por la Agencia de Protección del Medio Ambiente americana en 1995 (USEPA SW-846, 1995).

Las principales razones de porqué el uso de disolventes orgánicos a elevada temperatura y presión puede mejorar la extracción son, un aumento de la solubilidad y transferencia de masa, y cambios en el equilibrio superficial.

Las elevadas temperaturas aumentan la solubilidad de los analitos y la difusión de los mismos hacia el disolvente orgánico. Asimismo, la transferencia de masa entre la superficie de la matriz y el disolvente es más rápida como consecuencia de la existencia de un mayor gradiente de temperatura.



Los cambios a nivel superficial son consecuencia de la elevada presión y temperatura. Las altas temperaturas pueden romper las interacciones existentes entre el soluto y la matriz (fuerzas de van der Waals, enlaces por puente de hidrógeno, enlaces dipolo-dipolo, etc.) y disminuir la viscosidad del disolvente, lo cual permite penetrar mejor al analito en el disolvente. La elevada presión mantiene al disolvente en fase líquida por encima de su punto de ebullición y ayuda al disolvente a penetrar en la matriz de la muestra.

La técnica ASE fue desarrollada y automatizada en 1995 por Dionex Corp. (USA) (Figura I-9). Desde entonces se ha empleado para el análisis de distintos contaminantes ambientales de tipo orgánico, entre ellos los plaguicidas (Obana y col., 1997; Gan y col., 1999; Weichbrodt y col., 2000) obteniéndose resultados comparables a la extracción con Soxhlet, SFE o MAE (Frost y col., 1997).

Una de las ventajas de este método es usar agua como extractante, ya que se trata de disolvente barato, seguro y disponible. En estos casos se pueden adicionar detergentes, ciclodextrinas y sales para aumentar el poder de solubilización. Lehotay (1998) demuestra cómo la temperatura del agua influye en las recuperaciones obtenidas en la extracción de varios plaguicidas mediante ASE, entre los que se encuentra metidation.

En las Tablas I-5 e I-6, se presentan las ventajas e inconvenientes de distintos métodos de extracción para muestras acuosas y de suelo, respectivamente.

**Tabla I-5:** Comparación de algunos métodos de extracción para muestras acuosas (Dean, 1998).

	Líquido-Líquido	SPE	SPME
<b>Tiempo de extracción</b>	20 min-24 h	10-20 min.	10-60 min.
<b>Disolvente utilizado</b>	180-500 mL	10-20 mL	No es necesario
<b>Costo</b>	Bajo	Bajo	Bajo
<b>Manejo</b>	Fácil	Fácil	Fácil
<b>Tamaño de la muestra</b>	1 L	1 mL-1 L	1 mL- 1 L
<b>Principales desventajas</b>	Es necesario concentrar la muestra tras la extracción	Optimización de la metodología; elección del disolvente	Optimización de la metodología; elección del disolvente y optimización de la metodología

**Tabla I-6:** Comparación de las técnicas de extracción de suelo (Dean, 1998).

	Soxhlet	Soxtec	Sonicación	SFE	MAE	ASE
<b>Tiempo de extracción</b>	4-24 h	4-5 h	Periodos de 3-15 min	30-60 min	< 5 min.	15 min.
<b>Disolvente utilizado</b>	100- 500 mL	40-50 mL	150-300 mL	10-30 mL	40 mL	15-25 mL
<b>Costo</b>	Muy Alto	Bajo	Bajo	Alto	Moderado	Alto
<b>Tamaño de la muestra</b>	> 10 g	> 10 g	> 5 g	> 1 g	> 5g	> 10 g
<b>Principales desventajas</b>	Uso de elevados volúmenes de disolvente	Mayor coste en el uso del disolvente que con Soxhlet	Muy laborioso	Efecto matriz y elevado costo	Se necesitan utilizar disolventes polares; laborioso	Alto costo

### 3.5 Métodos de concentración del disolvente

Los métodos de concentración más empleados son la concentración en rotavapor, el uso de un sistema Kuderna-Danish, sistemas de concentración evaporativa automatizados o EVACS (automated evaporative concentration system), o el empleo de corrientes de gases inertes como el N<sub>2</sub> o el He (Majors, 1999).

En la concentración en rotavapor el disolvente es eliminado a baja presión y temperatura controlada. Los principales problemas son la pérdida del analito cuando éste es muy volátil y las pérdidas por adsorción.

La evaporación mediante Kuderna-Danish, utiliza un sistema del mismo nombre, en el que la concentración del disolvente se realiza mediante una destilación del disolvente. La principal desventaja de este método es la pérdida de la muestra por ebulliciones violentas en el disolvente.

El método EVACS, utiliza una columna de destilación y una serie de sensores que permiten una concentración controlada del disolvente, en cuanto a temperatura y volumen de la muestra se refiere. Este sistema reduce el riesgo de pérdidas por adsorción, evaporación a sequedad de la muestra o descomposición térmica de la misma.

El método de concentración en corriente de gas inerte consiste en la aplicación de una corriente de gas sobre las paredes del recipiente que contiene la muestra. Se emplea cuando el volumen de disolvente a evaporar es pequeño (de la Colina y col., 1995).

En todos los casos los métodos de concentración son lentos y llevan consigo un elevado riesgo de contaminación, tanto del disolvente, como del material de vidrio o de la corriente gaseosa utilizada. El empleo de gomas de distinta composición (silicona, polietileno ... ) puede presentar problemas por la aparición de puntos de adsorción y/o contaminación de la muestra.

### 3.6 Métodos de detección

Con la aparición de los plaguicidas en la década de los cuarenta surgió la necesidad de desarrollar técnicas analíticas para su detección. En esta primera etapa, las técnicas de análisis eran en su mayoría no cromatográficas, poco sensibles y/o específicas. La cromatografía en capa fina (CCF) fue la primera técnica de análisis empleada como método de detección semicuantitativa (Askew y col., 1969; Garrido y Monteoliva, 1981; Sherma, 1989).

El desarrollo de las columnas empaquetadas en la década de los cincuenta convirtió a la cromatografía de gases (CG) en la principal técnica empleada en los años posteriores (Askew y col., 1969; Bowman y Beroza, 1970; Ramsteiner y col., 1974; Aoki y col., 1975; Mcleod y col., 1975; Machin y McDougall, 1978; Lebel y col., 1979; Ambrus y col., 1981; Hornish y col., 1984; Ambrus y Thier, 1986), debido también, a la mejora en la instrumentación y a la incorporación de detectores cuantitativos. La aparición de las columnas capilares en los años setenta, hizo que se mejorase el poder de separación y que comenzaran a desarrollarse métodos de análisis multirresiduos (Krijgsman y Van de Kamp, 1976; Nitz y col., 1982; Agneessens y col., 1984; Woodrow y col., 1986; Bagnati y col., 1988; Hinckley y Bidleman, 1989).

Al mismo tiempo la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) empezó a comercializarse, y su implementación para el análisis de residuos de plaguicidas permitió la detección de muchos compuestos difíciles de analizar por otras técnicas (Barceló, 1988; Bellar y Budle, 1988; Stelluto y col., 1990).

La alta selectividad de los detectores hace que CG y CLAR sean las técnicas analíticas más utilizadas en la actualidad (Lehotay, 1998), siendo el carácter termolábil del plaguicida y su polaridad, las principales características a tener en cuenta en la elección de una u otra. Las ventajas de la CG son, la alta sensibilidad de los detectores, su especificidad y que la interfase necesaria para el detector de espectrometría de masas (EM) es sencilla. Una de las desventajas es que el análisis de muchos plaguicidas termolábiles no pueden ser determinados directamente (Galoux y col., 1979), por lo que éstos y otros compuestos de naturaleza ácida requieren de técnicas de pre-derivatización. En cuanto a la CLAR presenta como ventajas el ser una técnica más adecuada para la determinación de plaguicidas no volátiles (Machin y McDougall, 1982) o térmicamente inestables (Zenon-Roland y col., 1984; Kuhne y col., 1991; Ruso y col., 1993). Como desventaja, que las interfases para EM son más complicadas y se ha necesitado más tiempo para el desarrollo de la tecnología adecuada. Actualmente este problema está solucionado con interfases del tipo "Thermospray" o pulverización térmica (TS), haz de partículas o "Particle Beam" (PB) y electrospray (ES) (Agüera y Fernández-Alba, 1998; Ferrer y Barceló, 1998; Stout y col., 1998; Bossi y col., 1999; Jeannot y Sauvard, 1999).

Algunos de los inconvenientes indicados tanto para CG como para la CLAR pueden ser subsanados mediante el empleo de la cromatografía de fluidos supercríticos (CFS).



La CFS se basa en la utilización de un fluido supercrítico como fase móvil lo que proporciona una mayor eficacia en comparación con la CL y similar a la que presenta la CG. Esto es debido a que la viscosidad del fluido es más baja que la de un líquido y la difusividad de los solutos mayor. Por otro lado, la capacidad de disolución, similar a la de un líquido, permite la elución de compuestos de elevado peso molecular y baja volatilidad como ocurre en CL (Wright y Smith, 1985). Las principales ventajas de esta técnica son los cortos tiempos de retención que se obtienen y su compatibilidad con la mayoría de los detectores de CG y CL (Barceló, 1991; Berger y col., 1994; Yarita y col., 1994). Otra ventaja, es que el acoplamiento a los detectores de EM es más fácil que en el caso de la CL, pudiéndose inyectar todo el efluente de la columna en la fuente de iones del EM (Smith y Udseth, 1983; Kalinoski y col., 1986; Dost y col., 2000). Como desventaja presentan una fuerte actividad superficial del soporte sólido, que en el caso de solutos poco solubles en la fase móvil como compuestos polares puede producir una alta retención y asimetría en los picos. Estos problemas se pueden solventar con una adecuada selección del fluido supercrítico y adición de modificadores (Shah y Taylor, 1990), elección de la fase estacionaria (Zegers y col., 1994) o con una programación de presión y temperatura (Mol y col., 1991).

La electroforesis capilar (EC) desarrollada a principio de los ochenta, es otra técnica que se ha empleado recientemente en el análisis de residuos de plaguicidas usada recientemente (Claire, 1996; Nemoto y Lehotay, 1998; Aga y col., 1999). Se basa en la separación de compuestos por la movilidad de sus iones, tras aplicar una diferencia de potencial en los extremos de un capilar sumergido en una solución tampón. El principal problema de esta técnica radicaba en su baja sensibilidad para la detección de moléculas pequeñas, pero en la actualidad este problema se ha solucionado con la creación de las llamadas células-z (Lehotay, 1998).

Por último, los métodos de análisis inmunológico son un campo de investigación que ha experimentado un amplio desarrollo en los últimos años (Bouzigé y Pichon, 1998; Hennion, 1998; Thurman y Aga, 2001). En la actualidad el test inmunológico ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), es uno de los más utilizados (Lehotay y Miller, 1994; Kurtz y col., 1995; Hernández y col., 1996; Montoya y col., 2001). Estos test presentan como ventajas su rapidez y especificidad, pero como inconvenientes que no son buenos para análisis de tipo cuantitativo y que sólo están disponibles para un número limitado de plaguicidas (Meulenbergh, y col., 1995).

### **3.6.a Cromatografía de gases(CG)**

La cromatografía de gases ha sido la técnica analítica más utilizada para el análisis de residuos de plaguicidas debido a su alta sensibilidad y selectividad en la separación de sustancias estables a elevadas temperaturas (Brauch, 1993).

Los primeros trabajos se realizaron en pequeñas columnas de vidrio (2 m o menos) de vidrio, rellenas de materiales de distinta polaridad (Lebel y col., 1979; Ambrus, 1981; Luke y Doose, 1983; Mallet y Mallet, 1989).

La introducción de las columnas capilares supuso una importante mejora en cuanto a sensibilidad, resolución y tiempo de análisis (Zenon-Roland y col., 1984). El principal problema del uso de este tipo de columnas radica en la introducción de la muestra de forma que no se sobrecargara la columna y que no se produjera un ensanchamiento de los picos. Para ello se desarrollaron tres formas de inyección: con división de flujo (split), sin división de flujo (splitless) y en columna (on-column), las cuales han necesitado un importante y prolongado estudio hasta llegar a las técnicas utilizadas hoy en día (Grob, 1986 y 1987).

El desarrollo de detectores ha sido paralelo al de las columnas cromatográficas. Los más utilizados en el análisis de plaguicidas en muestras ambientales son los detectores selectivos, como el de nitrógeno-fósforo (AFID ó NPD), captura electrónica (CE) o el fotométrico de llama (FPD), debido a que proporcionan bajos límites de detección y una alta selectividad (Barceló, 1991).

El detector de CE ha sido utilizado para el análisis de plaguicidas clorados (López-Ávila, y col., 1990; Tomkins y col., 1992; Hernández y col., 1993; Miliachiz, 1994; de la Colina y col., 1995; Weichbrodt y col., 2000) o que contengan algún grupo halogenado en su molécula, como es el caso de algunos plaguicidas OPs (Neicheva y col., 1988; Elhag y col., 1989; Lartiges y Garriges, 1995).

Kolb y Bischoff (1974), desarrollaron el detector de NPD en 1974, y desde entonces ha sido ampliamente empleado en el análisis de plaguicidas debido a su alta especificidad y sensibilidad hacia el nitrógeno y el fósforo. Este detector es uno de los más utilizados para el análisis de plaguicidas OPs (Barba y col., 1987; Ahmid y col., 1989; Barceló y col., 1991; Borburgh y Hammers, 1992; Kwakman y col., 1992; de la Colina y col., 1993; Picó y col., 1994; Eisert y Levsen, 1995; Dorea y col., 1996), aunque presenta ciertos problemas en cuanto a funcionamiento y fiabilidad (Draper, 1995). También se utiliza para la detección de plaguicidas nitrogenados, como es el caso de las triazinas y sus derivados (Navarro y col., 2000).

El detector de FPD se ha usado ampliamente, porque da una respuesta muy específica para compuestos que contienen azufre o fósforo en su molécula. Se ha empleado en el análisis de plaguicidas o herbicidas en muestras medioambientales con matrices complejas (Tipler, 1993).

Para la confirmación de la identidad de los compuestos analizados, son muy utilizados los detectores de espectrometría de masas (EM), en sus distintos modos de operar: impacto electrónico (IE), ionización química positiva (IQP) (Durang y Barceló, 1991; Lartiges y Garriges, 1993b) o ionización química negativa (IQN) (Lacorte y col., 1993; Durand y Barceló, 1991; Niessner y col., 1996; Agüera y col., 2000; Ramos y col., 2000; Yokley y Cheung, 2000). La desventaja que presenta esta forma de detección, es una menor sensibilidad que los detectores mencionados anteriormente (Pellizari y col., 1981).

En los últimos años se ha desarrollado una nueva metodología para la espectrometría de masas conocida como trampa de iones, que ha supuesto un importante aumento en la sensibilidad sin tener que renunciar a la adquisición de datos en todo el rango de masas y

que algunos autores han seleccionado como método universal de detección (Lehotay y Eller, 1995; Landrock y col., 1995; Tuinstra y col., 1995; Larsen, 2000).

La EM por IE es una de las técnicas más utilizada (Stan y Heil, 1991; Lacorte y col., 1993; Agüera, 1995; Tanabe y col., 2000), ya que proporciona información sobre la estructura molecular del compuesto y permite confirmar su identidad por comparación del espectro obtenido experimentalmente con el de una librería.

La IQN hace la técnica más selectiva para plaguicidas con grupos electronegativos, como cloro y nitro, y presenta una elevada sensibilidad y selectividad para el análisis de plaguicidas OCIs, OPs y triazinas en muestras ambientales (Nielsen, 1985; Durand y Barceló, 1991).

La CG-EM con IQP se ha aplicado en análisis de compuestos con elevada afinidad protónica, como es el caso de los plaguicidas OP (Lartiges y Garrigues, 1993) y triazinas (Durand y Barceló, 1991). Esta técnica es muy sensible para este tipo de compuestos (Stan y Kellner, 1989), pero suele ser menos selectiva que la IQN (Lacorte y col., 1993).

Las técnicas de ionización química presentan el inconveniente de que existen pocas librerías de espectros de masas, y cada laboratorio debe crear la suya propia, debido a que factores instrumentales como temperatura de la fuente, o presión del gas de reacción influyen de forma decisiva en los espectros obtenidos.

Aún siendo las más utilizadas tanto la CG como la CL, presentan una serie de inconvenientes como la excesiva duración de los análisis, en la inyección de los extractos se reduce el rendimiento del procesamiento de la muestra, necesidad de limpiar la muestra para reducir las interferencias por la matriz y el elevado costo y tamaño de los instrumentos (Lehotay, 2001).

En CG la investigación en la reducción del tiempo de análisis ha dado lugar a la denominada CG-EM de Alta Velocidad (van Es, 1992; Matisová y Šimekova, 2001) existiendo al menos 4 nuevos métodos en la actualidad basados en esta técnica (Lehotay, 2001):

- El uso de columnas microperforadas con tiempo-de-vuelo (TOF) EM.
- Uso de programas de temperatura de columnas rápidas (flah- CG-EM).
- Uso de (LP)-CG-EM de baja presión para ayudar a las separaciones en el caudal creciente. Esta técnica utiliza una columna mega-perforada relativamente corta (10 m) como columna analítica.
- Uso del rayo molecular supersónico (SMB)-EM, que puede aceptar caudales mayores y columnas más cortas. Esto se consigue con una microperforación entre la salida del CG y el EM. De estas cuatro nuevas técnicas (SMB)-EM es el único que no se ha comercializado en la actualidad.

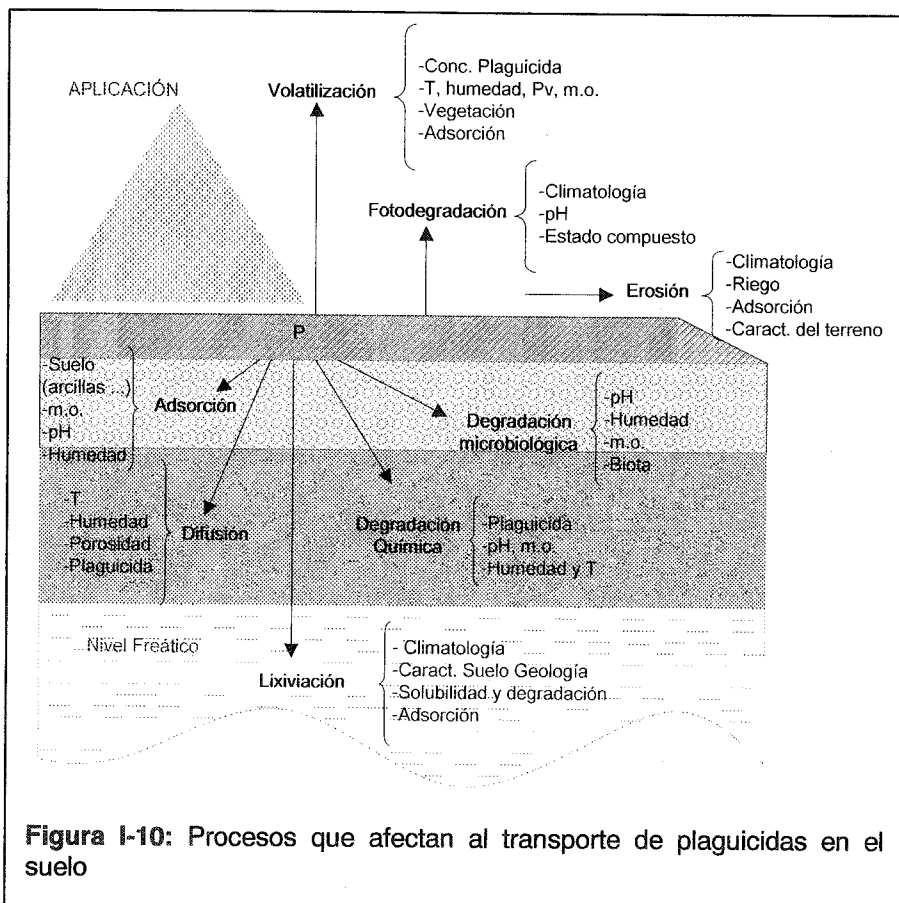
Hoy en día, se están realizando otras investigaciones encaminadas a agilizar el proceso de análisis, como por ejemplo la introducción de grandes volúmenes de muestra (Grob y

Fröhlich, 1993; Beltrán y col., 1997a y b), o de inyectores a temperatura programada (PTV) (Vincze y Yinon, 1996). La forma de análisis conlleva la utilización de un sistema cromatográfico que minimice el efecto de la matriz, para lo cual se emplean unos filtros en el inyector como el denominado "Carbofrit" (Mocholí, 2001). Sin embargo una de las desventajas de estos métodos es la existencia de contaminaciones y que el coste del instrumental necesario es elevado (Lehotay, 2001).

Frente a estos nuevos métodos más costosos que los tradicionales, se están desarrollando otros como el de introducción directa de la muestra o DSI (Jing y Amirav, 1997; Lehotay, 2000 y 2001).

## 4 Movimiento de Plaguicidas en el suelo

La presencia de plaguicidas en los suelos agrícolas tiene tres formas de entrada fundamentalmente. Una es la aplicación directa sobre las partes aéreas de las plantas para combatir plagas, en estos casos aproximadamente un 50 % del producto se deposita directamente en el suelo y parte del aplicado sobre la planta es arrastrado hacia el suelo por acción del viento o de la lluvia. Otra es la aplicación directa sobre el suelo, como es el caso de nematocidas y herbicidas. Por último en menor proporción, pueden proceder de restos de vegetales que quedan en el suelo al recolectar el cultivo, y del arrastre de restos de agroquímicos que se encuentren suspendidos en la atmósfera.



Generalmente los caminos de entrada de un plaguicida en el suelo suelen ser fisuras naturales o grietas, como consecuencia de procesos pedogénicos, o causados por la acción de la vegetación y fauna presentes (lombrices, insectos o raíces de plantas). Las actuaciones del hombre sobre el terreno (pozos y otras estructuras similares) también pueden conducir a la entrada de los plaguicidas y otros contaminantes en el suelo.

El plaguicida una vez depositado en el suelo, entra en un ecosistema dinámico en el que se degrada "in situ", o se mueve desde su situación inicial a otros sistemas. El movimiento de los plaguicidas en el suelo puede realizarse mediante procesos de lixiviación, difusión, volatilización, erosión, absorción por la planta y asimilación por microorganismos .... etc. (Figura I-10).

Entre los factores que afectan la movilidad de los plaguicidas se encuentran:

- Las características del plaguicida.
- Las características del suelo.
- Fenómenos de adsorción.
- Mecanismos de degradación.
- Otros factores (vegetación, climatología, hidrogeología, modo de aplicación, etc.).

#### 4.1 Características del plaguicida

Para evaluar el potencial de un plaguicida para moverse en superficie o hacia las aguas subterráneas es necesario determinar una serie de parámetros característicos de cada plaguicida, como solubilidad, volatilidad, persistencia ... etc. (Tabla I-7).

##### SOLUBILIDAD

La tendencia de un producto químico para disolverse en agua se expresa mediante su *solubilidad*.

Aquellos plaguicidas cuya solubilidad en agua se encuentra por debajo de  $30 \text{ mg L}^{-1}$  son considerados como poco móviles. Por el contrario, valores superiores a  $30 \text{ mg L}^{-1}$  poseen un riesgo potencial de alcanzar las aguas subterráneas, a no ser que su velocidad de degradación y coeficientes de adsorción al suelo sean altos.

Si se aplica un plaguicida poco soluble al suelo, pero al mismo tiempo se adsorbe poco, existirá un riesgo potencial de contaminación por fenómenos de escorrentía (runoff) o erosión superficial. Por tanto, se ha de relacionar la solubilidad del plaguicida con los fenómenos de adsorción y el tipo de suelo sobre el que se aplica para determinar la importancia de su movimiento en el suelo.

## VOLATILIDAD

Es el potencial que tiene un plaguicida para volatilizarse, es decir transformarse en gas. Está muy relacionada con la solubilidad, ya que compuestos muy solubles en agua pueden permanecer en el suelo aunque su presión vapor sea alta. Es por esta razón por la llamada constante de Henry ( $H_c$ ) dividiendo la presión de vapor por la solubilidad del producto.

Un valor alto de esta constante indica una tendencia del plaguicida a volatilizarse y perderse en la atmósfera, pero depende de factores como concentración, contenido en agua, poder de adsorción del suelo, velocidad de difusión, temperatura y velocidad del aire.

En general las pérdidas son mayores en suelos húmedos que en suelos secos, cuando las temperaturas son elevadas y cuando el plaguicida no se encuentra fuertemente adsorbido. También depende de la concentración del plaguicida en el suelo y del contenido en m.o. del mismo, siendo mayor cuanto más alto sea el valor de ambos factores. La existencia de vegetación es un factor determinante, ya que su presencia disminuye este fenómeno.

Para la mayoría de los plaguicidas las pérdidas por volatilización son insignificantes en comparación con las debidas al movimiento del plaguicida a través del suelo (percolación) o las pérdidas superficiales. El principal camino de pérdida atmosférica de un plaguicida es a través de "drift" o dispersión bajo condiciones de viento. Este efecto es especialmente importante cuando la aplicación se lleva a cabo con formulaciones tipo bajo ó ultrabajo volumen (UBV), ya que dado su pequeño tamaño son fácilmente dispersables por el viento a grandes distancias.

Burhard y col. (1981) estudian el grado de volatilización de metidation, encontrando que a las concentraciones ensayadas (35 °C, 12% humedad) este insecticida se puede considerar como no volátil.

La volatilización es en ocasiones uno de los principales mecanismos de eliminación de un contaminante orgánico del suelo (Wilson y col., 1999). Samuel y col. (1990) demuestran que la degradación de hexaclorociclohexano es mayor en los países tropicales, debido a la pérdidas que sufre este compuesto por volatilización dadas las elevadas temperaturas existentes en estas zonas.

## PERSISTENCIA

La persistencia de un compuesto se puede definir como el tiempo de residencia de una especie química en un determinado compartimento del medio (Greenhalgh, 1980).

Una forma clásica de estimar la persistencia de un contaminante en el medio ha sido a través del tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ). Se define como el tiempo que se requiere para que su concentración se reduzca a la mitad. Depende de muchos factores, como la estructura química del compuesto, temperatura, características del suelo y cantidad de luz solar (en el caso de que sufra degradación de tipo fotoquímica).

Las propiedades del suelo afectan la degradación del plaguicida de muchas formas. En general cuanto mayor sea el contenido en m.o. y la capacidad para retener la humedad de un suelo, mayor será la degradación del plaguicida en ese suelo. Por esta razón las capas superficiales del suelo son química y biológicamente más reactivas, y una vez que el plaguicida ha traspasado la zona radicular, la velocidad de degradación es más lenta debido a la disminución de la actividad microbiológica.

Un tiempo de vida media largo indica que el plaguicida persistirá en el medio y constituirá un riesgo potencial de contaminación de las aguas superficiales o subterráneas.

En general los más persistentes son los plaguicidas organoclorados (OCIs), y entre ellos los fenilbencenos altamente sustituidos. Los plaguicidas OPs suelen ser menos persistentes que los OCIs.

**Tabla I-7:** Criterios de percolación en un plaguicida (de la Colina, 1996).

Propiedad	Criterio de percolación
Solubilidad en agua	> 30 ppm
Adsorción en suelo: $K_d$	< 5
Adsorción en suelo: $K_{oc}$	< 300-500
Constante de Henry: $H_c$	< $10^3 \text{ Pa m}^{-3} \text{ mol}^{-1}$
$t_{1/2}$ : Hidrólisis	> 25 semanas
$t_{1/2}$ : Fotólisis	> 1 semana
$t_{1/2}$ : Metabolismo aeróbico en el suelo	> 2-3 semanas
$t_{1/2}$ : Estudio de campo	> 2-3 semanas
Profundidad de percolación en estudios de campo	> 75-90 cm

## 4.2 Características del suelo

El suelo se puede considerar como un sistema abierto, dinámico, constituido por tres fases: sólida, líquida y gaseosa. La fase sólida está formada por componentes inorgánicos y orgánicos, que dejan un espacio de huecos (poros, galerías, grietas y otros) en el que se hallan las fases líquida y gaseosa.

El volumen de huecos está ocupado parcialmente por agua, como componente principal de la fase líquida, que puede llevar iones y sustancias en solución o en suspensión; por aire, que constituye la fase gaseosa o la denominada atmósfera del suelo y por las raíces y organismos que viven en el suelo. De estas tres fases, la sólida es la más importante en los procesos de adsorción, y dentro de ella las fracciones coloidales: arcillas y m.o., y los óxidos e hidróxidos de hierro. Los elementos orgánicos constituyen la fracción minoritaria del suelo, y los minerales la fracción mayoritaria.

Los elementos orgánicos, están formados por una fracción con estructura organizada y por otra fracción en estado muy fino, coloidal y sin estructura clara.

Los elementos minerales se dividen en no alterados o fracción gruesa, y alterados o fracción fina del suelo. La fracción fina del suelo corresponde a las partículas cuyo tamaño es inferior a 2  $\mu\text{m}$ , y está formada por una mezcla heterogénea de distintos minerales, entre ellos las arcillas. En la fracción fina, que confiere las propiedades fisicoquímicas al suelo, es en donde se producen los intercambios de metales y es la principal responsable de los fenómenos de adsorción.

El proceso de difusión es aquél por el que el plaguicida se traslada en el suelo debido a la propia energía térmica del compuesto. Hace que el plaguicida pase de zonas de alta concentración a zonas de menor concentración, siendo la movilidad de un plaguicida debida a este proceso muy pequeña. Los procesos de difusión tienen lugar en las fases gaseosa y líquida del suelo y los factores que intervienen en este proceso son, temperatura, solubilidad, presión de vapor y grado de adsorción del plaguicida, contenido de agua y porosidad del suelo. De todos estos factores los más influyentes son adsorción, temperatura y contenido de humedad del suelo. Cuando la adsorción es alta, y la humedad y temperatura son bajas, el proceso de difusión es menor (Beck y col., 1996).

### TEXTURA DE LOS SUELOS

Las diferentes fracciones del suelo son separadas por métodos granulométricos. En la Tabla I-8 aparecen las características granulométricas de cada una de las fracciones.

**Tabla I-8:** Fracciones granulométricas existentes en un suelo (Porta y col., 1994).

Fracción	Tamaño
Gravas	> 2 mm
Arenas	0,2 mm - 50 $\mu\text{m}$
Limos	50 - 2 $\mu\text{m}$
Arcillas	< 2 $\mu\text{m}$

El tipo de suelo es el principal factor que determina la cantidad de agua que percola. Suelos con alto contenido en arena y gravas (texturas gruesas) presentan una alta capacidad de infiltración, y el agua se infiltra antes que se produzcan fenómenos de escorrentía superficial. Por tanto, suelos con texturas gruesas presentan un alto potencial de infiltración para los plaguicidas hacia las aguas subterráneas, y un potencial bajo de pérdida superficial.

Los suelos con texturas finas, como los arcillosos y franco arcillosos, tienen bajas capacidades de infiltración, y en ellos se pueden producir fenómenos de escorrentía superficial. Sin embargo, este tipo de suelos también pueden tener poros grandes (formados bien por encogimiento cuando se secan, por lombrices o por las raíces de las plantas), a través de los cuales se pueden introducir los plaguicidas (Weber y Whitacre, 1982; White y col., 1986; Basham y col., 1987).



## ARCILLAS

Las arcillas constituyen unas de las fracciones más finas del suelo, y juegan un papel muy importante en los fenómenos de adsorción (Wolfe y col., 1990). Después de haber experimentado una serie de procesos que reducen su diámetro a menos de 2 micras, dan lugar a un material muy complejo integrado en su mayor parte por tetraedros de sílice, silicatos de aluminio hidratados, y en menor proporción óxidos de hierro y aluminio y residuos muy finos de cuarzo y caliza.

Una de las principales características de las arcillas es su estructura laminar, que les confiere una gran superficie específica, y su carga negativa, que hace que atraigan iones positivamente cargados. Al mismo tiempo que estas partículas arcillosas se acoplan en superficie, se unen moléculas de agua que son aportadas por los cationes adsorbidos en las interláminas, ya que en muchos casos están hidratados. Los cationes adsorbidos son fácilmente desplazables por intercambio catiónico, siendo éste uno de los fenómenos más importantes que se producen en el suelo y por el cual los plaguicidas se incorporan al mismo. La capacidad de cambio dependerá del tipo de catión que se vaya a incorporar y del tipo de arcilla (Tabla I-9).

Para las arcillas, según que la molécula adsorbida sea eléctricamente neutra o no, se puede decir que existen dos tipos de mecanismos de unión:

- Adsorción de moléculas con carga (o susceptibles de protonarse en el medio), que se realiza mediante cambio iónico, dependiendo de la cantidad de plaguicida adsorbido, del pH de la suspensión y del  $pK_a$  del plaguicida.
- Adsorción de moléculas neutras, que se produce por interacciones entre dipolos y uniones por puentes de hidrógeno; este fenómeno se produce cuando los cationes minerales fijados a la arcilla están hidratados.

**Tabla I-9:** Principales características de las tres familias más importantes de arcillas

	Contenido en Sílice	Propiedades Coloidales	Hinchamiento	Capacidad de Cambio
Caolinita	Pobre	Pocas	Alto	Pequeña
Montmorillonita	Rica	Alta	Intermedio	Alta
ilita	Rica	Intermedia	Variable	Intermedia

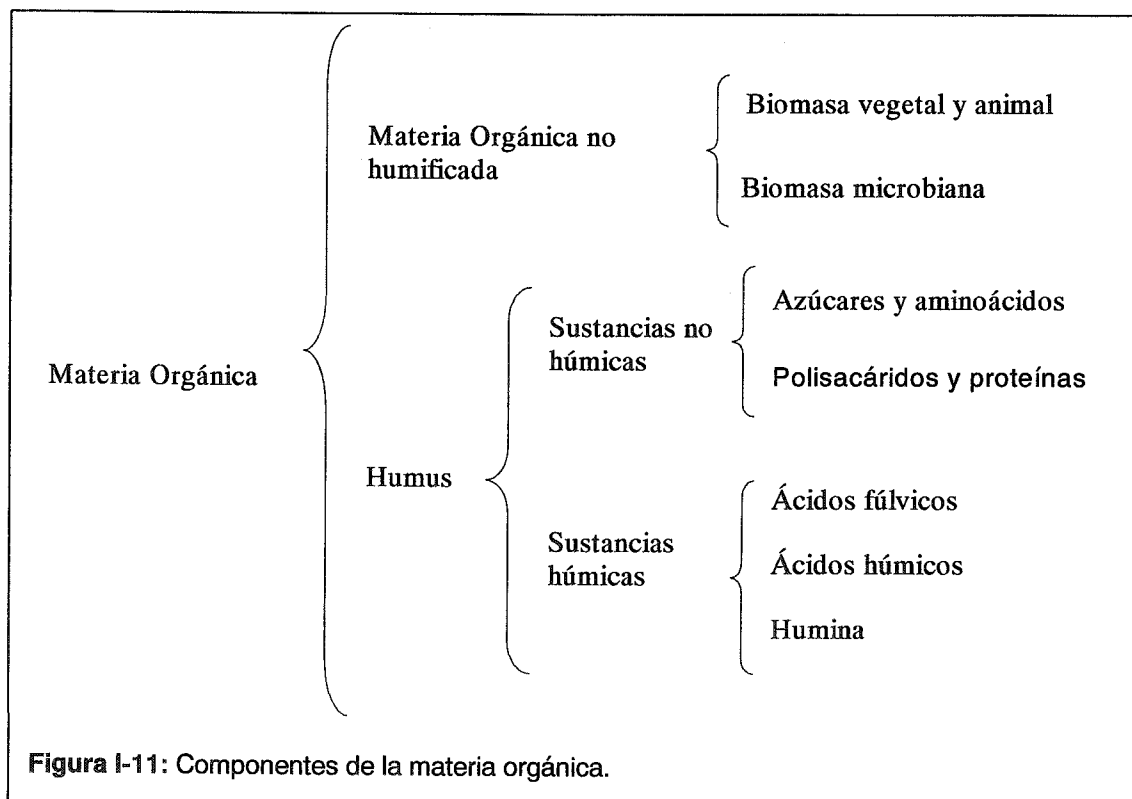
## MATERIA ORGÁNICA (m.o.)

La materia orgánica del suelo desempeña al igual que la arcilla, un importante papel en la adsorción y degradación de los plaguicidas (Ahmad y col., 2001), y su contenido en el perfil del suelo disminuye conforme no alejamos de la superficie (Shapir y Mandelbaum, 1997). Procede de la acumulación y degradación de restos y residuos de plantas y

animales, y es un concepto amplio en el que se incluyen varios componentes, que se pueden resumir en la Figura I-11.

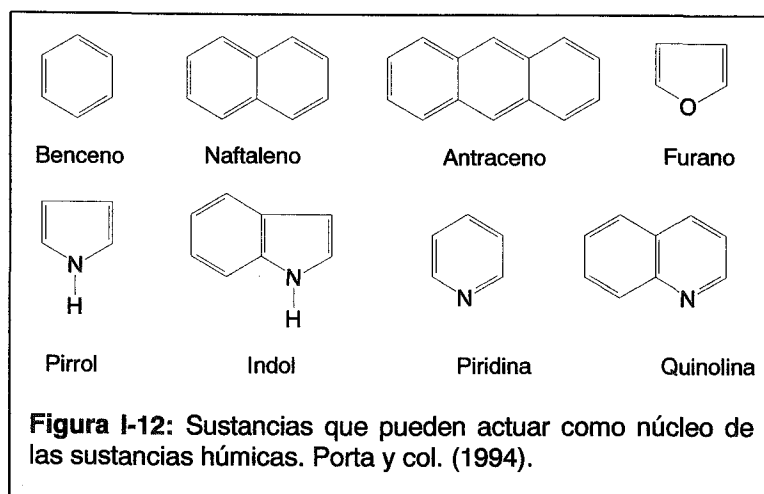
Se entiende por humus del suelo la totalidad de materias orgánicas que, por ser difícilmente degradables, se han acumulado en él después de un conjunto de descomposiciones y transformaciones químicas y bioquímicas. No constituye una sustancia de composición exactamente definida, ni tampoco se considera una agrupación de compuestos en porcentajes determinados. Es un material muy heterogéneo, constituido por un conjunto de sustancias altamente polimerizadas, de alto peso molecular, amorfas y con propiedades coloidales e hidrófobas. Presenta una gran capacidad de adsorción y, al igual que las arcillas, tiene un elevado número de cargas negativas que proceden de la disociación de los grupos carboxílicos, fenólicos y enólicos, y también otros de carácter ácido.

Las sustancias húmicas proceden de la degradación química y biológica de residuos y restos de plantas y animales, y de actividades de síntesis realizadas por los microorganismos del suelo. A su vez se diferencian dos grupos, sustancias no húmicas (azúcares, aminoácidos, etc.) que puede sufrir procesos de mineralización por la actividad microbiana y transformarse en  $\text{CO}_2$  y sustancias húmicas propiamente dichas.

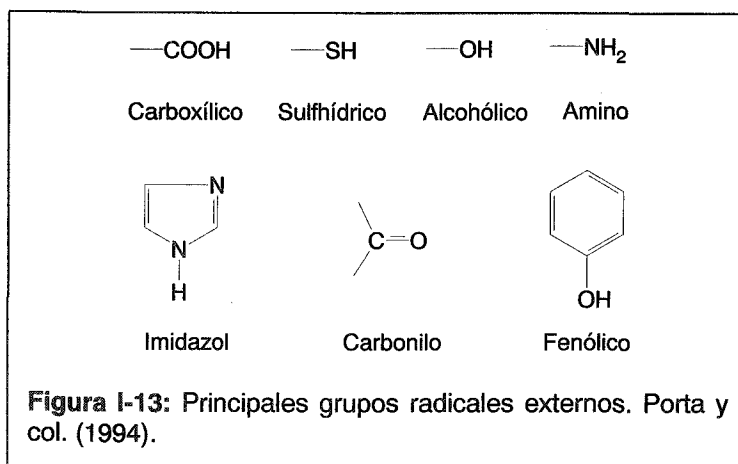


Las sustancias húmicas presentan un núcleo principal de carácter aromático unido en su periferia a grupos radicales que confieren al conjunto sus características químicas y físico-químicas (Figuras I-12 y I-13). Intervienen en las reacciones de intercambio catiónico, presentando una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC). La CIC de

la materia orgánica presenta valores entre 150 y 300 cmol (+) Kg<sup>-1</sup> m.o. seca. Además las sustancias húmicas pueden formar complejos, ya sea directamente o a través de iones metálicos, desempeñando un importante papel tanto en el estado de agregación de las partículas de arcilla del suelo, como en la persistencia y degradación de plaguicidas en el suelo (Porta y col., 1994).



La cantidad total de materia orgánica de un suelo determina el potencial de adsorción de un plaguicida, y éste aumenta con el contenido en materia orgánica, especialmente en el caso de plaguicidas hidrófobos. Pero el grado de adsorción de un plaguicida al suelo también dependerá de la naturaleza de la materia orgánica, ya que la aplicación de m.o. disuelta puede no aumentar la retención de los plaguicidas (Sánchez-Camazano y col., 1996; Iglesias-Jiménez y col., 1997; Celis y col., 1998a, Cox y col., 2000). Báez y col. (2001) encuentran una relación directa entre el contenido en materia orgánica de suelos enmendados con materia orgánica y la adsorción de metabentiazuron en suelo. Además, la degradación se producirá fundamentalmente en las capas superficiales, ya que son las que tienen un mayor contenido en m.o. (Shapir y Mandelbaum, 1997) y en microorganismos (Adams y Thurman, 1991; Fomsgaard, 1995; Kordel y col., 1995; Veeh y col., 1996).



Los suelos que presentan un alto contenido en materia orgánica tienen un bajo potencial de infiltración y de pérdidas superficiales. Además, la materia orgánica es una fuente de energía para los microorganismos, que son los principales responsables de la degradación de los plaguicidas.

### OTROS

Además de la textura, contenido en materia orgánica y composición mineralógica del suelo, hay otros factores importantes como el pH del suelo.

La importancia del pH dependerá de la naturaleza de los compuestos y del tipo de enlaces involucrados en la adsorción.

### **4.3 Fenómenos de adsorción**

La adsorción es la asociación de materia (átomos, moléculas o iones) a las superficies de los sólidos (interfase sólido-líquido) (Porta y col., 1994).

Los plaguicidas pueden asociarse con la materia orgánica por medio de interacciones temporales, tales como puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, enlaces hidrófobos, intercambio catiónico, transferencia de carga o intercambio de ligando. Ahora bien, su persistencia en el suelo a largo plazo se debe a enlaces covalentes entre el plaguicida y los ácidos húmicos (Tate, 1987).

La fitotoxicidad de muchos herbicidas está inversamente relacionada con el contenido en m.o. del suelo, y varía con la naturaleza de ésta. Por esta razón es necesario aumentar la dosis de plaguicida en aquellos suelos con horizontes superficiales más ricos en m.o., ya que el agroquímico pierde actividad (Vaughan y Malcon, 1985).

La materia orgánica del suelo, y en menor extensión las partículas de arcilla, pueden unirse a los plaguicidas. Aquéllos que son fuertemente adsorbidos, no se mueven en el perfil del suelo con el agua que percola, sin embargo, pueden ser transportados por erosión superficial, o por fenómenos de escorrentía y a veces también pueden desorberse de las partículas a las que se encuentran unidos y convertirse en contaminantes de las aguas superficiales.

La tendencia de un plaguicida a ser adsorbido por el suelo se expresa por su coeficiente de adsorción  $K_{oc}$  que se calcula con la expresión:

$$K_{oc} = (\text{conc. adsorbida}/\text{conc disuelta}) / \text{carbono orgánico del suelo} \times 100$$

Valores altos de  $K_{oc}$  (>500), indican que el plaguicida tiende a adsorberse a las partículas del suelo, más que a permanecer en solución en el suelo. Coeficientes de adsorción menores de 500 indican un potencial considerable de percolación del plaguicida (Tabla I-7).

De los distintos componentes inorgánicos del suelo, las esmectitas son las que presentan un mayor potencial para la adsorción de los fitosanitarios, debido a su elevada superficie

específica. La adsorción depende de las características de las superficies de las arcillas y del pH del medio (Laird y col., 1992). Las especies protonadas de plaguicidas y las neutras son adsorbidas por formación de complejos interlaminares (Sánchez Camazano y Sánchez Martín, 1983).

#### 4.4 Degradación de los plaguicidas en el suelo

Los factores citados en los apartados anteriores, determinan la disponibilidad, rapidez de degradación e inactivación del plaguicida, es decir su transformación en otros productos, por lo que la degradación puede ser otro factor que influye en la movilidad de los residuos de plaguicidas en el medio.

La mayoría de los plaguicidas son compuestos orgánicos, que se transforman cuando se encuentran en el suelo o en medio acuoso, bajo condiciones ambientales normales. La degradación se produce mediante varios procesos:

- **Degradación microbiológica:** suelos y plantas mantienen poblaciones de microorganismos que consiguen energía por la degradación de compuestos orgánicos como los plaguicidas. Se distinguen dos procesos importantes:
  - *Mineralización*, en la cual el compuesto se transforma completamente en dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).
  - *Cometabolización*, o proceso de transformación en otros compuestos químicos.
- **Reacciones fotoquímicas** o descomposición por exposición a la luz del sol. Estas reacciones se denominan de fotólisis.
- **Reacciones químicas:** los plaguicidas pueden reaccionar con el aire, agua y otros productos químicos, en el suelo y las plantas a través de reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis.

Los compuestos que se generan suelen ser menos peligrosos que el producto inicial, como dióxido de carbono, pero también en algunos casos dan lugar a metabolitos más tóxicos que el producto de partida.

Normalmente la degradación sigue una cinética de primer orden, la cual presenta una primera fase que puede llamarse de *disipación* y una segunda más lenta denominada de *persistencia*.

En estos procesos influyen tanto las características del plaguicida, como las del suelo, las condiciones de aplicación y condiciones climatológicas e hidrológicas.

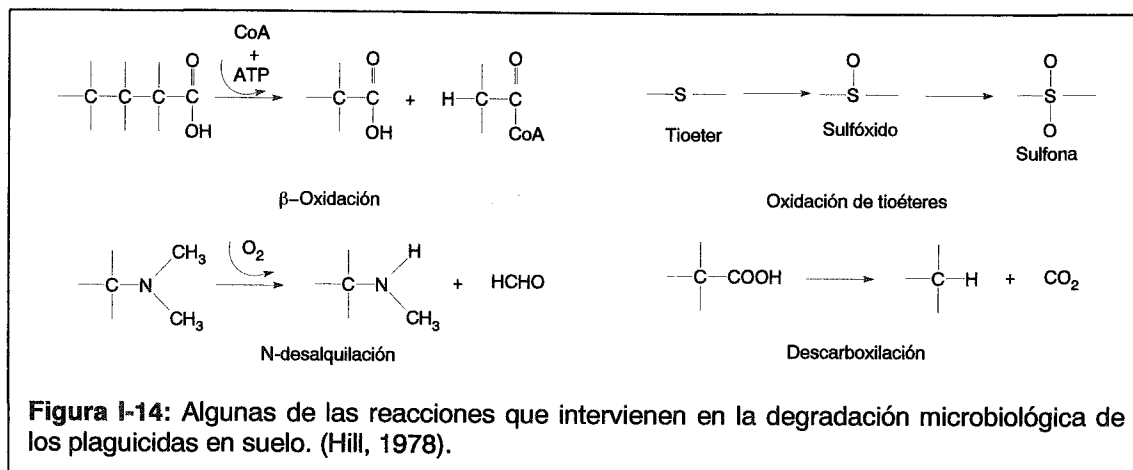
##### 4.4.a Degradación microbiológica

Los microorganismos del suelo son capaces de degradar una amplia variedad de compuestos, desde los más simples como polisacáridos, aminoácidos, proteínas, lípidos,

etc., a los más complejos como residuos de plantas, aceites o ceras. La mayoría de los plaguicidas son degradados rápidamente en el medio sobre el que se aplican, incluso bajo condiciones de aplicación repetitivas. La degradación microbiológica es una de las principales formas de degradación de los plaguicidas en el suelo (Bourne, 1978; Alexander, 1994; Robertson y Alexander, 1994; Gisi y col., 1997; Cullington y Walker, 1999; Crecchio y col., 2001), e incluso puede convertirse en un problema, ya que la adición de plaguicidas al suelo puede estimular la microflora de forma que cada vez sean necesarias dosis mayores de éste o incluso sea poco eficaz su efecto (Suett y col., 1996; Bending y col., 2001).

Este tipo de degradación dependerá tanto de las características del suelo como de las del compuesto. En suelo y agua este tipo de transformación se verá afectada por condiciones climatológicas (temperatura, precipitación, viento e iluminación) (Dakhel y col., 2001), las características del suelo (m.o., pH, superficies minerales, nutrientes) (Malkomes, 1992; Wardle, 1992; Beulke y Malkomes, 1993 y 2001) y la biota (flora y fauna; macro- y micro-) (Hill, 1978; Wardle, 1992). Entre las características del plaguicida cabe destacar su estructura química, y los componentes que intervienen en la formulación (Hill, 1978).

Las principales reacciones que intervienen en la degradación de este tipo de compuestos son la  $\beta$ -oxidación, desalquilación oxidativa, oxidación de tioéteres, descarboxilación, epoxidación, hidroxilación aromática, rotura de anillos aromáticos heterocíclicos y no heterocíclicos, hidrólisis y reacciones de halogenación.



En el caso de los insecticidas OPs, los principales procesos de degradación en suelos son de tipo hidrolítico u oxidativo. Las reacciones de tipo hidrolítico son muy comunes en el medio microbiológico, ya que muchos organismos excretan enzimas hidrolíticas (exoenzimas) fuera de las células que son las responsables de estos procesos degradativos (Matsumura y Benezet, 1978).

González y col. (1992), estudian la incidencia de metilación en las poblaciones microbiológicas de un suelo de la Vega de Granada, encontrando que éstas aumentan cuando lo hace la concentración de insecticida que se aplica al suelo.

#### 4.4.b Fotodegradación

La fotodegradación es el proceso en el cual la luz ultravioleta (UV) o visible es capaz de transformar a algunos compuestos, entre los que se encuentran los plaguicidas (Crosby, 1970).

Cuando la radiación adsorbida por la molécula es la que origina la formación de nuevas especies se la denomina *fotodegradación directa*. La fotólisis directa requiere que el espectro de absorción de la molécula coincida con el espectro de la radiación solar de la zona ultravioleta visible (Wolfe y col., 1990).

Cuando la radiación da lugar a la formación de especies excitadas o radicales libres que son los responsables de procesos de ruptura, se la denomina *fotólisis indirecta*. A los compuestos que dan lugar a la formación de estas especies se les denomina *fotosensibilizadores* (Wolfe y col., 1990), y entre ellos se encuentran minerales de arcillas (Katagi, 1990), las sustancias húmicas (Gohre y Miller, 1983) y algunos metales de transición (Zepp, 1988).

La oxidación es el principal proceso fotolítico en la superficie del suelo (Miller y Crosby, 1983; Gohre y Miller, 1986) aunque todavía se desconocen muchos aspectos de este fenómeno (Wolfe y col., 1990; Romero y col., 1998). La mayoría de las sustancias oxidantes que se forman en la troposfera han sido identificadas, y entre ellas se encuentran el oxígeno singlete, el ión superóxido, oxirradicales, ozono, peróxido de hidrógeno y radicales aquilperóxido e hidroxilo (Mill, 1989). La totalidad de estos radicales han sido detectados en aguas superficiales a muy bajas concentraciones, siendo el oxígeno singlete y los oxirradicales los que juegan un papel más importante en este tipo de procesos en el agua (Mill y col., 1989).

Poco se conoce sobre la presencia de oxidantes en suelo, aunque se ha demostrado la presencia de oxígeno singlete (Gohre y Miller, 1983; Gohre y col., 1986), y la de ozono como el responsable de la degradación de paration en suelos irradiados (Spencer y col., 1980a y b).

La fotólisis en suelos dependerá de la profundidad (Herbert y Miller, 1990), de la textura del suelo, y del contenido en m.o. (Takahashi y col., 1985; Zepp, 1988; Romero y col., 1998), de la humedad del suelo (Smith y col., 1978; Burkhard y Guth, 1979) y de la temperatura (Liberti y col., 1978).

#### 4.4.c Degradación química

La degradación química y microbiológica están íntimamente relacionadas, y es muy difícil establecer una separación entre ambas a no ser que las condiciones de trabajo sean tales que el medio se encuentre totalmente estéril y, por tanto, no existan microorganismos.

Los plaguicidas pueden sufrir un gran número de transformaciones de tipo químico en el suelo que dependen tanto de las características físicas y químicas del plaguicida como de las del suelo.

El grado de humedad del suelo tiene una gran importancia, ya que el agua desempeña un papel muy importante en la mayoría de las reacciones, ya sea como medio de reacción, como reactivo o ambas formas al mismo tiempo.

Los procesos de oxidación e hidrólisis son los más frecuentes, y los que dan lugar a un mayor número de transformaciones. Otros procesos que también pueden ocurrir son reacciones de reducción, isomerización, deshalogenación, desalquilación, y reacciones con radicales libres.

En todas estas reacciones pueden intervenir como catalizadores la superficie de las arcillas, óxidos metálicos, iones metálicos y la superficie de las sustancias húmicas, así como otros materiales orgánicos. Además pueden estar muy influenciadas por la cantidad y tipo de microorganismos del suelo, del tipo *Pseudomonas*, *Micoplasma*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, etc., presentes normalmente en los suelos agrícolas.

Entre los factores que pueden afectar a la degradación química y microbiológicas tenemos:

1. Naturaleza del plaguicida.

- Los plaguicidas de tipo iónico se degradan más fácilmente que los no-iónicos, debido a que son más solubles en agua y se adsorben mejor por la materia orgánica. Dentro de los plaguicidas de tipo iónico, los aniónicos son a su vez más fácilmente degradados que los catiónicos, ya que se adsorben mejor a las partículas coloidales del suelo.
- Las porciones alifáticas de las moléculas orgánicas se degradan más fácilmente que las aromáticas. Por otro lado, la posición de los sustituyentes en los anillos aromáticos es un factor que afecta a la degradación de este tipo de compuestos.
- Las moléculas no-iónicas con halógenos activos se degradan fácilmente mediante un mecanismo nucleófilo-hidrolítico.
- Los compuestos con un estado de oxidación alto sufren fundamentalmente reacciones de reducción en condiciones anaerobias, y no se degradan en condiciones aerobias.
- Los compuestos con un alto estado de reducción se degradan mejor bajo condiciones oxidantes que bajo condiciones reductoras.

2. Factores climáticos. Los factores que más influyen son la temperatura y la humedad. Un incremento de la temperatura aumenta generalmente la degradación, ya que esto aumenta la actividad microbiológica y la desorción de los compuestos adsorbidos. Niveles de humedad altos también potencian la degradación, porque incrementan la actividad microbiana y la adsorción coloidal.



3. pH. El efecto del pH dependerá de las características del compuesto. Los plaguicidas organosforados se degradan más fácilmente a valores de pH altos, igual que en el caso de los iónicos.
4. La materia orgánica. El papel que juega la materia orgánica dependerá del compuesto que se esté estudiando. Por un lado puede aumentar la adsorción del plaguicida y protegerlo de esta forma de la degradación, pero por otro lado, si el plaguicida está débilmente adsorbido puede producir un aumento de la actividad microbiológica y favorecer la degradación (Ref).
5. Presencia de arcillas y cationes metálicos, que pueden catalizar las reacciones de degradación, o por el contrario retardarla. En el caso de los plaguicidas iónicos la presencia de aluminio retarda la degradación, debido a que se favorece la adsorción del plaguicida (Ref.).

#### 4.5 Otros factores

El modo de aplicación de los plaguicidas al suelo es uno de los factores que más influyen en la percolación del plaguicida en el suelo, sobre todo cuando se aplican de forma directa sobre el suelo. Una frecuencia de aplicación alta, unida a una alta irrigación, son dos hechos que pueden aumentar la lixiviación hacia las aguas subterráneas (Ref.)

La presencia de vegetación influye en la degradación de los plaguicidas, al disminuir las reacciones de fotólisis y las pérdidas por volatilización, además de reducir la capacidad de retención de agua en el suelo, lo cual afecta a los procesos de adsorción. La adsorción por las plantas se produce vía radicular, y siempre que el grado de adsorción al suelo no sea muy elevado puede limitar la movilidad de los plaguicidas.

El tipo de formación geológica que subyace bajo la superficie sobre la cual se aplican los plaguicidas, afectará a su movimiento, y por tanto a la contaminación de las aguas subterráneas. Las formaciones rocosas impermeables al agua, previenen la recarga y protegen al acuífero. Por otro lado, algunas formaciones que contienen fracturas, pueden actuar como canales de contaminación del acuífero y facilitan el movimiento del plaguicida en el perfil del suelo (Flury y col., 1994). Si la capa freática se encuentra a poca profundidad, existe un mayor riesgo de contaminación que si se encuentra a una distancia mayor de la superficie.

Por último, el movimiento de un plaguicida en el perfil del suelo (lixiviación) depende en gran parte de factores climatológicos externos, como son el régimen de lluvias y vientos, y la temperatura. La lluvia puede actuar eliminando el plaguicida del lugar donde fue aplicado, si esta se produce de manera muy fuerte y justo después de su aplicación. Las temperaturas elevadas favorecen los procesos de volatilización, que disminuirán la percolación del plaguicida en el perfil del suelo. Pero también dependerá de la mayor o menor degradación que sufra el compuesto, de sus posibilidades de adsorción a los coloides del suelo y de la solubilidad en agua del compuesto, así como de las características del suelo.

## 5 Medidas preventivas en la contaminación por plaguicidas: adición de enmendantes

La tendencia actual en la prevención de la contaminación por plaguicidas, es la de crear indicadores que evalúen el riesgo de su utilización, y permitan a los usuarios tener herramientas de decisión sobre su uso (Reus, y col., 2000). La creación de métodos para evaluar el riesgo del empleo de agroquímicos es necesaria debido a su elevado consumo a nivel mundial (2,1 millones de toneladas en 1995), y su continuo crecimiento (Levitan, 2000). Sin embargo, uno de los problemas que presenta el uso de estas herramientas es que están basadas en las características de los países del centro y norte de Europa, en los que se dan unas condiciones muy diferentes a los países mediterráneos como España (Ramos y col., 2000; Reus y Leendertse, 2000).

El propósito de estas herramientas es que los sectores implicados en la aplicación de plaguicidas, seleccionen aquellos productos que presentan un menor riesgo para la salud humana y el medio (Mourato y col., 2000).

Hay numerosos trabajos sobre cómo recuperar suelos contaminados con compuestos orgánicos, incluyendo los plaguicidas. Fox (1996) hace una revisión sobre los tratamientos físicos y químicos que se pueden utilizar en suelos contaminados. Los procedimientos de descontaminación se dividen en técnicas *in situ* y *ex situ*. Entre las técnicas *in situ* existentes se puede destacar la aplicación de vapor como extractante, la construcción de pozos a través de los cuales se extrae el contaminante o la aplicación de calor al suelo. Los procedimientos *ex situ* utilizan métodos de lavado, extracción o incineración, entre otros. Todas estas técnicas presentan como desventaja su elevado costo y dificultad de los procedimientos.

También ha sido muy estudiada la adición de bacterias y otros microorganismos para la degradación de plaguicidas en suelos y aguas (Hallas, y col., 1992; Gisi y col., 1997; Kök y col., 2000; Bordjiba y col., 2001; Topp, 2001).

En cuanto a la prevención de la contaminación por plaguicidas de las aguas subterráneas, las medidas se deben de encaminar hacia la protección de la salud pública y del medio ambiente, minimizando el movimiento del plaguicida hacia las aguas subterráneas y el mantenimiento derivado de las prácticas agrícolas (Honeycutt y col., 1994). La mayoría de estas medidas se basan en programas de aplicación correcta y buen uso de los plaguicidas, y entre estas medidas podemos destacar:

- La aplicación de las dosis adecuadas, respetando los plazos establecidos (de Liñán, 2000).
- Que el lavado del equipo de aplicación se realice en zonas alejadas de pozos, y donde no exista riesgo de contaminación de éstos.
- Almacenamiento de los recipientes que contienen los productos fitosanitarios en lugares controlados, lejos de pozos y otras zonas de riesgo.

- Almacenamiento de recipientes vacíos que hubieran contenido plaguicidas, hasta su posterior depósito en contenedores apropiados.
- No realizar la mezcla de los plaguicidas cerca de pozos.
- Inspección de pozos y otras zonas de riesgo, cerrando de forma apropiada los que ya no se encuentren en uso para impedir que se conviertan en una forma de entrada rápida de contaminantes hacia las aguas subterráneas.
- Programas educativos sobre manejo de plaguicidas.

Igualmente se está potenciando la utilización de otros métodos que reduzcan el uso de plaguicidas (control integrado de plagas, rotación de cultivos, etc.).

En un estudio realizado por la Agencia Americana de Protección Ambiental se hizo el seguimiento de pozos de agua potable en 50 estados durante 5 años (U.S. Environmental Protection Agency, 1990 y 1992). Se encontraron plaguicidas en el 10,4 % de los sistemas de agua comunes, y en el 4,2 % de los pozos domésticos. Algunos estudios recientes obtenidos en programas de seguimiento de la contaminación de aguas subterráneas (Chiron y col., 1995; de la Colina, 1996; Lacorte y Barceló, 1996) muestran la presencia ocasional de residuos de plaguicidas en dichas aguas, y que la contaminación origina por problemas puntuales debidos fundamentalmente a las características geográficas de la zona o a un mal uso y aplicación de los plaguicidas Honeycutt, y col., 1994).

La necesidad de conservar la calidad de las aguas de bebida en áreas de especial sequía como puede ser el sudeste español, ha hecho que en los últimos años aumente la investigación dedicada a prevenir o remediar la contaminación de los acuíferos de estas zonas, de las cuales se abastece gran parte de la población (West y Harwell, 1992).

La investigación en la prevención y remediación de la contaminación por plaguicidas, ha sido un tema que ha tenido gran auge en los últimos años (Wagner y col., 1994). La materia orgánica exógena y los surfactantes (Sánchez-Camazano y col., 1995 y 2000; Iglesias-Jimenez y col., 1996; Werkheiser y Anderson, 1996), han sido dos elementos utilizados para aumentar la adsorción al suelo y retardar la migración de los compuestos orgánicos hidrófobos.

Los lodos de depuradora son producidos en grandes cantidades como resultado de la legislación europea, lo que hace que se generen grandes volúmenes y se estén buscando métodos para su reutilización. Tienen entre otras características un elevado contenido en m.o., lo que ha hecho que se utilicen como enmienda en suelos con bajo contenido en m.o. (Rodríguez y col., 1996), como es el caso de la región mediterránea.

Los surfactantes son agentes tensioactivos, que forman parte de la mayoría de los detergentes de uso doméstico. Una de las propiedades que presentan estas sustancias es la de modificar el comportamiento adsorptivo de diversas sustancias.

## 5.1 Surfactantes

Los surfactantes son un grupo de compuestos químicos que se han usado en los detergentes de uso doméstico desde principio de la Primera Guerra Mundial, siendo a partir de la Segunda Guerra Mundial cuando su uso desplaza al de los detergentes tradicionales (Tabla I-10).

**Tabla I-10:** Consumo de detergente en USA (Alloway y col., 1993).

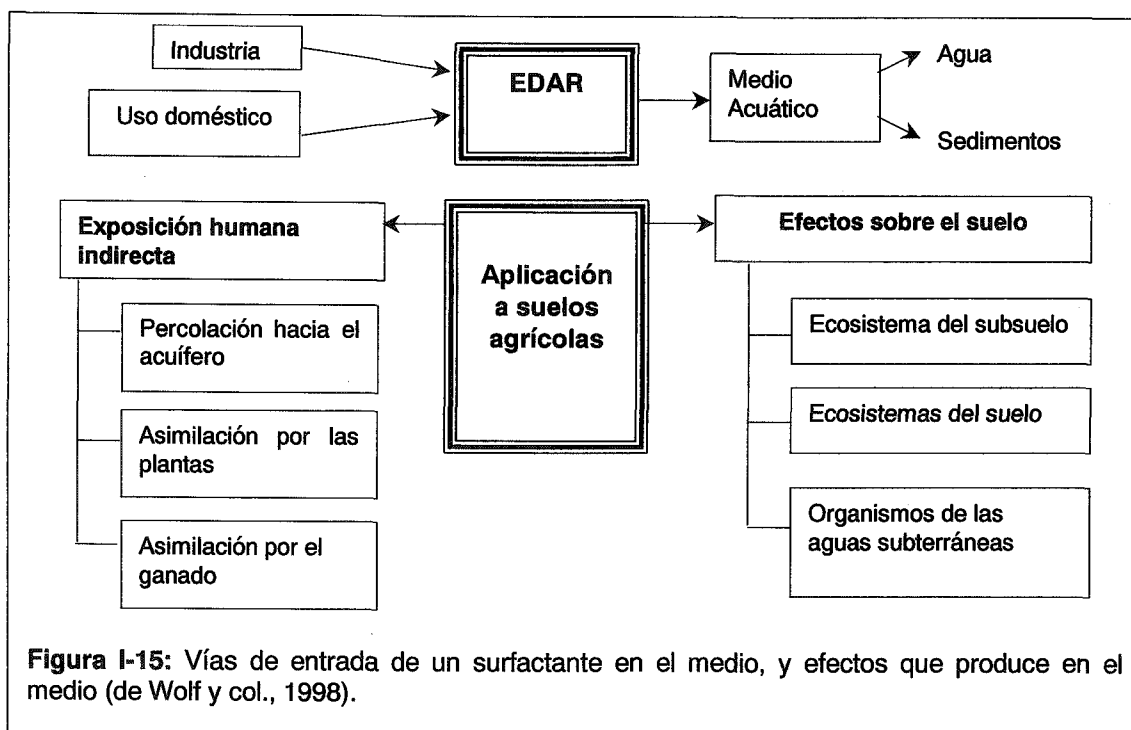
Año	Consumo de Jabón (x10 <sup>3</sup> t)	Consumo de detergentes (x10 <sup>3</sup> t)
1940	1410	4,5
1950	1340	655
1960	583	1645
1972	587	4448
1982	545	5090

La producción anual de surfactantes ronda en la actualidad 15 millones de toneladas por año (Turner y Houston, 1992; Steber y Berge, 1995). Dentro de las distintas clases existentes los de tipo catiónico (usados como suavizantes), son la clase que más ha aumentando su uso (Bragadin y Dell'Antone, 1996). La cantidad de surfactantes catiónicos consumidos en EU ronda las 132.000 t por año, 101.000 en Europa y 25.000 en Japón (Fell, 1991). En la actualidad, debido a la elevada cantidad de surfactantes empleados y a la presencia de éstos en el medio, la Unión Europea ha desarrollado una serie de normativas que regulan su utilización (Hennion y col., 1994).

Debido a su presencia en los productos de uso doméstico, una vez utilizados son vertidos a las redes de saneamiento locales, teniendo como destino las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), (Shcherbakova y col., 1999). Esto los convierte en un componente mayoritario en lodos y aguas residuales municipales (Wild y col., 1990; García y col., 1999). Estas sustancias pueden moverse en el perfil del suelo, y han sido detectadas en las aguas subterráneas tras haber transcurrido un largo periodo desde la aplicación de aguas residuales a las tierras de cultivo (Field y col., 1992). Sin embargo, pocos son los trabajos que analizan la importancia de estas sustancias en el transporte de plaguicidas hacia la zona saturada del suelo y las aguas subterráneas (Huggenberger y col., 1973; Foy, 1999).

Las entradas de surfactantes al medio tienen lugar por varias vías (Figura I-15) : escapes en la red de alcantarillado, fosas sépticas, aplicación de lodos residuales a las tierras de cultivo o por el uso de las aguas de depuradora como agua de irrigación (de Wolf y col., 1998). También son arrojados al medio en menor medida durante la aplicación de plaguicidas, ya que se usan como agentes emulsionables y mojantes en las formulaciones.

Dentro de los surfactantes usados por la industria, los surfactantes aniónicos y no-iónicos son de los más empleados en el mundo, y entre ellos LAS (sodio lauril sulfato), por su alta versatilidad, bajo costo y seguridad desde el punto de vista medioambiental. Debido a esto, es uno de los compuestos orgánicos más abundantes en aguas residuales urbanas (Giger y col., 1988) y en lodos de depuradora (Wild y col., 1990). Existen varios estudios de laboratorio que hablan de comportamiento de LAS en el medio (de Wolf y col., 1998; Foy, 1998; González-Mazo y col., 1996), y llegan a la conclusión de su bajo riesgo medioambiental debido a que se degrada de forma aeróbica.



La concentración de LAS en los lodos es alta (del orden de  $\text{g Kg}^{-1}$  de lodo seco), lo que implica que cuando se aplican a una tierra de cultivo a la vez se añaden cantidades considerables de surfactante. Pero también la percolación hacia las aguas subterráneas es poco probable, y dado que este compuesto se degrada de forma aeróbica, el riesgo medioambiental es bajo (de Wolf y col., 1998).

Estos compuestos se introducen en la investigación de plaguicidas en 1930, una vez conocida su actividad en las superficies y en las interfases. En un principio, se utilizaron para modificar las propiedades físico-químicas de las soluciones de herbicidas y aumentar su efectividad (Foy, 1991). Posteriormente, considerando su efecto en las

propiedades físicas y químicas del suelo (Bayer y Foy, 1982), se han utilizado para modificar la movilidad, adsorción y persistencia de los plaguicidas, y de esta forma disminuir el potencial contaminante en suelo y aguas.

Se ha observado que la movilidad de diuron en el suelo aumenta en presencia de surfactantes de carácter no-iónico, debido a una disminución de la adsorción (Huggenber y col., 1973). Por otro lado Brown y col. (1996), Sánchez-Camazano y col. (1995 y 2000) e Iglesias-Jiménez y col. (1996) demuestran que la adición de surfactantes de tipo catiónico aumenta la adsorción de contaminantes orgánicos. Arosntein y col. (1991) encuentran que la adición de surfactantes no iónicos estimulan la degradación de compuestos orgánicos hidrófobos. Incluso, Hayworth y Burris (1997), demuestran que un surfactante de tipo no iónico puede desplazar a los contaminantes orgánicos hidrofobos de una zona donde, a su vez, otro surfactante catiónico creó zonas adsorbentes.

Son pocos los investigadores que han estudiado el efecto de los surfactantes en la regeneración de suelos contaminados o para evitar el desplazamiento de los residuos de plaguicidas hacia las aguas subterráneas *in situ* (Foy, 1992), sin embargo los estudios de laboratorio son mucho más numerosos (Di Toro y col., 1987; Edwards y col., 1994a y 1994b; Adeel y Luthy, 1995; Ou y col., 1996; Sahoo y col., 1998; Sánchez-Camazano y col., 2000). También se han realizando estudios de laboratorio con los llamados biosurfactantes. Las ventajas de éstos con respecto a los compuestos sintéticos es su bajo impacto medioambiental (Noordman y col., 1998).

En el laboratorio, Parfitt y col. (1995) en experimentos de lixiviación en columnas de suelo contaminado con DDT, encuentran que la adición de surfactantes al agua de lixiviación da lugar a la desorción y solubilización de entre el 25-45 % de los residuos persistentes en el suelo. Werkheiser y col. (1996) descubren que dependiendo del contenido en m.o. del suelo, el surfactante de tipo no iónico Triton X-77 puede aumentar o disminuir la adsorción del herbicida pirimisulfuron.

De la información bibliográfica, se desprende que la movilización/inmovilización de los plaguicidas en el suelo depende de las características del surfactante empleado, del carácter hidrófobo o polar del plaguicida y del tipo de suelo o sedimento. También influye la aplicación del surfactante directamente en el suelo o en el agua de percolación, pudiendo modificar el comportamiento de los plaguicidas en función de la combinación plaguicida-surfactante-concentración que se haga.

### 5.1.a Características y tipos de surfactantes

La palabra surfactante, es una contracción de la frase: *agente activo superficialmente*. Los surfactantes son activos superficialmente porque se concentran en las regiones interfaciales, agua-aire, grasas-agua y sólido-líquido, por ejemplo.

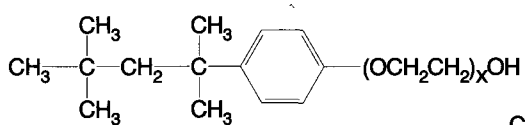
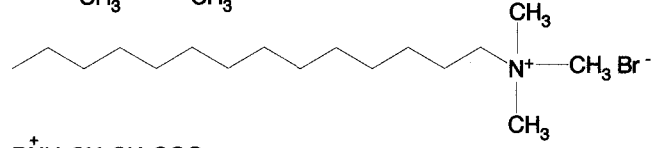
SURFACTANTE	TIPO	ESTRUCTURA MOLECULAR
Sodio dodecilsulfato	Aniónico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$
Triton X-100	No iónico	
Bromuro de tetradecil trimetil amonio	Catiónico	
Ácido B-N-alquilamino-propanoico	Anfótero	$\text{RNH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$

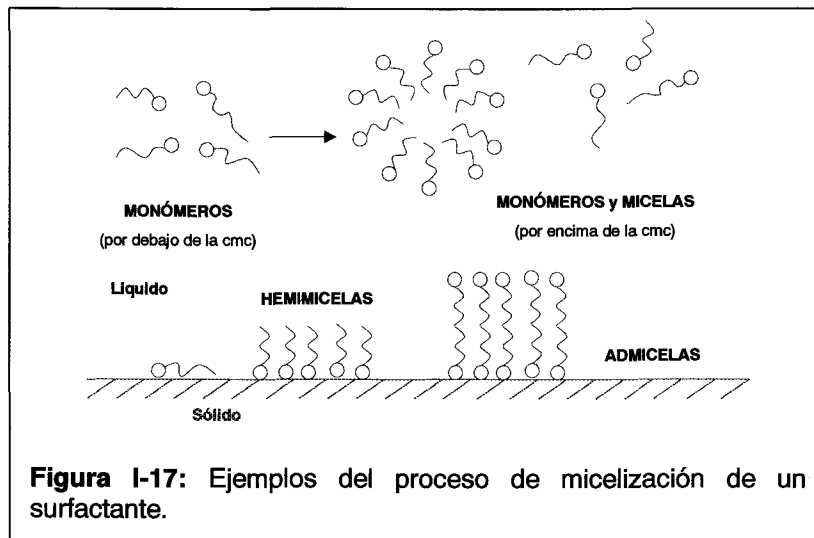
Figura I-16: Ejemplo de cuatro tipos de surfactantes.

La actividad superficial de los surfactantes deriva de su estructura anfifílica (West y col., 1992). Esto significa que en un sistema acuoso un surfactante tiene una parte polar o hidrófila, y otra no polar o hidrófoba, denominadas *cabeza* y *cola* respectivamente.

Los surfactantes se clasifican de acuerdo con la naturaleza hidrófila de la molécula: si el grupo de la cabeza contiene una carga negativa, se denominan *aniónicos*, si tiene carga positiva, *catiónicos*, si presenta ambas (positiva y negativa) "*zwitterionicos*" o *anfóteros*, y si no tiene carga *no iónicos* (Figura I-16). Las diferencias químicas debidas a la naturaleza de las colas hidrófobas (ramificaciones, número de carbonos, anillos aromáticos, etc.) son por lo general menos pronunciadas que aquéllas debidas al carácter hidrófilo del grupo de la cabeza.

Una de las propiedades más interesantes de este tipo de sustancias, es su capacidad para formar agregados moleculares en solución acuosa cuando su concentración supera un valor determinado que se denomina concentración micelar crítica (cmc). Este valor es característico de cada surfactante, y se determina por diversas técnicas: medidas de la tensión superficial, absorbancia, espectrofotométrica (DiVincenzo y col., 1998; Aronstein y col., 1991). A los agregados que se forman cuando se supera la cmc se les denomina *micelas*. Las micelas se pueden representar como una gota esférica (3-4 nm de diámetro), en la que los grupos polares se situarían hacia el exterior, y los grupos hidrófobos estarían orientados hacia el centro del agregado (Figura I-17).

Cuando la solución que contiene los surfactantes se pone en contacto con una superficie sólida como es el suelo, se pueden formar otra serie de agregados debido a aparición de una nueva interfase sólido-líquido. A concentraciones muy bajas, los monómeros de surfactante adsorbidos, comienzan a agregarse y a formar estructuras parecidas a las micelas y que se denominan hemimicelas o admicelas, según se forme una monocapa de estas sustancias o una bicapa (Figura I-14).



Las características hidrófilas del grupo de cabeza, son las que determinan la formación de unas u otras. En los surfactantes de tipo catiónico pueden existir atracciones de tipo iónico entre los grupos de cabeza y la superficie del suelo, que está cargada negativamente en la mayoría de los casos, y completarse una bicapa de surfactante que cubra en parte toda la superficie. Sin embargo cuando la interacción es de tipo repulsivo, como en el caso de los surfactantes de tipo aniónico, la adsorción será muy baja (West y col., 1992).

El valor de la cmc en soluciones acuosas puede ser modificado por la presencia de sales (Clementz y col., 1976), la temperatura (ref. *Punto Kraf* West y Harwell, 1992?) y en presencia de suelo (Di Vincenzo y col. 1996).

### 5.1.b Modo de actuación según el tipo de surfactante empleado

El modo de actuación de los surfactantes será distinto dependiendo de si se aplican a una solución acuosa o al suelo, del tipo de surfactante empleado, del tipo de suelo y de la sustancia sobre la que se quiere actuar.

En todos los suelos se pueden distinguir tres fases distintas: una fase sólida, otra líquida y una gaseosa. Las fases líquida y gaseosa se encuentran en los espacios existentes entre los gránulos del suelo, y en las partículas que lo componen. El que estos poros estén rellenos de agua o gases depende del tamaño poro y de la cantidad de agua en el suelo. Los surfactantes han sido usados en los últimos años para incrementar o ayudar en la infiltración del agua pura, o mezclada con otras sustancias en el suelo y por su



capacidad para reducir la tensión interfacial en las interfases líquido-líquido y sólido-líquido, como es el caso de los surfactantes no iónicos ( Bayer y col., 1982). Una de las fracciones del suelo más importantes que explican los procesos de adsorción en el suelo de estas sustancias, es la arcillosa debido a su pequeño tamaño y a su elevada superficie específica (Law y Kunze, 1966).

Existen, en la bibliografía consultada, numerosos trabajos sobre el comportamiento de los de los plaguicidas y otros contaminantes de tipo orgánico en presencia de surfactantes en distintos tipos de suelos (Huggenberger y col., 1973; Aronstein y col. 1991; Payá-Pérez y col., 1996; DiVincenzo y col., 1996; Sánchez-Camazano y col., 1995; Iglesias y col., 1996) y sobre fracciones minerales del suelo y otro tipo de materiales (Celis y col., 1998; Shen, 2000).

En soluciones acuosas se han empleado para comprobar cómo se modifica la solubilidad de distintos contaminantes orgánicos en presencia de estas sustancias, con el fin de utilizarlos posteriormente en procedimientos de descontaminación de aguas subterráneas (Pennell y col., 1997; Thoren y col., 1997; Jafvert y col. 1994; Butler y col., 1998).

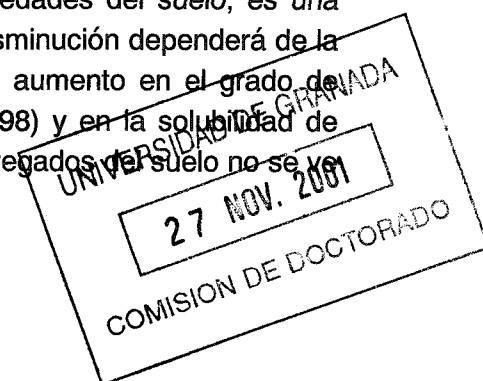
### SURFACTANTES ANIÓNICOS

Los surfactantes aniónicos son aquéllos en los que la parte hidrófoba de la molécula es un anión en solución acuosa. No son adsorbidos fuertemente por el suelo, ya que al pH de la suspensión las moléculas se encuentran disociadas y son repelidas por las cargas negativas de las arcillas o de la m.o. del suelo, aunque en suelos pueden existir uniones de estas partículas mediante fuerzas de van der Waals (Law y col., 1966; Acher y col., 1977) y enlaces hidrofóbos con la m.o. del suelo (Eckelhoff y Hirner, 1998; Abu-Zreig y col., 2000). La existencia de estos enlaces hace que existan dos nuevas fases que son capaces de adsorber a compuestos hidrófobos: monómeros adsorbidos al suelo y micelas en solución (Sánchez-Camazano y col., 2000).

Por esta razón los surfactantes aniónicos, dependiendo de su concentración, se encontrarán adsorbidos al suelo o en la fase acuosa del suelo, y se moverán en el perfil del suelo de la misma forma que lo hace el agua, pudiendo ser transportados a capas profundas o permanecer en la superficie, como cualquier sal soluble.

En los estudios de adsorción de los surfactantes aniónicos al suelo para los alquibenzeno sulfonatos se ha encontrado que existe una relación negativa entre el grado de adsorción y el contenido en m.o. (Di Toro y col., 1987; Ou y col., 1996), y positiva cuando se relaciona con el contenido de arcilla, limo u óxidos de hierro (Litz y col., 1987; Ou y col., 1996).

El efecto que produce este tipo de surfactantes en las propiedades del suelo, es una disminución de la tensión superficial en la fase líquida. Esta disminución dependerá de la concentración empleada, y en consecuencia se producirá un aumento en el grado de humectabilidad del suelo (Law y col., 1966; Sahoo y col., 1998) y en la solubilidad de algunos compuestos de tipo orgánico. La estabilidad de los agregados de suelo no se ve



influenciada por la presencia de este tipo de sustancias, siempre y cuando su concentración sea baja.

Se han hecho ensayos de laboratorio sobre el uso de surfactantes aniónicos para descontaminar suelos de sustancias de origen orgánico (Aronstein y col., 1991; Payá-Pérez y col., 1996) debido a la propiedad que éstos manifiestan para solubilizar compuestos orgánicos hidrófobos (Eckelhoff y Hirner, 1998; Deshpande y col., 1999) y plaguicidas (Sánchez-Camazano y col., 2000).

### SURFACTANTES NO IÓNICOS

Los surfactantes no iónicos están formados por una parte hidrófoba (que puede ser un ácido graso, alcoholes, alquilfenoles, etc.) y otra hidrófila no ionizable, pero de naturaleza polar (cadenas oxietilénicas de longitudes distintas) (Cserhádi y col., 1996).

Una vez en el suelo, los surfactantes de tipo no iónico, se unen a las partículas de arcillas y otras superficies minerales ricas en oxígeno mediante enlaces de tipo polar (puentes de hidrógeno) y enlaces de tipo van der Waals (Pennell y col., 1993; Shen, 2000) y son capaces de desplazar al agua adsorbida. Este tipo de surfactantes tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial del agua (Edwards y col., 1994a), propiedad que se emplea para aumentar el grado de infiltración en suelos hidrófobos. Otra de sus características es que se quedan retenidos en los espacios interlaminares de las arcillas del suelo, y forman una doble capa cuando la cantidad de material es suficiente (Law y Kunze, 1966). La estabilidad de los agregados del suelo mejora con la presencia de este tipo de sustancias a concentraciones elevadas, pero no se afecta si la concentración es baja (Abu-Zreig y col., 2000).

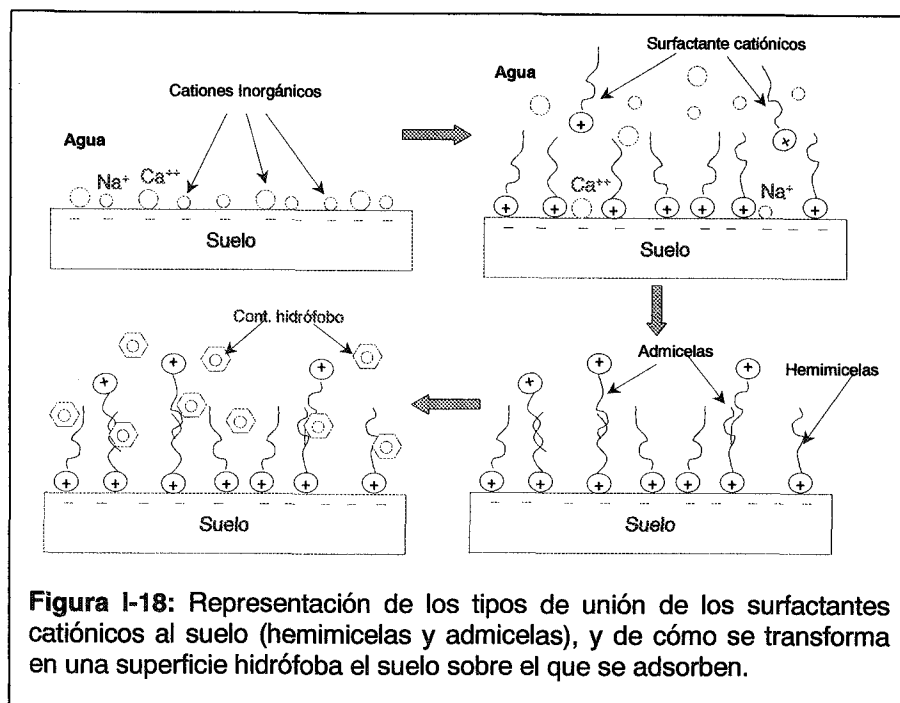
A bajas concentraciones (por debajo de la cmc), los surfactantes no iónicos pueden ser usados para aumentar la adsorción de plaguicidas (Huggenberger y col., 1973; Edwards y col., 1994b y 1994c), ya que a estas concentraciones los surfactantes todavía no forman micelas, y pueden ser adsorbidos por el suelo e incrementar los puntos de adsorción disponibles. Cuando la concentración aumenta por encima de la cmc, se forman agregados que pueden retener al contaminante en su interior y además adsorberse al suelo, con lo cual existe un rango de concentraciones por encima de la cmc en las que puede aumentar la adsorción. Pero cuando la concentración sobrepasa la cmc, la cantidad de micelas adsorbidas es mucho menor que la que existe en solución, de forma que pueden competir con las moléculas de contaminante adsorbidas y desplazarlas, pasando a solución donde son atrapadas por las micelas del surfactante (Edwards y col., 1994b y 1994c; Adeel y Luthy, 1995).

Se ha propuesto el uso de surfactantes no iónicos, para eliminar la contaminación por contaminantes no acuosos líquidos (NAL) =NAPLs (nonaqueous phase liquid), en aguas subterráneas (West y col., 1992; Butler y col., 1998). Estos contaminantes quedan atrapados en los poros del suelo y son mantenidos en ellos por capilaridad. Una vez allí se disuelven poco a poco a lo largo del tiempo, siendo muy difícil su eliminación mediante métodos de bombeo y posterior extracción. La misión de los surfactantes no iónicos en estos casos, es la de fomentar la solubilidad de compuestos hidrófobos en el agua, para

posteriormente ser extraídos de ella. Para ello la concentración de surfactante siempre debe ser mayor a la cmc, de forma que aumente la solubilidad en agua de estos compuestos por la formación de micelas que reducen la tensión superficial y aumentan la solubilidad en agua de estos compuestos. En la bibliografía encontrada existen varios ensayos de laboratorio sobre el uso de este tipo de sustancias para aumentar la solubilidad de compuestos hidrófobos en agua (Pennell y col., 1993; Jafvert y col., 1994; Pennell y col., 1997).

### SURFACTANTES CATIÓNICOS

Las moléculas de los surfactantes catiónicos presentan carga positiva en soluciones acuosas. Estos cationes son fuertemente adsorbidos por la partículas con carga negativa del suelo (arcillas y m.o.), mediante mecanismos de intercambio iónico (Bayer y col., 1982; Cross, 1994; Ginkel, 1995). Pero varios estudios también han demostrado la existencia de formación de complejos con las arcillas del suelo, mediante uniones de tipo van der Waals (Law y Kunze, 1966; Zhang y col., 1993; Brown y col., 1996; Li y col., 1997).



Existen dos mecanismos diferentes por los cuales pueden ser adsorbidos los surfactantes catiónicos de una solución acuosa al suelo: mediante la formación de agregados estructurales clasificados como hemimicelas o la formación de admicelas. Si la concentración del surfactante catiónico es inferior a la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo, se produce una reacción de intercambio catiónico, y las moléculas del surfactante desplazan a los cationes presentes en el suelo, dando lugar a la formación de hemimicelas (Figura I-18). Los surfactantes una vez adsorbidos se orientan de forma que

la parte hidrófoba de la molécula se encontrará en contacto con la solución acuosa, y la parte catiónica cerca de la superficie mineral (Brown y col., 1996).

Cuando la concentración supera o se aproxima a la CIC, los monómeros de surfactante pueden ser adsorbidos por las colas hidrófobas de las hemimicelas, dando lugar a la formación de admicelas. La formación de admicelas puede superar la CIC de un suelo, pero siempre es una formación irregular, que no cubrirá por completo la monocapa de hemimicelas. Estas uniones son débiles, y puede producirse una desorción y migración de las moléculas de surfactante unidas de esta forma, sobre todo si la concentración del surfactante supera la CIC del suelo (Brown y col., 1996).

Los surfactantes catiónicos son los que producen los mayores cambios en las propiedades del suelo, ya que al neutralizar las cargas negativas que éste presenta inducen un elevado carácter hidrófobo a los suelos tratados, hasta el punto que pueden impermeabilizarlos. El grado de hidrofobicidad dependerá de la dosis empleada, y de la longitud de la cadena alquílica, y es el responsable de la retención de los plaguicidas en el suelo.

Al igual que los surfactantes de tipo no iónico, tienden a quedarse retenidos en los espacios interlaminares de las arcillas del suelo, y a formar una doble capa cuando la cantidad de material es suficiente (Law y Kunze, 1966).

Los estudios sobre el uso de surfactantes catiónicos llegan a la conclusión de que se pueden usar como una barrera que impida la percolación de sustancias orgánicas hidrófobas en el suelo, (Wagner y col., 1994; Brown y col., 1996).

En la Tabla I-11 se presenta un resumen de las formas de actuación de los surfactantes.

Tabla I-11: Modo de actuación de los surfactantes en un sistema agua-suelo.

Tipo	Ads. suelo	Unión	Fase del suelo	Mov. suelo*	Alteración del suelo	Actuación suelo	Actuación aguas	Toxic.
Aniónico	Débil	Van der Waals	Acuosa	Alta	↓Tensión superf.	Mov. COH		
No-iónico	Fuerte	P. de H, van der Waals	Arcillosa	Baja	↓Tensión superf.	Mov./Inmov-	Solub. de NAPLS	Baja
Catiónico	Fuerte	Iónica, van der Waals	Arcillas y m.o.	Baja	↑Caract. Hidrof.	Inmov. COH		

Mov.: movilización; Inmov.:inmovilización; COH: compuestos orgánicos hidrófobos; NAPLS: compuestos no acuosos en fase líquida.

\*La movilidad en el suelo es la indicada, siempre y cuando la concentración del surfactante sea baja, ya que a concentraciones elevadas (muy por encima de la cmc o de la CIC en el caso de los surfactantes catiónicos) y existiendo un flujo de agua importante, la movilidad es alta Wagner y col., 1994).

### 5.1.c Toxicidad

Los surfactantes biodegradables se definen como aquéllos que son retirados de soluciones por organismos que llevan a cabo procesos enzimáticos de oxidación y síntesis (Directiva 82/242/CEE).

Para el estudio del impacto ambiental y toxicidad de los surfactantes, se han empleado varios parámetros como el coeficiente de partición octanol/agua ( $K_{ow}$ ), cmc, o parámetros de tipo físico-químico y propiedades interfaciales de estas sustancias. El empleo de estos últimos se debe a la capacidad de algunos surfactantes para penetrar en los tejidos externos de los organismos (Bragadin y Dell'Antone, 1996; Rosen y col., 2001).

Tanto los aspectos beneficiosos como los efectos tóxicos de los surfactantes están relacionados con la parte hidrófoba de la molécula de surfactante, y dependerá del tipo de surfactante que estemos considerando. Pueden causar irritaciones en los ojos y la piel, y en algunos casos son contaminantes ambientales (Cserhádi y col., 1996). También se ha observado que aumentan la toxicidad de las sustancias contaminantes que pueda contener el suelo (Foy, y col., 1972), entre ellas algunos plaguicidas. La toxicidad de un surfactante en el suelo depende del potencial de adsorción que tenga el suelo por el surfactante, y de cómo afecte a la microflora presente en el suelo (Bayer y col., 1982).

El efecto de los surfactantes sobre los organismos del suelo depende de sus características y de la concentración que se emplee. Así, se han encontrado en la bibliografía consultada citas que hacen referencia a algunos de los surfactantes empleados (Bayer y col., 1982):

- Los surfactantes de tipo catiónico, son efectivos como germicidas o bactericidas, debido a su fuerte atracción por las cargas negativas en las superficies celulares de las bacterias.

- El surfactante de tipo no iónico Tween 80, aumenta la respiración celular en el suelo cuando se usa una dosis superior a 100 ppm. Además, se ha comprobado que se degrada rápidamente por la microflora del suelo.
- La adición de un surfactante aniónico del tipo aquil-aril-sulfonato (Nacconol NRSF), produce un incremento débil en la respiración, incremento que disminuye con aplicaciones sucesivas del producto hasta reducir de forma muy importante la actividad microbiológica.

En cuanto a la toxicidad en agua, existen varias referencias que hablan de la toxicidad de estos compuestos en peces, algas y bacterias (Swisher, 1986; Yamane y col., 1984; Florence y col., 1984; Utsunomiya, 1997). El surfactante de tipo aniónico LAS es uno de los más estudiados, debido a su elevado uso en los productos de limpieza domésticos (Lewis, 1991; González-Mazo y col., 1996; de Wolf y col., 1998). Este surfactante se considera seguro desde el punto de vista medioambiental, sin embargo los surfactantes aniónicos que contienen en su molécula nonilfenol etoxilatos se consideran tóxicos y recalcitrantes para la vida acuática (Lewis, 1991; Renner, 2000).

García y col. (2001), estudian la toxicidad y degradación de varios tipos de surfactantes catiónicos (sales de amonio cuaternario), para el medio acuático. Encuentran que la toxicidad aumenta cuando se sustituye un grupo metilo por uno bencilo, y que un aumento en la longitud de la cadena disminuye la degradación del compuesto. Valores de 0,1-1 mg L<sup>-1</sup> son considerados tóxicos para especies como *Daphnia magna*, y se sabe que en el medio acuático son utilizados como substrato por el placton (García y col., 2001). Lewis (1990), en un estudio de la toxicidad de los surfactantes para las algas, también concluye que los surfactantes catiónicos son la clase más tóxica para este tipo de organismos.

La aplicación de lodos de depuradora al suelo da lugar a la incorporación de pequeñas cantidades de surfactantes (0-3 mg kg<sup>-1</sup>), pero en un ambiente aeróbico la degradación de estos compuestos es mucho más rápida (Scott y Jones, 2000). En suelo, los surfactantes no iónicos de cadenas alquílicas lineales, son muy poco tóxicos y se degradan por los microorganismos, sin embargo los que presentan ésteres alquilfenólicos en su molécula son muy persistentes y poco adecuados para tareas de descontaminación de acuíferos (Kibbey y col., 1997; Pennel y col., 1997). Los surfactantes de tipo catiónicos son los que presentan una mayor toxicidad (Arechabala y col., 1999; Shcherbakova y col., 1999; Scott y Jones, 2000), y no existen muchos datos sobre la degradación de este tipo de compuestos y su comportamiento en el medio (Bragadin y Dell'Antone, 1996; Scott y Jones, 2000; Rosen y col., 2001;).

Debido a su incorporación a las redes de saneamiento urbano, se ha estudiado si los procesos de tipo anaeróbico a los que se ven sometidos afectan a la degradación de estas sustancias. García y col. (1999) estudian la degradación de varios surfactantes catiónicos, bajo condiciones anaeróbicas en lodos de depuradora, encontrando que no existe apenas degradación. Los estudios de toxicidad en estos mismos procesos sobre las comunidades microbiológicas existentes en estos procesos, revelan que a las

concentraciones presentes en las aguas de las EDAR (1-10 mg g<sup>-1</sup> de lodo seco, Osburn, 1982; ECETOC, 1993; Gerike y col., 1994; García y col., 1999), no presentan efectos adversos en los procesos metagénicos (Shcherbakova y col., 1999; García y col., 1999 y 2000).

#### 5.1.d Normativas en materia de surfactantes

- Directiva 73/404/CEE del Consejo, de 22 de noviembre de 1973, referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros en materia de detergentes. La presente directiva prohíbe del uso de detergentes con niveles de biodegradabilidad menores al 90%, para surfactantes de tipo aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros.
- Directiva 82/242/CEE del Consejo, de 31 de marzo de 1982, referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos no iónicos y por la que se modifica la Directiva 73/404/CEE. Hace referencia a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos no iónicos presentes en los detergentes definidos en el artículo 1 de la Directiva 73/404/CEE. Se establecen los métodos para su determinación, y el límite de biodegradabilidad para los detergentes en el 80%.

#### Medidas nacionales:

- Real Decreto número 2816/83 de 13/10/1983, de la Presidencia de Gobierno por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para elaboración, circulación y comercio de detergentes, Boletín Oficial del Estado número 270 de 11/11/1983.
- Directiva 86/94/CEE del Consejo de 10 de marzo de 1986 por la que se modifica la Directiva 73/404/CEE referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros en materia de detergentes.
- Orden de 05/09/1985, del Ministerio de Industria y Energía sobre determinación de la biodegradabilidad de agentes tensioactivos en la fabricación de detergentes, Boletín Oficial del Estado número 260 de 30/10/1985.
- Corrección de erratas de la Orden de 05/09/1985, del Ministerio de Industria y Energía sobre determinación de la biodegradabilidad de agentes tensioactivos en la fabricación de detergentes, Boletín Oficial del Estado número 311 de 28/12/1985

## 5.2 Lodos de depuradora

Desde que en 1980 se prohibió su vertido en los mares y océanos, y como consecuencia de la legislación, su producción ha experimentado un continuo crecimiento. A nivel mundial, la producción de lodos es estable o aumenta ligeramente (Tabla I-12), excepto

en los países de Europa del Este donde la legislación sobre lodos se está poniendo en marcha y crece de forma progresiva (Nath y col., 2000; Stuczynski y col., 2000).

De forma general, los lodos generados son quemados o depositados en vertederos. Sólo una pequeña parte se emplea en agricultura, debido a sus propiedades como fertilizante (Stuczynski y col., 2000), aunque su elevado contenido en metales pesados hace que existan normativas sobre el contenido de éstos. La legislación es distinta en cada país, siendo los EU el país que presenta una normativa menos rigurosa en cuanto al contenido de metales pesados.

La problemática de la adición de lodos a suelos agrícolas se encuentra dividida entre los que opinan que su uso puede ser ilimitado siempre que las aplicaciones cumplan con la normativa existente, y los que piensan que la adición de metales pesados al medio no es un problema ahora, pero puede convertirse en un problema a largo plazo (Berti y Jacobs, 1996; Renner, 2000).

**Tabla I-12:** Cantidades de lodos de depuradora generadas en los Estados Unidos y en distintos países europeos (Biosolid Generation, EPA, 1999).

País	Cantidad	% Utilizado			
		Aplicación agrícola	Depósito en vertederos	Incineración	Otros
Austria	320	13	56	31	0
Bélgica	75	31	56	9	4
Dinamarca	130	37	33	28	2
Francia	700	50	50	0	0
Alemania (Este)	2500	25	63	12	0
Grecia	15	3	97	0	0
Irlanda	24	28	18	0	54
Italia	800	34	55	11	0
Luxemburgo	15	81	18	0	1
Holanda	282	44	53	3	0
Portugal	200	80	13	0	7
España	280	10	50	10	30
Suecia	180	45	55	0	0
Suiza	215	50	30	20	0
Reino Unido, 1991	1107	55	8	7	30
Estados Unidos	6900	41	17	2	20

Los trabajos de algunos investigadores sobre la toxicidad de metales pesados en bacterias fijadoras de nitrógeno (Giller y col. 1989; Kinkle y col. 1987; Martensson y col. 1990; Chaudri y col. 1993) han hecho que países como Inglaterra hayan disminuido el valor máximo de zinc en los lodos. Sin embargo, otros estudios apuntan justamente hacia



lo contrario (Heckman y col. 1987a; Heckman y col. 1987b), lo que ha provocado que la normativa de la EPA sea mucho menos rigurosa. En el último caso, los principios en los que se basan son por un lado que el suelo y los lodos son capaces de inmovilizar a los metales, y por el otro que la toxicidad de éstos disminuye a medida que pasan a través de la cadena alimenticia.

Existen también referencias sobre la presencia de contaminantes orgánicos tóxicos en los lodos (PCBs, PAH, dioxinas), y cómo se modifican las cantidades remanentes en los mismos tras periodos de aplicación de hasta 25 años (Beck y col., 1995 y 1996).

El uso de materia orgánica exógena ha sido propuesto para aumentar la degradación de los plaguicidas y otros contaminantes en el suelo. Este hecho se basa fundamentalmente en que la presencia de materia orgánica puede aumentar la degradación microbiana del compuesto, y al mismo tiempo aumentar la adsorción del plaguicida en el suelo y su disponibilidad para ser degradado por los microorganismos de éste (Liu y col., 1996).

Los factores que convierten a los lodos en elementos que pueden aumentar la degradación de compuestos contaminantes en el suelo son los siguientes (Liu y col., 1996):

- Su adición mejora la aireación del suelo.
- Son fuente de un gran número de microorganismos que pueden participar en la degradación de contaminantes.
- Mejoran la capacidad de retención de agua por el suelo, disminuyen la densidad del suelo y aumentan la conductividad hidráulica (Khaleel y col., 1981).
- Es una fuente de nutrientes y elementos traza, lo que lo convierte en un importante fertilizante. El crecimiento de plantas en el suelo incrementa las poblaciones microbianas, sobre todo en la rizosfera, lo que puede contribuir a la degradación de contaminantes en el suelo.
- Dan lugar a interacciones de componentes del lodo con la sustancia a degradar. Entre ellos, se ha descrito el importante papel de los ácidos húmicos en la adsorción de plaguicidas.

La adición de lodos de depuradora al suelo, hace que se modifiquen sus propiedades físicas (Epstein y col., 1976), químicas (Peterson y col., 1988) y biológicas (Katterman y Day, 1989), lo que puede incrementar la naturaleza de las cosechas. El contenido de m.o., CIC, y contenido en metales aumenta, mientras que otras propiedades como la actividad microbiológica puede aumentar, o disminuir, si la concentración de metales pesados es muy alta.

Kelly y col. (1999), estudian los efectos de la aplicación de lodos urbanos de depuradora sobre un suelo calcáreo. Observan un aumento en las propiedades citadas anteriormente, junto con una disminución en la actividad deshidrogenasa del suelo. La actividad deshidrogenasa es una medida de la actividad microbiológica que existe en un

suelo. El descenso en esta actividad se achaca al aumento en la concentración de metales pesados, que puede resultar tóxico para algunas de la comunidades del suelo. Las medidas de las concentraciones a distintas profundidades en el perfil del suelo, pone de manifiesto la escasa movilidad de los metales en este suelo, debido al elevado pH que presentan este tipo de suelos.

### 5.2.a Definición y características

Los lodos de depuración son los lodos residuales sólidos de todo tipo de estaciones depuradoras de aguas residuales domésticas, urbanas o de aguas residuales de composición similar. La denominación genérica de lodo de depuración es sinónimo de lodos de depuradora, lodos residuales, lodos residuales urbanos o biosólido, aunque la legislación española utiliza el término de lodo de depuración para todo tipo de lodo generado en las estaciones de depuración.

Como agua residual se entiende la que procede del consumo doméstico y de la red municipal de alcantarillado, y no contienen cantidades apreciables de efluentes industriales (Mara y Cairncross, 1990). Según la directiva 91/271 del Consejo de la Unión Europea de 21 de Mayo de 1991 (DOCE, 1991), se entiende por agua residual urbana a las aguas residuales domésticas o a las mezclas de las mismas con aguas residuales industriales y/o aguas de escorrentía pluvial.

La característica común a todas ellas es la presencia, más o menos acusada, de diferentes agentes de tipo físico, químico y biológico. Dependiendo de la cantidad de estos constituyentes, se clasifican en aguas fuerte, media o débilmente contaminadas. Mediante el proceso de depuración, se transforman los diferentes contaminantes presentes en las aguas, de tal manera que pueda ser reutilizada para otros usos o que pueda ser vertida al sistema hídrico, siempre que cumpla los objetivos de calidad establecidos (DOCE, 1991). Los constituyentes y contaminantes retirados de las aguas residuales originan los lodos de depuración.

A la mezcla de los lodos primarios y secundarios producidos en las plantas de depuración, después de su concentración, se les denomina *lodo mixto concentrado*.

El tratamiento de las aguas residuales es de vital importancia para evitar la incidencia de enfermedades infecciosas como el cólera, y para proteger al medio de olores desagradables y otras contaminaciones en su vertido. Durante el tratamiento, las concentraciones de contaminantes se reducen a unos niveles tales que los ecosistemas son capaces de asimilarlos. Consta de tres procesos básicos (Alloway y col., 1993):

1. Eliminación de materia contaminante del flujo de agua residual, como fangos y sólidos en suspensión.
2. Procesos bioquímicos en los que intervienen microorganismos, para la separación de la materia contaminante del flujo de agua residual y fangos.
3. Separación de agua de los lodos.

A lo largo del proceso de tratamiento se obtienen diferentes tipos de lodos:

- *Lodos de pretratamiento*: lodos constituidos por materiales gruesos compactos y arena, cuyo destino suele ser la desecación e incineración o su depósito en vertederos controlados.
- *Lodos primarios*: provenientes de los decantadores primarios, con un contenido en materia orgánica alrededor del 5 %.
- *Lodos secundarios*: procedentes de los decantadores secundarios, constituidos por una fracción seca del 0,8 - 1 %.

### 5.2.b Sistema de depuración de empleado en la ciudad de Granada

En la ciudad de Granada existen dos plantas de tratamiento de aguas residuales, la Estación Depuradora Oeste (Puente de los Vados), y la Sur (Camino de Purchil). Los lodos empleados en el presente estudio proceden de la EDAR Sur. En esta planta, se procesan las aguas residuales de la cuenca sur de la ciudad, que llegan a la estación depuradora del camino de Purchil a través de la red de saneamiento urbano. En la Tabla I-13 aparecen las cantidades colectadas en el periodo que abarca desde el año 1999 al primer semestre del 2001.

**Tabla I-13:** Producción de lodos de depuradora en la ciudad de Granada en los últimos años.

AÑO	EDAR OESTE			EDAR SUR			TOTAL
	F.D. (t)	Sequedad (%)	M.S. (t)	F.D. (t)	Sequedad (%)	M.S. (t)	M.S. (t)
1999	3014	17	512	8796	21	1847	2359
2000	3197	17	543	10785	21	2265	2808
2001	1685	17	286	4428	20,5	908	1094

F.D.: fango deshidratado; M.S.: materia seca.

Una vez llegan a la planta depuradora, las aguas residuales sufren un *tratamiento previo* que tiene como principal misión eliminar todos aquellos elementos que por su naturaleza o tamaño puedan afectar el correcto funcionamiento de los tratamientos posteriores. En este tratamiento que incluye las operaciones de desbaste, desarenado y desengrasado, al agua residual obtenida se la denominará efluente preliminar y a los lodos, lodos de pretratamiento (Figura I-19).

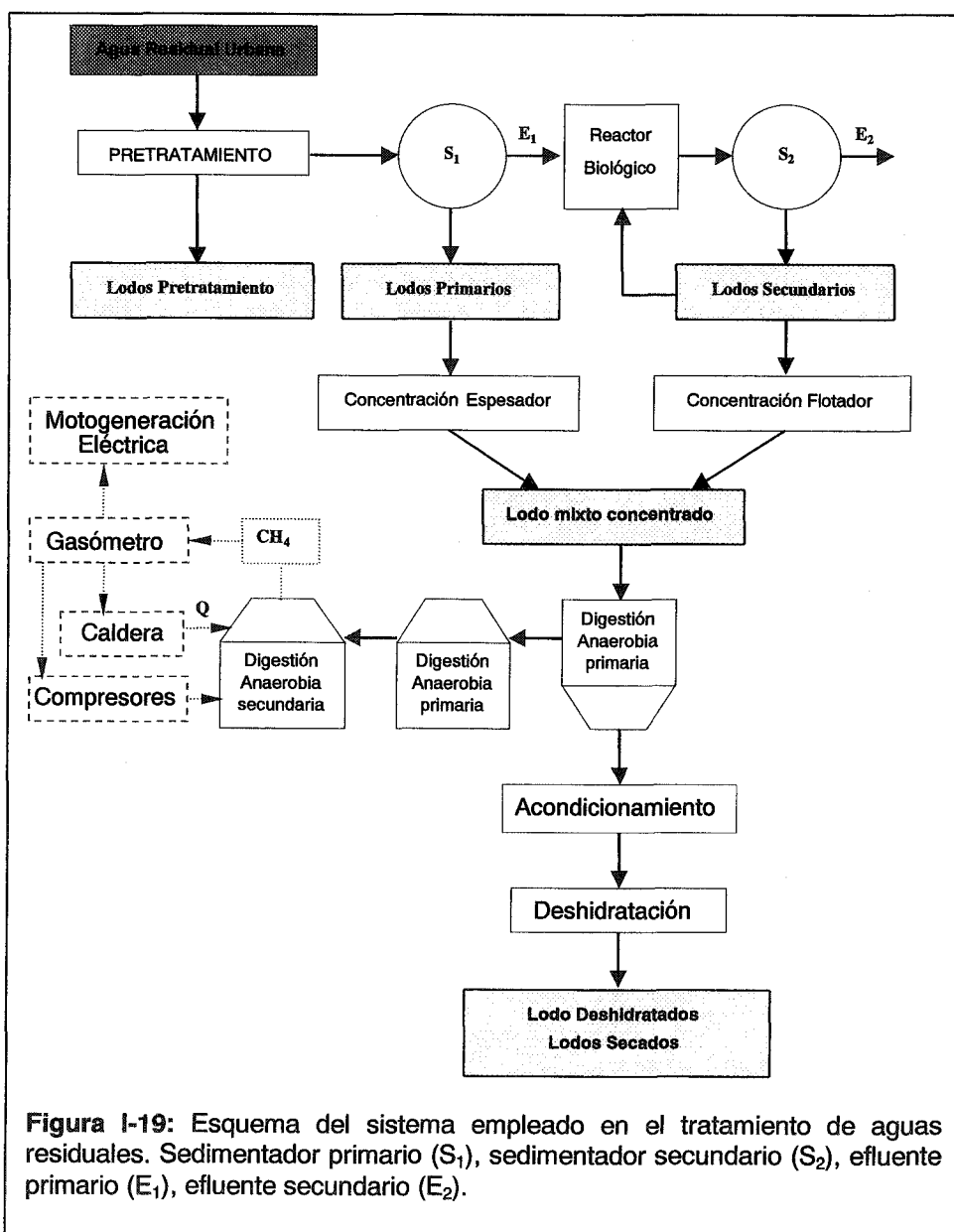
Tras ser sometidos a este pretratamiento, se aplica un *tratamiento primario*, que consiste en una serie de procesos físicos y /o químicos por los que se consigue la sedimentación de los sólidos en suspensión (50 %) y que la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) se reduzca por lo menos un 20 % de su valor original. Mediante los tratamientos primarios se obtiene un agua más depurada (efluente primario) y un lodo residual (lodo primario).

A continuación mediante un *tratamiento secundario*, que incluye procesos de sedimentación y de oxidación microbológica de la m.o. y amonio, se consigue reducir la

DBO entre un 70-90 %, y la cantidad de sólidos en suspensión al menos en un 90 %. Mediante este tratamiento se obtiene un efluente secundario y un lodo secundario.

Los lodos producidos (primarios y secundarios) debido a su elevado contenido en agua, m.o., microorganismos y sustancias contaminantes, tienen que ser sometidos a una serie de tratamientos que reducen su nivel hídrico y estabilizan la materia orgánica contenida en ellos.

Primero sufren un proceso de *espesamiento* o *concentración* que reduce el contenido en agua y aumenta su contenido en sólidos. El espesado se realiza por gravedad en tanques de sedimentación.



El siguiente proceso al que se someten es el de *estabilización*, en el que se reduce el contenido en patógenos, se eliminan los olores desagradables y se transforma la materia orgánica putrescible en materia orgánica más estable, mediante una digestión anaerobia. La digestión anaerobia consiste en un proceso de fermentación metánica (en la que se genera metano) que se realiza en tanques cerrados (digestores), en los que el lodo fermenta sin contacto con el aire. En este proceso se genera gas, con un contenido en metano entre el 65 y 75 %, que es utilizado en la estación depuradora como fuente supletoria de energía. A los lodos obtenidos se les denomina lodos digeridos.

Los lodos digeridos son sometidos a un proceso de *acondicionamiento*, para mejorar sus características antes de su deshidratación. El proceso de acondicionamiento se realiza con polielectrolitos orgánicos que hacen que floculen y se coagulen los sólidos y se libere el agua.

Finalmente con el fin de disminuir la humedad del lodo digerido, se los somete a un proceso de deshidratación, hasta la obtención de un *lodo deshidratado* con un contenido en humedad superior al 70%, que es el empleado en nuestras experiencias, tras ser sometido a un proceso de molido y secado al aire. El *lodo seco* tiene un contenido en humedad inferior al 70%.

### 5.2.c Normativas que regulan el uso de los lodos residuales

Debido a la presencia de metales pesados y otros contaminantes orgánicos presentes en los lodos, desde principios de la década de los 70 se han elaborado una serie de normativas que intentan regular el uso de estos residuos urbanos.

En el Estado Español la Directiva Europea 86/278 CEE, establece el marco legal de utilización de lodos de depuradora en agricultura. La normativa fue promulgada el 29 de Octubre de 1990, mediante Real Decreto 1310/1990 (BOE, 1990), y en la Orden ministerial de 26 de Octubre de 1993 (BOE, 1993) se amplía el número de parámetros a analizar en los lodos.

En la Comunidad Autónoma andaluza la legislación sobre la utilización de lodos en el sector agrario está regulada por la Orden del 22 de Noviembre de 1993, BOJA nº 133, por la que se desarrolla en Andalucía el Real Decreto 1310/96 y la Orden 2610/93 del MAPA.

Algunas de las principales características que deben regular el uso de estos lodos son las siguientes:

- Los suelos sobre los que podrán aplicarse los lodos tratados deberán de presentar una concentración en metales pesados inferior a la establecida en la Tabla I-14.
- Los lodos tratados a utilizar en los suelos no excederán en cuanto al contenido en metales pesados, de los valores expresados en la Tabla I-15.

- Las cantidades máximas de lodos que podrán aportarse al suelo por hectárea y año serán las que, de acuerdo con el contenido en metales pesados de los suelos y lodos a aplicar, no rebasen los valores límites de incorporación de los metales pesados establecidos en la Tabla I-14.
- Los parámetros que habrán de analizarse en el suelo y lodos incluyen pH y contenido de Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg y Cr mediante ataque con ácido fuerte y análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica. También deberán de realizarse análisis sobre el contenido en m.o., materia seca, materia orgánica total, relación C/N, nitrógeno total, fósforo total ( $P_2O_5$ ), potasio total ( $K_2O$ ), calcio total (CaO), magnesio total (MgO) e hierro.

**Tabla I-14:** Valores límites de concentración de metales pesados en los suelos y cantidades máximas de metales pesados aplicables anualmente al suelo.

Suelo	pH<7 mg kg <sup>-1</sup>	pH>7 mg kg <sup>-1</sup>	Aplicación anual kg ha <sup>-1</sup>
Cadmio	1	3	0,15
Cobre	50	210	12
Níquel	30	112	3
Plomo	50	300	15
Zinc	150	450	30
Mercurio	1	1,5	0,10
Cromo	100	150	3

Existen todavía pocas normativas que regulen los contenidos máximos de microorganismos y los niveles máximos de microcontaminantes orgánicos en lodos. Algunos países como Holanda y Canadá han adoptado límites relativos a contaminantes orgánicos para suelos enmendados (Beck y col., 1995).

**Tabla I-15:** Valores límites de concentración de metales pesados en lodos destinados a su utilización agraria.

Suelo	pH<7 mg kg <sup>-1</sup>	pH>7 mg kg <sup>-1</sup>
Cadmio	20	40
Cobre	1000	1750
Níquel	300	400
Plomo	750	1200
Zinc	2500	4000
Mercurio	16	25
Cromo	1000	1500

El uso agrícola de los lodos tratados está prohibido en los siguientes casos:

- En praderas, pastizales y demás aprovechamientos a utilizar en pastoreo directo por el ganado, con una antelación menor de tres semanas a la fecha de comienzo del citado aprovechamiento.
- Aplicar lodos tratados en cultivos hortícolas y frutícolas durante su ciclo vegetativo, con la excepción de los cultivos de árboles frutales, o en un plazo menor de diez meses antes de su recolección y durante la recolección misma, cuando se trate de cultivos hortícolas o frutícolas cuyos órganos o partes vegetativas a comercializar y consumir en fresco estén normalmente en contacto directo con el suelo.

## 6 Modelos matemáticos

Los modelos matemáticos se utilizan para estimar el tiempo necesario para que se produzca la disipación de un plaguicida desde el momento de su aplicación, la movilidad en el suelo y su comportamiento. Estos resultados permiten prever el impacto de un plaguicida en el medio, desarrollar estrategias en las prácticas de aplicación e incluso la elegir el compuesto que cause un menor impacto sobre el medio y que a la vez surta el mismo efecto (Cheng, 1990; Reichman y col., 2000a y b; Vanclooster y col., 2000x).

Los modelos de transporte se dividen en dos tipos (Jones, 1994):

- Modelos deterministas: son aquéllos en los que se supone que el sistema agua-suelo funciona de tal forma que la respuesta está unívocamente definida. Estos modelos sólo pueden simular la respuesta del sistema ante una serie de condiciones simples del sistema, y se ignoran las incertidumbres debidas a la naturaleza del sistema, al muestreo o las que se producen en el proceso de medición.

- Modelos estocásticos: consideran la incertidumbre que va ligada a cualquier sistema natural de medida. En este tipo de modelos se tratan de forma estadística tanto los procesos que tienen lugar dentro del sistema como la respuesta a los mismos.

La mayoría de los modelos se basan en la ecuación de conservación de la masa para el transporte de una sustancia a través en el suelo, debido al movimiento del agua (Boesten y van der Linden, 1991). Viene dada por:

$$\frac{\partial C^*}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial z} - R_t \quad (4)$$

$C^*$ , concentración del soluto en el suelo ( $\text{kg m}^{-3}$ )

$t$ , tiempo (d)

$J$ , Flujo de masa del soluto ( $\text{kg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ )

$z$ , profundidad en el suelo (m)

$R_t$ , velocidad de transferencia del soluto por unidad de volumen ( $\text{Kg m}^{-3} \text{d}^{-1}$ )

La ecuación (4) representa un modelo de transporte en equilibrio, en el se parte de la base de que en cualquier punto (especificado por la coordenada  $z$ ) y en cualquier momento la sustancia en la fase líquida está en equilibrio con la sustancia adsorbida en la fase sólida y por tanto la concentración en la fase líquida puede considerarse constante.

En este modelo, el flujo del soluto se describe con la ecuación (5):

$$J = J^V * c - (D_{dis} + D_{dif}) * \frac{\partial c}{\partial z} \quad (5)$$

$J^V$ , volumen de flujo del líquido ( $\text{m}^3$ )

$c$ , concentración de soluto en la fase líquida ( $\text{kg m}^{-3}$ )

$D_{dis}$ , coeficiente de dispersión ( $\text{m}^2 \text{d}^{-1}$ )

$D_{dif}$ , coeficiente de difusión a través de la fase líquida ( $\text{m}^2 \text{d}^{-1}$ )

La introducción del coeficiente de dispersión, indica que la concentración en la fase líquida a escala microscópica no es uniforme en cualquier punto del espacio. Debido a esto, la concentración en la fase líquida ( $c$ ) sería una media de las concentraciones existentes en un plano macroscópico perpendicular a la dirección del flujo. Se asume que

$$D_{dis} = L_{dis} * |J^V| \quad (6)$$



$D_{dis}$  es proporcional a  $J^v$  y se calcula con la expresión:

Donde  $L_{dis}$  es la longitud de dispersión (cm) obtenida para el marcador a partir del ajuste de la curva teórica con los valores experimentales.

El coeficiente de difusión se calcula con la ecuación (7):

$$D_{dif} = \lambda * \theta * D_0 \quad (7)$$

$\lambda$ , es el factor de tortuosidad

$\theta$ , fracción volumétrica del líquido ( $m^3 m^{-3}$ )

$D_0$ , Coeficiente de difusión en agua ( $m^2 d^{-1}$ )

Sustituyendo (5) en (4) se obtiene la ecuación de conservación de masa:

$$\frac{\partial C^*}{\partial t} = J^v * \frac{\partial c}{\partial z} - (D_{dis} - D_{dif}) * \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - R_t \quad (8)$$

Como la concentración de la sustancia en el suelo es la suma de las concentraciones presentes en las fases líquida y sólida del suelo se puede calcular con la siguiente expresión  $C^* = \theta * c + \rho * X$  (9), en donde  $\rho$  es la densidad del suelo y  $X$  la cantidad adsorbida por gramo de muestra. Ya que partimos de que se trata de una situación de equilibrio, el valor de  $X$  se puede obtener a partir de la forma lineal de la ecuación de Freundlich  $X = K * c$ . Teniendo en cuenta esto, se obtiene que  $C^* = \theta * c + \rho * K * c$  (10), y sustituyendo la ecuación 10 en la ecuación 8 se llega a la definitiva ecuación de conservación de la masa:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{1}{(\theta + \rho * K)} * J^v * \frac{\partial c}{\partial z} - \frac{1}{(\theta + \rho * K)} * (D_{dis} - D_{dif}) * \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - \frac{1}{(\theta + \rho * K)} * R_t \quad (11)$$

Esta ecuación es la que se aplica en el modelo PESCOL, para simular la movilidad de un plaguicida en un sistema en equilibrio. Este modelo ha sido aplicado para predecir la movilidad de otros plaguicidas en columnas de suelo empaquetadas (Romero y col., 1996 y 1997).

También se han desarrollado modelos de transporte de no equilibrio. Existen dos motivos posibles para que se produzcan situaciones de no equilibrio en el transporte de sustancias en un suelo. El primero es que las moléculas de plaguicida de la fase líquida cercanas a los sitios de adsorción pueden estar en equilibrio con las que se encuentran adsorbidas en esos sitios. A esto se le denomina "equilibrio químico" El segundo es que la concentración en la fase líquida puede no ser uniforme en el plano perpendicular a la dirección del flujo (Boesten, 1986).

La lixiviación de contaminantes orgánicos en zonas agrícolas hacia las aguas subterráneas afecta a la calidad de las mismas en todo el mundo. En comparación con

los ensayos de campo, los modelos matemáticos son una herramienta más sencilla y que requiere menos tiempo, para analizar el comportamiento de estas sustancias en distintos escenarios (Vanclooster y col., 2000a).

La aplicación de modelos matemáticos para el estudio del transporte de los plaguicidas es un paso necesario a la hora de registrar el uso de un nuevo plaguicida en la Unión Europea (Vanclooster y col., 2000a), debido a que la mayoría de los plaguicidas pueden afectar a organismos no diana (Cohen y col., 1995). Para la evaluación de este riesgo la Unión Europea sugiere el uso de modelos matemáticos validados, que simulen el comportamiento de los compuestos en distintos escenarios (UE, 1997).

De acuerdo con la Directiva Comunitaria de la Unión Europea 91/414/EEC (UE, 1991), y para asegurar la protección de los productos en los mercados, las sustancias activas que forman parte de los plaguicidas deben estar incluidas en el Anexo I de la citada Directiva. En este sentido una de las herramientas más empleadas es el uso de modelos matemáticos que estimen la concentración de éstas en distintos compartimentos del medio. En la actualidad, el grupo europeo FOCUS (FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their USE), está desarrollando las herramientas necesarias para la evaluación de este tipo de sustancias (FOCUS, 2000).

FOCUS fue fundado en 1993, con el propósito de buscar un consenso entre todos los estados miembros de la UE, grupos de investigación, expertos en esta materia y la industria, a la hora de evaluar la calificación de las citadas sustancias. En principio elaboraron una guía sobre la lixiviación de estas sustancias hacia las aguas subterráneas (FOCUS, 1995), y posteriormente sobre su persistencia en aguas superficiales y profundas (FOCUS, 1996 y 1997).

Para ello utilizan como herramienta fundamental los modelos matemáticos, a la hora de predecir las concentraciones de estas sustancias en el medio. Cualquier cálculo asume la existencia de un escenario, en el cual se debe evaluar el comportamiento de dichas sustancias. Algunos de los Estados Miembros han desarrollado escenarios estándar como herramienta de evaluación. Los escenarios estándar son necesarios porque aumentan la fiabilidad del proceso de evaluación, al eliminar la subjetividad del evaluador a la hora de elegir ciertos parámetros.

Los miembros de este grupo, han desarrollado 10 escenarios reales, que corresponden a 10 ciudades de la UE, y que se utilizan en la modelización con programas como PELMO, PESTLA o PRZM. Cada una de las sustancias antes de ser aprobada para su uso, debe ser probada en cada uno de estos escenarios. El objetivo es encontrar un escenario seguro para la aplicación del compuesto, y la introducción de la sustancia en el mencionado Anexo I, que indica que puede ser utilizada con o sin restricciones. Los criterios seguidos a la hora de seleccionar los fueron:

- Un número de escenarios no superior a 10.
- Utilizar en estos escenarios una combinación de cosechas, tipo de suelo, climatología y condiciones agronómicas reales.

- Los escenarios deben describir una vulnerabilidad por encima del percentil 90 de todas las posibles situaciones (este percentil representa uno de los peores casos, dentro de la realidad).

- La vulnerabilidad debe de considerar las propiedades del suelo y la climatología.

Ciudades como Sevilla (España) u Oporto (Portugal), se encuentran dentro de lo posibles escenarios.

La validación de un modelo matemático consiste en compararlo con datos experimentales, y calibrarlo si es necesario (Cohen y col., 1995; Klein y col., 1997 y 2000), existiendo varios protocolos para su realización (Anderson y Woessner, 1992; Styczen, 1995; Thorsen, 1998; Vanclooster y col., 1999). El objetivo de estos protocolos es reducir el grado de incertidumbre que supone la elección de los parámetros a introducir en el modelo, y servir de guía para los posibles usuarios (Good Modelling Practice, GMP)(Vanclooster y col., 2000a).

Varios autores tras los resultados obtenidos hablan de la necesidad de mejorar estas guías, para evitar errores debido a la subjetividad en la elección de algunos parámetros (Boesten, 2000; Boesten y Gottesbüren, 2000; Klein y col., 2000). El objetivo es que exista una total transparencia en cada uno de los pasos necesarios a la hora de aplicar un modelo (Resseler y col., 1997).

Los principales errores se comenten en la introducción de los tiempos de vida media y de las constantes de adsorción del plaguicida (Boesten, 2000; Jarvis y col., 2000), ya que en ambos casos influye mucho la temperatura a la que se estudian ambos parámetros. Además, en la estimación del tiempo de vida media, hay que tener en cuenta que la cinéticas de degradación no siempre se ajusta a una ecuación exponencial de primer orden (Beulke, y Brown, 2001). El ajuste con el modelo lineal conlleva errores en el proceso de modelización (Dubus y col., 1999; Beulke y Brown, 2001), pero sin embargo es un parámetro necesario ya que la mayoría de los modelos están basados en este ajuste (Vanclooster y col., 2000a) y es el más adecuado para la mayoría de los casos (Cohen y col., 1995). Otro factor a tener en cuenta, son las diferencias que pueden existir entre la degradación en campo y la que ocurre en el laboratorio (Jarvis y col., 2000) y que la degradación disminuye conforme aumenta la profundidad (Cohen y col., 1995). Otra fuente de error es la calibración del modelo (Boesten y Gottesbüren, 2000; Jarvis y col., 2000; Vanclooster y Boesten, 2000b).

En la actualidad existe un gran número de modelos matemáticos que simulan el movimiento vertical de agua, de solutos y en particular de plaguicidas, a través del perfil del suelo (Tabla I-16). Estos modelos, que en su mayoría no son modelos estocásticos, calculan la lixiviación del plaguicida en la zona no saturada del suelo como un movimiento unidimensional, ignorando la componente horizontal del movimiento (Vanclooster y col., 2000b). Son una herramienta más sencilla que la realización de ensayos de campo, y además permiten estudiar el comportamiento de los plaguicidas en diversos escenarios y compararlos con datos experimentales existentes (Harris y col., 2000, Vanclooster y Boesten, 2000).

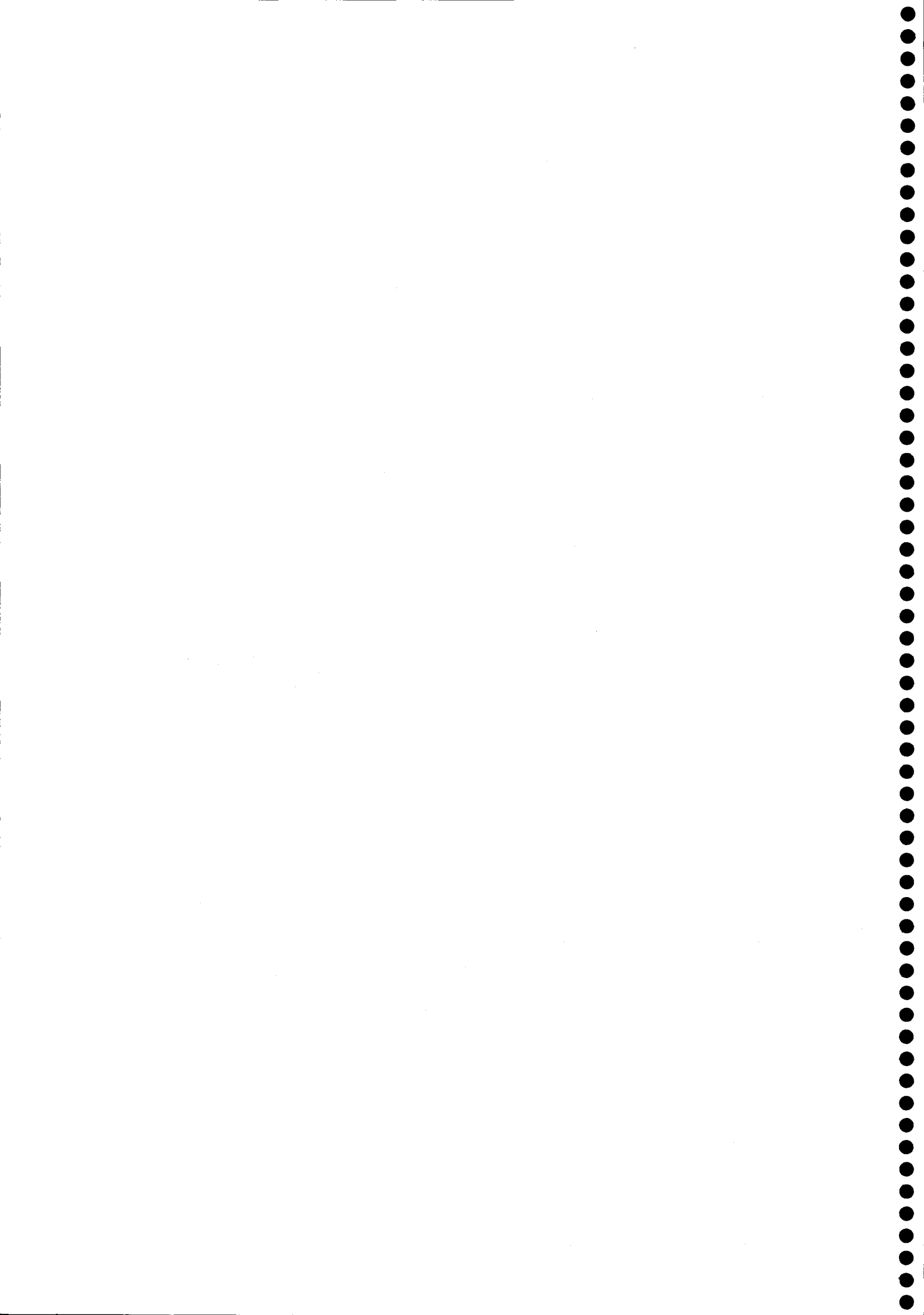
**Tabla I-16:** Características de algunos de los modelos matemáticos existentes en la actualidad, para el estudio del comportamiento del plaguicida en el suelo (Vanclooster y col., 2000b)

	CRACKP	GLEAMS	LEACHP	MACRO	PELMO	PESTLA	PESTRAS	PLM	PRZM2	SIMULAT	VARLEACH	WAVE
Rererencia	Amstrong y col., 2000	Rekolainen y col., 2000	Dust y col., 2000	Jarvis y col., 2000	Klein y col., 2000	Boesten y Gottesbüuren, 2000	Freijer y col., 1996	Nicholls y col., 2000	Trevisan y col., 2000	Aden y Diekkrüger, 2000	Trevisan y col., 2000	Vanclooster y col., 2000c
Ec. Flujo del agua	De tipo capacitivo	De tipo capacitivo	Ecuación Richard	Ecuación Richard	De tipo capacitivo	Ecuación Richard	Ecuación Richard	De tipo capacitivo	De tipo capacitivo	Ecuación Richard	De tipo capacitivo	Ecuación Richard
Ec. Flujo del soluto	Convectivo	Convectivo	Convección/ Dispersión	Convección/ Dispersión	Convectivo	Convección/ Dispersión	Convección/ Dispersión	Convectivo	Convectivo	Convección/ Dispersión	Convectivo	Convección/ Dispersión
Flujo Preferencial	Sí	No	Sí	Sí	No	No	No	Sí	No	Sí	No	Sí
Adsorción	Lineal	Lineal	Freundlich	Lineal	Freundlich	Freundlich	Freundlich	Lineal	Lineal	Freundlich	Lineal	Lineal
Degradación	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden	1 <sup>er</sup> Orden
Asimilación plantas	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí
Volatilización	No	No	Sí	No	No	No	Si	No	No	No	No	No



# **Capítulo II:**

## **Metodología analítica**



# 1 Introducción

En el presente estudio se preveía obtener un gran número de muestras de agua y suelo con distintas concentraciones de plaguicida. Por esta razón, se llevó a cabo un amplio estudio de la metodología analítica a emplear en cada caso.

El análisis de las soluciones acuosas concentradas se ha realizado mediante extracción en microondas, metodología con la que se buscaba el procesamiento del mayor número de muestras en el tiempo más corto posible y de una forma sencilla.

Los análisis de metidation en muestras acuosas diluidas se realizaron mediante extracción en fase sólida.

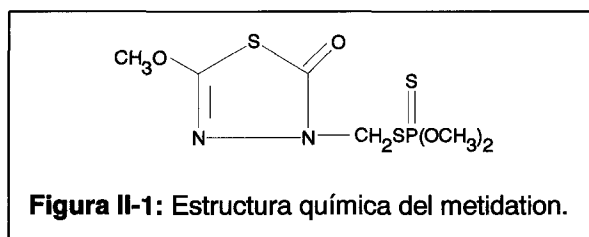
Para el procesado de las muestras de suelo se puso a punto la extracción en Soxhlet. La complejidad tanto en la matriz, como en el grado de humedad de la muestra hizo que se realizara un complejo estudio de los distintos factores que influían en la extracción.

## 2 Material y métodos

### 2.1 Insecticidas

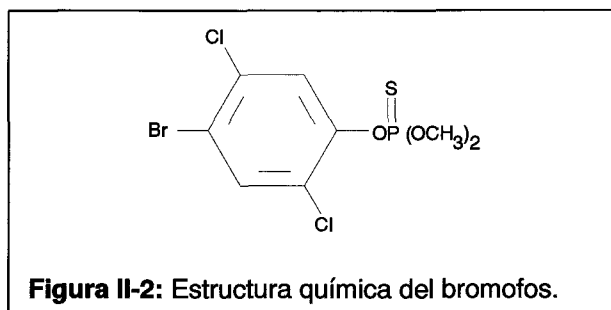
*Metidation*:  $C_6H_{11}N_2O_4PS_3$  (Novartis, Münchwilen, Suiza), con una pureza del 99,7 % y cuya nomenclatura según la IUPAC es: ditiofosfato de S-2,3-dihidro 5-metoxi 2-oxo 1,3,4-tiadiazol 3-ilmetil y O,O-dimetilo.

Es un insecticida no sistémico y un acaricida con acción de contacto y estomacal. Se usa para el control para un amplio rango de insectos chupadores y masticadores (piojos y mosca blanca) y ácaros, en una extensa variedad de cultivos como: frutales, tabaco, vid, algodón y maíz, olivos y patata entre otros. Según la EPA, por su toxicidad pertenece a la clase I, es altamente tóxico por vía oral y dérmica, además de causar irritación en piel y ojos.



**Figura II-1:** Estructura química del metidation.

**Bromofos:**  $C_8H_8BrCl_2O_3PS$  (Dr. Ehrenstofer, Alemania), 99,9 % de pureza y la denominación según la IUPAC es: Tiofosfato de O,O-dimetilo y O-4-bromo-2,5-diclorofenilo. Es un insecticida no sistémico, con acción de contacto y estomacal y eficaz para el control de dípteros, hemípteros y algún lepidóptero. Se recomienda para la protección de las cosechas y para el control de moscas y mosquitos.



En el presente trabajo se ha empleado como patrón interno para el análisis de metidation, por cromatografía de gases por varias razones:

- Se trata de un plaguicida organofosforado, al igual que metidation, que también produce señal en el detector de FPD usado para el análisis.
- Es eluido en las condiciones cromatográficas empleadas a un tiempo de retención próximo al del metidation, sin coincidir con el del plaguicida en estudio.
- No se utiliza habitualmente, por lo que es poco probable encontrarlo ni siquiera en los ensayos de campo realizados.

También se han utilizado los plaguicidas organofosforados malation (American Cyanamid Company, Princenton, N.J. EU) y metil azinfos (Dr. Ehrenstofer, Alemania) con una pureza de 99,1 y 99,9 % respectivamente. Sus propiedades aparecen resumidas en la Tabla II-1.

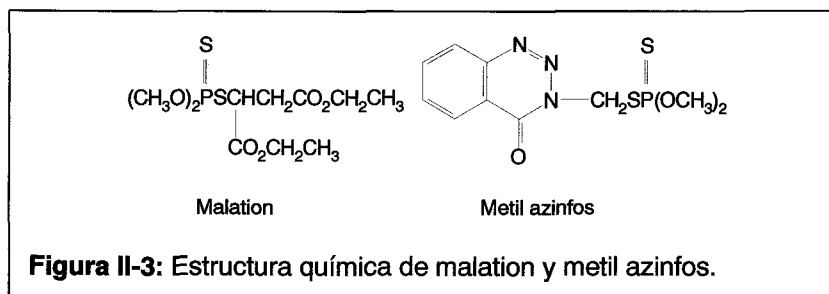




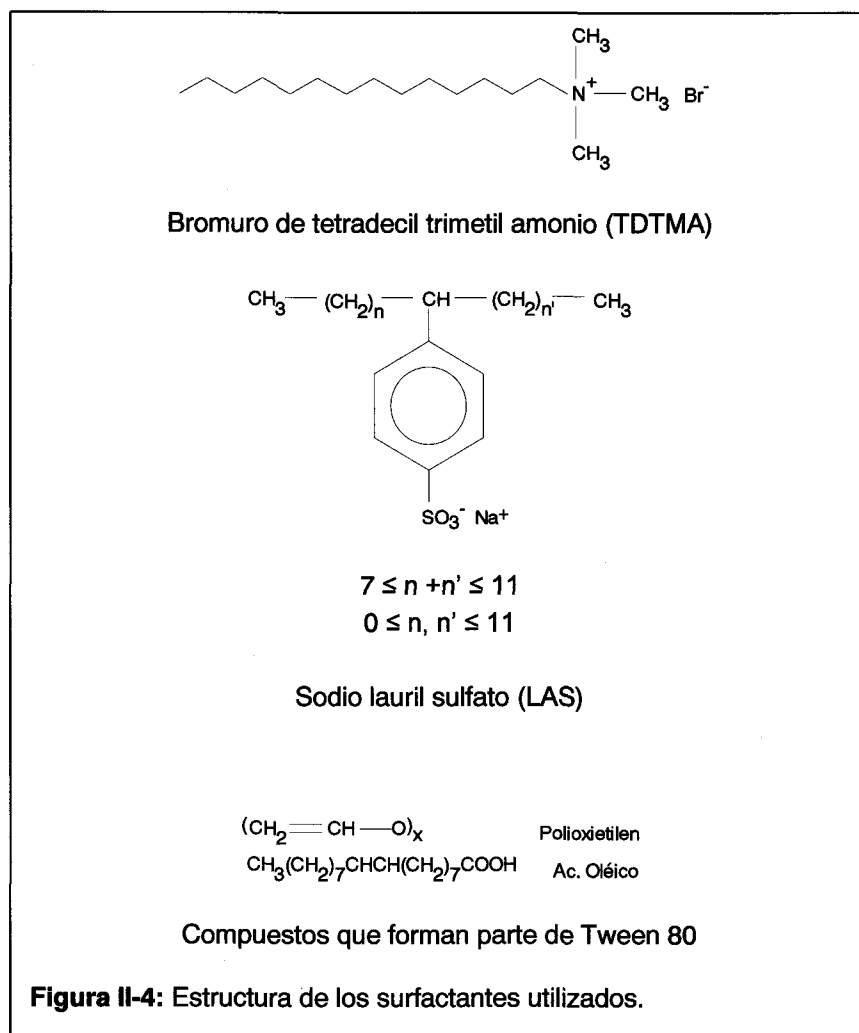
Tabla II-1: Propiedades químicas de los insecticidas utilizados (Tomlin,1997).

Compuesto	Pm	Pf (°C)	Pv (mPa)	Kow	Sol. H <sub>2</sub> O* (mg L <sup>-1</sup> )	Sol. Acet. (mg L <sup>-1</sup> )	Sol. Hex. (mg L <sup>-1</sup> )	Sol. Tol. (mg L <sup>-1</sup> )
Metidation	302,3	39-40	2,5 x 10 <sup>-1</sup>	2,2	200	670	11	720
Bromofos	366,0	53-54	17	-	0,7	-	-	-
Malation	330,3	2,5	5,3	2,75	145	-	-	-
Metil azinfos	317,3	73	5,4 x 10 <sup>-4</sup>	2,96	28	>250	-	-

\*Solubilidad a 20 °C

## 2.2 Surfactantes

El surfactante catiónico bromuro de tetradecil trimetil amonio (TDTMA), CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Br (Sigma-Aldrich, Madrid, España). Pureza del 99%, Pm:336,41, S(H<sub>2</sub>O)= 100 g L<sup>-1</sup>, P<sub>f</sub>= 245-250 °C, ρ<sub>aparente</sub>= 600 Kg m<sup>-3</sup>.



Sodio lauril sulfato (**LAS**), <math>C\_{10}</math>=0.8%, <math>C\_{10}</math>=8.7%, <math>C\_{11}</math>=40.7%, <math>C\_{12}</math>=34.7%, <math>C\_{13}</math>=14.3%, <math>C\_{14}</math>=0.8% (PETRESA, CEPSA, Cádiz, España) . Activo 14.4%. Este surfactante de tipo iónico, es uno de los principales constituyentes de gran parte de los detergentes y productos de limpieza comerciales (González-Mazo y col., 1996). Consecuencia de su amplio uso es su presencia en un elevado número de compartimentos del medio acuático y terrestre.

Polioxietilensorbitan monooleato, Tween 80 o Witconol 2722, (**T80**),  $C_{64}H_{124}O_{26}$  (Sigma-Aldrich, Madrid, España). Se forma por la esterificación de 1,4-sorbitan con el ácido oleico, seguido de la condensación 20 moles de óxido de etileno, para aumentar la solubilidad en agua del producto (Pennell y col., 1993) Es un surfactante no iónico, de grado alimentario, usado en la industria alimentaria y como complemento de la dieta.  $\rho_{\text{específica}} (20^{\circ}\text{C}) = 1,08 \text{ g cm}^{-3}$ , S ( $H_2O$ ) = soluble,  $T_{\text{ignición}} > 180^{\circ}\text{C}$ , Pm= 1310.

La concentración micelar crítica (cmc) para cada uno de estos surfactantes aparece resumida en la Tabla II-2.

**Tabla II-2:** Propiedades de los surfactantes empleados.

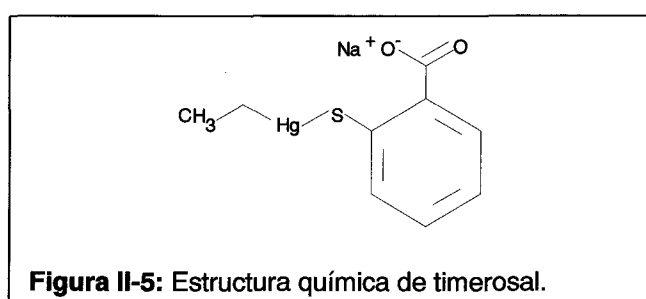
	Pureza	cmc (mg L <sup>-1</sup> )	Pm
TDTMA	99	0.1	336,41
LAS	14,4	2.22	*
Tween 80	-	14	1310

\* No se da información de Pm por ser una mezcla de hidrocarburos saturados.

## 2.3 Otros

### REACTIVOS

Timerosal: sal sódica de mercurio (Hg-[(O-carboxifenil)tio]etilo),  $C_9H_9HgO_2SNa$ , pureza 97%, Pm: 404,8, solubilidad en agua ( $20^{\circ}\text{C}$ )=  $1000 \text{ g L}^{-1}$ , Pf =  $230^{\circ}\text{C}$ ,  $\rho_{\text{aparente}} = 500 \text{ Kg m}^{-3}$  . Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).



**Figura II-5:** Estructura química de timerosal.

Acetato amónico, Panreac (Barcelona, España).

Bicarbonato Sódico, Panreac (Barcelona, España)

Carbonato Sódico, Panreac (Barcelona, España).

Cloruro Sódico, Panreac (Barcelona, España).

Hidróxido potásico, Merck (Darmstadt, Alemania).

Sulfato sódico anhidro, Merck (Darmstadt, Alemania).

#### MATERIAL DE LABORATORIO

Cartuchos de extracción C18 de 500 mg, Waters (Mildford, MA, EE.UU.).

Detergente líquido sin fosfatos Aquet (Manostat, NY, EE.UU.).

Insertos de vidrio de 0,2 mL, Cromacol.

Jeringas Hamilton de 10, de 100 y 250  $\mu$ L.

Papel Parafilm.

Pipetas Pasteur.

Soxhlet de 125 mL de capacidad.

Tubo de Silicona, 1 cm diámetro externo.

Tubos de vidrio con tapón de rosca, POBEL 16, 18 y 20.

Viales de vidrio de 1,2 mL de volumen con tapón de rosca dotado de tapa recubierta de silicona, SUPELCO.

#### MATERIAL DE VIDRIO

Todo el material de vidrio utilizado ha sido clase A, de uso habitual en un laboratorio de análisis.

Tras su uso, se lava con acetona para análisis, se enjuaga con agua, se lava con detergente sin fosfatos y se enjuaga con agua de grifo, destilada y MilliQ. Después se deja escurrir boca abajo hasta que se seca (material graduado) o se introduce en estufa a 70 ° C, en posición vertical boca abajo. Una vez seco y frío se lava con acetona para análisis de residuos y se vuelve a colocar boca abajo hasta que se seca por completo.

Periódicamente se desengrasa introduciéndolo durante aproximadamente 24 h en una solución de potasa alcohólica (120 mL de agua + 120 g de KOH + 880 mL metanol) y se lava posteriormente de la forma descrita en el párrafo anterior.

#### INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

Agitador de tubos Reax 2000 (Heidolph, Alemania).

Balanza de precisión, Mettler AE240.

Balanza electrónica COBOS D-600, COBOS S.A. (Barcelona, España).

Baño /manta calefactor, Selecta.

Bomba de vacío, Comerinsa (Madrid, España).

Bomba peristáltica.

Cámara termostaticada HOTCOLD-M, Selecta.

Estufa Selecta.

Frigorífico, Bauknecht.

Horno microondas de cocina, Moulinex (España)

Molinillo de café con mecanismo molidor, KSW 2304 (Kempen, Alemania).

pHmetro, Crison 506.

Rotavapor Laborota (Heidolph, Alemania).

Sistema de vacío de extracción múltiple, Supelco.

### GASES

Aire sintético N50, Air Liquide, SEO.

Helio C-50, Carburos Metálicos S.A.

Hidrógeno N-50, Air Liquide, SEO.

Nitrógeno N-50, Air Liquide, SEO.

Nitrógeno seco (para concentración a sequedad) Carburos Metálicos S.A.

### DISOLVENTES

Acetona para análisis (PA), Panreac Química SA (Barcelona, España).

Acetona para análisis de residuos (PAR), Labscan (Dublín, Irlanda).

Hexano para análisis de residuos (PAR), Merck (Darmstadt, Alemania).

Metanol para análisis (PA), Panreac Química SA (Barcelona, España).

Tolueno para análisis de residuos (PAR), Merck (Darmstadt, Alemania).

La Tabla II-3 recoge algunas propiedades de interés de los disolventes utilizados.

**Tabla II-3:** Propiedades físico-químicas de los disolventes empleados (Seaver y Przybytek, 1995).

	Viscosidad (cP)	Peb (°C)	M*	Polaridad (P)	Poder Eluotrópico		
					Alúmina	C18	Sílice
<b>Acetona</b>	0,36	56,29	15,17	5,1	0,56	8,8	0,53
<b>Hexano</b>	0,31	68,7	29	0,1	0,01	-	0,00
<b>Tolueno</b>	0,59	110,62	23	2,4	0,29	-	0,22
<b>Metanol</b>	0,55	64,7	12	5,1	0,95	1,0	0,7

\*M: número de miscibilidad. Aquellas parejas cuyos números M difieran en 15 unidades o menos son miscibles en todas las proporciones a 15 °C. Una diferencia de 17 o más, indica inmiscibilidad.

### SOFTWARE

HP GC ChemStation (Rev. A.06.03 [509] ), 1990-1998.

Statgraphics Plus 3.1 (Statistical Graphics Corp., Rockville, MA, USA)

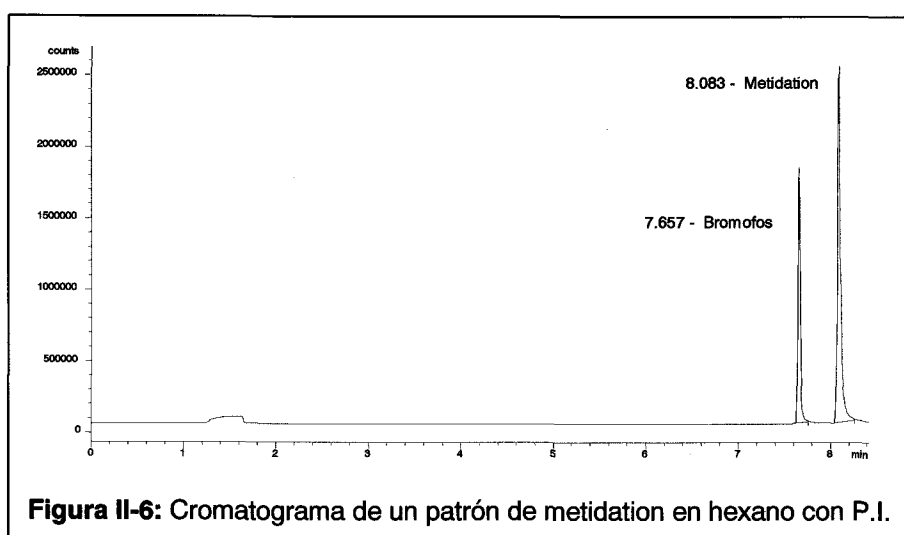
## 2.4 Condiciones Cromatográficas

Se ha utilizado un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard Serie II 5890, equipado con un detector fotométrico de llama (FPD), inyector automático Hewlett-Packard 6890 con y sin división de flujo. El software empleado por el equipo para el control de las condiciones cromatográficas e integración automáticas ha sido HP GC ChemStation.

Se utilizó una columna Ultra 2 (5% de fenil metil silicona, Hewlett Packard) de 25 m de longitud, 0,32 mm de d.i. y 0,17  $\mu\text{m}$  de grosor, conectada a una precolumna de 5 m de longitud y 0,32 mm de d.i. (silicona, Hewlett Packard). El helio fue usado como gas portador a un flujo de 2 mL  $\text{min}^{-1}$ , y el nitrógeno como gas auxiliar a un flujo de 20 mL  $\text{min}^{-1}$ . Las temperaturas del inyector y el detector fueron de 200 y 260 °C, respectivamente.

El programa de temperatura empleado fue el siguiente: temperatura inicial del horno 45 °C (1 min), calentamiento hasta 235 °C a 35 °C  $\text{min}^{-1}$ , y mantener durante 2,5 min a 235 °C. Con estas condiciones de inyección los tiempos de retención para bromofos y metidation fueron de 7,8 y 8,1 min, respectivamente (Figura II-6).

En todos los casos el volumen de muestra inyectado fue de 1  $\mu\text{L}$ , en modo "splitless" (o sin división de flujo), con la muestra disuelta en hexano o en una mezcla hexano-tolueno (HT) 1:1.



## 2.5 Preparación de soluciones patrón

### 2.5.a Patrones en disolventes orgánicos

Para la preparación de soluciones patrón de metidation, y en su caso, malation y metilazinfos, se prepara una solución madre a 1g  $\text{L}^{-1}$ , pesando 10,0 mg de ingrediente

activo, que se disuelven en 10 mL de acetona PAR. A continuación por dilución 1:10 en hexano PAR se obtiene una solución a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , que se utiliza para obtener patrones de distintas concentraciones mediante diluciones sucesivas en hexano PAR.

El bromofos, usado como patrón interno (P.I.), se preparó de igual forma: partimos de una solución madre a  $1 \text{ g L}^{-1}$  en acetona PAR, y por dilución en hexano PAR se preparan soluciones de  $100$  y  $5 \text{ mg L}^{-1}$ , que se utilizarán posteriormente para adicionar a las muestras que contengan metidation.

### **2.5.b Patrones en solución acuosa**

Las soluciones acuosas de metidation se prepararon por dilución con agua MilliQ de una madre a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . Esta solución fue preparada pesando la cantidad necesaria de ingrediente activo y disolviéndolo en el volumen necesario de acetona PAR, de modo que la solución final tenía una proporción de acetona en agua del 2%. A continuación se enrasaba al volumen deseado con agua MilliQ.

## **2.6 Curvas de calibrado**

Se realizaron tres curvas de calibración distintas entre distintos rangos de concentración, para poder cuantificar todas las muestras que se obtuvieron posteriormente.

Las inyecciones de los patrones para la obtención de las curvas de calibrado se realizaron en todos los casos por triplicado, durante tres días distintos y según las condiciones descritas en el apartado 2.4. La preparación de los patrones de las distintas curvas empleadas, se describe a continuación.

### **2.6.a Curvas concentradas: METCPI y METMEZCPI**

La curva de calibrado concentrada, se obtuvo tras la inyección de cinco muestras de plaguicida comprendidas en el rango de concentraciones  $1-20 \text{ mg L}^{-1}$  (1, 5, 10, 15 y 20). Para ello se midió 1 mL de solución patrón preparada en hexano, al que se le añadió 25  $\mu\text{L}$  de bromofos a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , preparado en hexano. En la curva de calibrado METCPI se emplearon patrones de metidation, y en la METMEZCPI soluciones patrón que contenían metidation, malation y metil azinfos.

### **2.6.b Curva diluida: METDILPI**

Para la curva de calibrado diluida se prepararon cinco patrones en hexano de metidation, con una concentración comprendida entre  $0,1-1 \text{ mg L}^{-1}$  (0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1), se midieron alícuotas de 1 mL y se les añadieron 25  $\mu\text{L}$  de bromofos a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  en hexano.

### **2.6.c Curva micro: METMIPI**

Para esta curva se prepararon cinco patrones en hexano, con concentraciones comprendidas entre  $0,02$  y  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$  (0,02, 0,05, 0,08, 1, 1,2 y 1,5). Se midieron 200  $\mu\text{L}$  de cada uno de ellos y se les añadieron 5  $\mu\text{L}$  de P.I. preparado a  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . Después de

agitar la mezcla se introduce con ayuda de una pipeta Pasteur en un microvial de inyección de 200  $\mu\text{L}$ , para su inyección.

#### 2.6.d Parámetros estadísticos de las curvas empleadas

Tras la inyección de los patrones, las distintas curvas de calibrado se obtuvieron con el software HP GC ChemStation.

Una vez obtenidas las distintas curvas, la cuantificación se realizó de forma automática después de la inyección de la muestra. Para ello, si previamente se conocía la concentración aproximada de la muestra, se le añadía el volumen de P.I. necesario a la concentración adecuada, para calibrar con la curva que contenía la concentración de la muestra problema. Cuando la concentración se desconocía por completo, se realizaba una primera inyección sin P.I. para determinar qué curva se adaptaba mejor, y a continuación se le añadía la cantidad y concentración de P.I. necesaria según la curva elegida.

En la Tabla II-4 aparecen los principales parámetros analíticos de las curvas empleadas en la cuantificación de nuestro analito. Se han calculado la sensibilidad analítica, límite de detección (LD), límite de determinación (LDT) y la linealidad del método instrumental empleado, utilizando los datos obtenidos en la calibración con estadísticos del análisis lineal de la regresión (Cuadros y col., 1993; de la Colina y col., 1996b).

Tabla II-4: Parámetros analíticos de las curvas empleadas.

Curva Plaguicida /s	METCPI	METDPI	METMIPI	METMEZCPI		
	Met.	Met.	Met.	Met.	Mal.	Metazinf.
Rango ( $\text{mg L}^{-1}$ )	1 - 20	0,1 - 1	0,02 - 0,15	1 - 20	1 - 20	1 - 20
Linealidad (%)	99	98	97	99	99	98
Sensibilidad ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0,14	0,001	0,006	0,090	0,15	0,26
LD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0,410	0,003	0,017	0,65	1,1	0,74
LDT ( $\text{mg L}^{-1}$ )	1,4	0,010	0,057	2,2	3,7	6,2

Met.: metidation, Mal.: malation, Metazinf.: metil azinfos.

## 2.7 Características del suelo utilizado

El suelo utilizado en el presente trabajo procede de una parcela experimental de la Vega de Granada, situada en el municipio de Vegas del Genil, cercano a la localidad de Belicena. Se trata de un fluvisol calcáreo, situado a una altitud aproximada de 540 m, de topografía llana y con un buen drenaje. Es un suelo de uso agrícola en el que existen plantaciones de maíz, tabaco y árboles frutales, entre otras.

La descripción de cada uno de los perfiles según la FAO se exponen a continuación (Pérez y Prieto, 1980):

- Horizonte **Ap** (0-30 cm) : color en seco (10YR4.5/3) y en húmedo (10YR6/2.5). Presenta un textura franco-limosa, con una estructura migajosa de bloques subangulares finos y medianos. Se encuentran frecuentemente excretas de lombrices y raíces.
- Horizonte **IC** (30-70 cm) : color en húmedo (10YR5/3) con manchas difusas de color (5Y5/2). Textura franco-limosa y estructura en bloques subangulares de tamaño fino y medio. Frecuentes raíces muy finas y medianas.
- Horizonte **IIC** (70-120 cm) : color (10YR4/3.5) en húmedo. Textura franco-limosa, con estructura en bloques subangulares de tamaño fino y mediano. Existen superficies de presión que aumentan con la profundidad a partir de los 95 cm y pocas raíces de tamaño fino.

### **2.7.a Toma de muestra**

La recogida de las muestras de suelo a los tres niveles de profundidad ensayados se realizó con ayuda de una barrena manual. Tras su recogida se llevan al laboratorio donde se dejan secar al aire hasta que alcanzan un grado de humedad intermedio para su manejo.

A continuación se deshace la tierra con ayuda de un rodillo y se tamiza con un tamiz de 2 mm de chapa perforada. La fracción tamizada se deja secar al aire, se pesa e identifica, y se guarda en bolsas de PVC a temperatura ambiente.

### **2.7.b Determinación de la humedad**

Se trasvasan porciones de la muestra por duplicado a un vaso de precipitados tarado y se pesa en balanza electrónica ( $\pm 0,1$  g). A continuación las muestras se desecan en estufa a 105°C hasta peso constante (unas 24 h), se dejan enfriar en desecador y se vuelven a pesar. Por diferencia de peso se calcula el porcentaje de humedad, refiriéndolo como porcentaje de peso seco a 105 °C (Weber, 1986).

### **2.7.c Determinación de la capacidad de campo (CC)**

Se colocan muestras tamizadas (<2 mm) por duplicado en anillos de retención sobre una placa de porcelana porosa, que es recubierta con agua para mojar el suelo desde abajo. Una vez hecho esto, la placa se recubre con una lámina de plástico y se deja reposar una noche. Transcurrido este tiempo se aplica a la placa una presión de 1/3 atm durante 6 días, y se transfieren las muestras a un pesasustancias para hacer una determinación de la humedad de la forma descrita en el apartado anterior. El porcentaje de humedad calculado coincidirá con la capacidad de campo de cada una de las muestras.



#### **2.7.d Determinación del pH**

Se pesa una cantidad de suelo y se le añade agua destilada en una proporción 1:2,5. La mezcla se agita con un agitador magnético y se mide el pH de la suspensión (Métodos Oficiales de Análisis (Tomo III), 1986, MAPYA).

#### **2.7.e Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

Se realiza siguiendo los métodos convencionales descritos en Soil Conservation Service (1972). La muestra natural molida y mezclada con celite (para facilitar el drenaje), se coloca en un tubo de percolación. Se hace pasar una disolución de acetato amónico 1N a pH 7, con el fin de reemplazar los cationes de la muestra por  $\text{NH}_4^+$ . Después se lava con alcohol de 60° para eliminar el  $\text{NH}_4^+$  en exceso, hasta que el líquido de lavado dé negativa la reacción de Nessler. Por último, se desplaza el catión amonio por  $\text{Na}^+$  percolando la muestra con una disolución de NaCl 2N acidificada al 10 % con HCl. El amonio desplazado se analiza por el método de Kjeldhal.

#### **2.7.f Determinación del carbono orgánico total (C.O.T.)**

El carbono orgánico del suelo o del lodo residual se oxida con dicromato potásico en presencia de ácido sulfúrico. El exceso de oxidante se valora con sulfato ferroso amónico y la cantidad de carbono orgánico oxidado se calcula a partir de la cantidad de dicromato reducido (M.A.P.A., 1986).

#### **2.7.g Determinación de la densidad del suelo**

La densidad del suelo en la capa superficial era aproximadamente de  $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ , y se determinó por el método de Bourger (Marañés y col., 1995).

Las principales características de cada uno de los perfiles aparecen resumidas en la Tabla II-5.

### **2.8 Características de los lodos de depuradora**

Los lodos utilizados proceden del tratamiento de las aguas residuales urbanas de la ciudad de Granada, realizado en la estación depuradora EDAR Sur, situada en el camino de Purchil (Granada).

Se trata de unos lodos mixtos (primarios y secundarios), sometidos a un procedimiento de digestión anaerobia, y que fueron secados y molidos en un molino de áridos. Una vez procesados se recogió una pequeña parte de la planta de tratamiento y se trasladó al laboratorio, donde se desecaron (estufa 60 °C) y molieron para su utilización en experiencias posteriores. La otra parte, después de someterse al proceso de molido se secaron al aire para su posterior utilización el campo.

Las características principales aparecen descritas en la Tabla II-6. Para la determinación del contenido en metales las muestras se sometieron a una digestión ácida con agua

regia, en un microondas de laboratorio. Posteriormente se llevaron a un volumen de 10 mL con agua, se centrifugaron y se analizaron por espectrometría de absorción con una llama de acetileno-aire.

El contenido en metales pesados cumple con la legislación vigente (véase Tabla II-6 de la introducción), poseen un 40% de materia orgánica, un pH de 7,2 y su composición mineral se encuentra dentro de los valores medios recogidos por Felipó y Garau (1987).

**Tabla II-5:** Características fisicoquímicas del suelo.

Prof. Suelo (cm)	pH	Ar/L/Arc %	C.O.T. g kg <sup>-1</sup>	N %	Ca/Mg/K (cmol Kg <sup>-1</sup> )	CIC (cmol Kg <sup>-1</sup> )	Filosil. %	Mont. %	CC (1/3 bar %)
0-25	8,5	31/58/11	92	0,13	35,6/3,2/0,19	7,9	30	6	27
50-75	9,0	33/60/7	45	-	33,6/2,7/0,10	6,2	33	10	24
100-110	8,5	28/63/9	36	-	37,2/3,6/0,09	6,8	39	6	28

Ar/L/Arc = Arena/Limo/Arcilla; Filosil.: filosilicatos; Mont.: Montmorillonita; Contenido de CO<sub>3</sub>Ca en la capa arable = 34%

**Tabla II-6:** Características del lodo de depuradora.

pH	C.O.T. g kg <sup>-1</sup>	Ác. Húmicos (%)	Ac. Fúlvicos (%)	Cd	Cr	Pb	Zn	Ni	Cu
7,2	23	1,6	0,47	2,5	60	349	772	103	284

## 3 Metodología

### 3.1 Extracción de soluciones acuosas diluidas

La extracción de soluciones acuosas diluidas se realizó mediante SPE en cartuchos C18.

El procedimiento utilizado fue el siguiente: acondicionamiento con 5 mL de tolueno, 5 mL de metanol y 10 mL de H<sub>2</sub>O MilliQ; paso de 200 mL de muestra, a un flujo de unos 15 mL min<sup>-1</sup>, y lavado del material con 10 mL de H<sub>2</sub>O MilliQ; secado del cartucho aplicando vacío durante 30 min y elución con 3 x 0,5 mL de tolueno, pasando la muestra por sulfato sódico anhidro y lavando el sulfato con 0,5 mL de tolueno.

Una vez procesada la muestra se llevaba a sequedad en corriente de N<sub>2</sub> y se redisolvió en 0,2 mL de hexano PAR. Para su inyección se le añadían 25 µL de bromofos a una concentración de 5 mg L<sup>-1</sup>, se introducía en un microvial de 200 µL y se cuantificaba con la curva METMIPI.

En las pruebas previas cuando se utilizaron mezclas de dos disolventes, el procedimiento empleado consistió en el acondicionamiento de los cartuchos con 5 mL de cada disolvente orgánico elegido, seguido de 5 mL de metanol y 10 mL de H<sub>2</sub>O MilliQ. A continuación se pasaban 200 mL de una solución acuosa preparada a 0,1 µg L<sup>-1</sup> a un flujo de unos 15 mL min<sup>-1</sup>, y se lavaba el material con 10 mL de H<sub>2</sub>O MilliQ. El cartucho se dejaba secar con el paso de vacío durante 30 min y la elución se realizaba con fracciones de 0,5 mL del disolvente /s empleado /s en el proceso de acondicionamiento del cartucho, pasando la muestra por sulfato sódico anhidro. Finalmente el sulfato se lavaba con 0,5 mL de disolvente y la muestra se procesaba de la forma descrita anteriormente.

### 3.2 Extracción de soluciones acuosas concentradas

#### EXTRACCIÓN POR MICROONDAS (MAP)

Se parte de una solución acuosa a 5 mg L<sup>-1</sup> preparada de la forma descrita en el apartado 2.5.b, de la que se toma una alícuota y se le añade un volumen de una mezcla de hexano:tolueno (HT) 1:1. La muestra se introduce en un tubo de vidrio POBEL 17 con tapón de rosca y se agita en un agitador de tubos.

Una vez agitada la muestra, se coloca dentro de un vaso de precipitados en el centro de la cavidad del microondas, y se extrae en las condiciones que se describen en el diseño (Tablas II-9 y II-10). Finalizado este paso, los tubos se introducen en el congelador durante el tiempo necesario para que se congele la fase acuosa, y a continuación la fase orgánica se trasvasa a un tubo de ensayo donde se le añade la cantidad necesaria de P.I. para su cuantificación (25 µL de bromofos a 100 mg L<sup>-1</sup>).

La determinación analítica se realiza según lo descrito en el apartado 2.4.

### MICROEXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO (micro ELL)

Se toma 1 mL de la solución patrón a 5 mg L<sup>-1</sup>, y se agita con 2 mL de una mezcla HT (1:1), la fase orgánica se separa y se seca pasándola por 2 g de sulfato sódico anhidro. El proceso se repite dos veces, utilizando 2 y 1 mL de la mezcla orgánica. Por último el sulfato sódico se lava con 0,5 mL de HT (1:1) y se le añade el patrón interno antes de su inyección.

La determinación analítica se realiza según lo descrito en el apartado 2.4.

### EXTRACCIÓN POR AGITACIÓN (VORTEX)

1 mL de la solución patrón se agita en el agitador de tubos con 2 mL de HT (1:1). La muestra se congela y se procesa de la forma descrita anteriormente.

La determinación analítica se realiza según lo descrito en el apartado 2.4.

## **3.3 Extracción de muestras de suelo**

Se utilizaron suelos de la capa superficial, tamizados (<2 mm) y esterilizados mediante autoclavado, irradiación con rayos gamma o adición de timerosal.

Para el autoclavado, las muestras de suelo se sometieron durante tres días a tres sesiones, de 1 hora de duración cada una de ellas, de vapor fluente a 90 °C. Transcurrido este tiempo se dejaba secar al aire y se tamizaba (<2mm) para homogeneizar la muestra.

La esterilización con timerosal se realizó con la adición a saturación de una solución del compuesto al 2 por mil a la muestra de suelo. Posteriormente se dejó secar al aire y se tamizó para su posterior utilización.

La irradiación de las muestras de suelo se llevó a cabo con una fuente de Co-60, utilizando una dosis de 25 kGy durante 67,3 h, en los laboratorios de la Swiss Federal Research Station de Wädenswil (Suiza) (Zehnder, 1974).

Como disolventes para la extracción se emplearon acetona y una mezcla HT (1:1). Los criterios elegidos fueron por un lado la elevada solubilidad de metidation en acetona y tolueno, y por el otro la volatilidad de los mismos, por lo que se utilizó una mezcla HT en lugar de tolueno puro, debido a la necesidad de la concentración posterior de la muestra.

La preparación de muestras adicionadas con metidation se hizo por adición sobre una cantidad pesada de suelo del volumen de solución de metidation necesario para que la concentración final fuese de 0,1 µg g<sup>-1</sup>, dosis de las habitualmente aplicadas en campo (de Liñan, 2000). La mezcla se dejaba en contacto 2h en cámara termostata a 15 °C, y no se homogeneizaba debido a que las muestras eran extraídas en su totalidad.

En primer lugar se hizo un screening de la influencia de la humedad, y se realizaron ensayos con 6 réplicas de 30 g de suelo adicionado con metidation y esterilizadas con timerosal, autoclavado o irradiado, a distintos porcentajes de humedad (10, 23,3, 30 y 40 %, referidos a peso de suelo seco) y con el empleo de acetona o HT(1:1) como

disolventes. El procesamiento posterior de las muestras fue distinto dependiendo del disolvente empleado.

La extracción con HT se realizó durante 2h con 75 mL de la mezcla de disolventes. Tras la extracción, la muestra se dejaba enfriar y se concentraba en rotavapor a 70 °C hasta casi sequedad. A continuación, la muestra era trasvasada a un vial con 3 x 0,5 mL de hexano y concentrada en corriente de nitrógeno hasta un volumen final de 1 mL. Para su inyección se le adicionaba un volumen de 25 µL de P.I. a 100 mg L<sup>-1</sup>.

En el caso de la acetona, la extracción se llevó a cabo con 75 mL durante 2h. Una vez enfriadas las muestras, se concentraron en rotavapor a 40 °C hasta el mínimo volumen posible, dada la cantidad variable de agua en el extracto, debida a la humedad del suelo. Para la extracción del analito se tomó una alícuota de 1 mL y se utilizó el procedimiento de extracción por microondas descrito en el apartado 4.1, debido a que la muestra final era fundamentalmente acuosa.

Para el estudio del efecto matriz en la extracción con Soxhlet, se realizaron varios ensayos con suelo adicionado con metidation en las condiciones anteriormente descritas, sólo (S) o enmendado con lodos de depuradora (SL), con el surfactante (SS) o con una combinación de ambos (SLS). La enmienda con lodos se hizo por pesada y adición al suelo de la cantidad correspondiente. La del surfactante se realizó por adición de entre 2 y 20 mg del surfactante catiónico TDTMA, partiendo de soluciones acuosas del mismo a 10 cmc y 100 cmc respectivamente. La aplicación de distintas cantidades de surfactante y lodo responde a la forma de trabajo empleada en estudios posteriores.

## **4 Resultados y discusión**

### **4.1 Soluciones acuosas diluidas**

Existen dos métodos principales de extracción de plaguicidas de soluciones acuosas: la extracción líquido-líquido (ELL), procedimiento mediante el cual el soluto pasa de la fase acuosa a una fase orgánica en la cual es más soluble, y la extracción en fase sólida (SPE), por la que la solución que contiene el analito se hace pasar a través de una columna en la que el analito queda retenido.

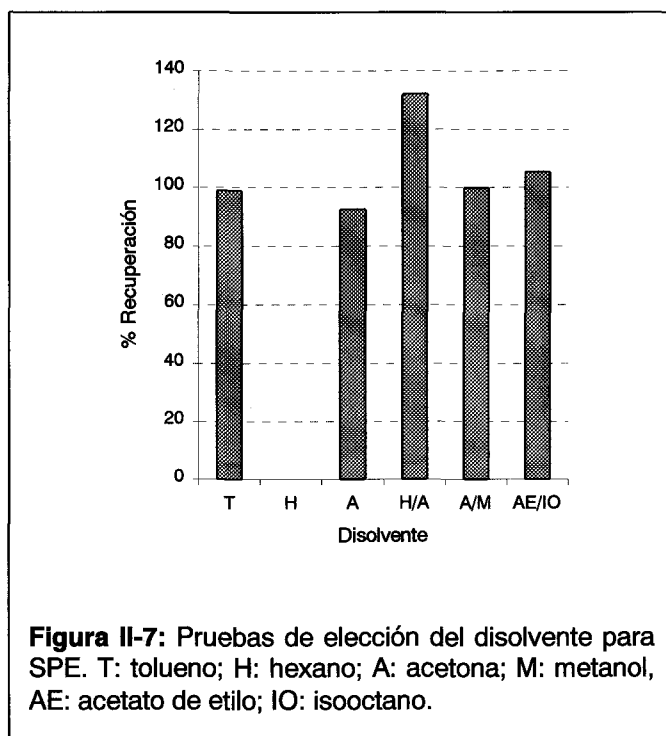
Una técnica muy empleada en el análisis de residuos de plaguicidas en soluciones acuosas es el método de extracción en fase sólida, ya que el volumen de disolvente necesario es muy pequeño en comparación con el necesario en la ELL. La extracción líquido-líquido es preferible cuando se sospecha que existe materia orgánica en disolución, ya que los plaguicidas pueden adsorberse fuertemente a estas sustancias, y este método de extracción es más eficaz (Åkerblom, 1995).

Antes de realizar la extracción de soluciones acuosas que contengan residuos de plaguicidas existen una serie de consideraciones que hay que tener en cuenta (Åkerblom, 1995):

- El material utilizado debe de ser inerte desde el punto de vista de la adsorción, y restringirse a material de vidrio, teflón o acero inoxidable. Tras su lavado con detergente debe aclararse con agua y un disolvente orgánico para arrastrar los residuos que pudiesen quedar.
- Los reactivos sólidos que se usen deben ser purificados, calentándolos a temperaturas elevadas ( $> 400\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) o extrayéndolos en Soxhlet con un disolvente orgánico.
- Realizar lavados del material donde se almacene la muestra para su análisis con el disolvente que se utilice para su posterior extracción, ya puede quedar en parte adsorbido a las paredes del recipiente que lo contiene.
- La filtración de la muestra puede producir la retención de parte del analito.
- La presencia de m.o. en la solución acuosa puede retener a algunos plaguicidas, disminuyendo así la recuperación del método de extracción. Este es el caso de los plaguicidas más hidrófobos, como piretroides, OCIs, OPs.
- Adición de un P.I. al extracto final que corrija las fluctuaciones cromatográficas, debidas tanto al proceso de inyección como al de detección.

Se hicieron pruebas con distintos disolventes orgánicos para establecer aquéllos que conducían a las mejores recuperaciones. Los disolventes ensayados fueron: hexano acetona, tolueno, acetato de etilo, isooctano y mezclas de estos disolventes.

Los resultados obtenidos demostraron que, excepto en el caso de hexano, las recuperaciones fueron elevadas (Figura II-7).



La utilización de acetona por sí sola o en las mezclas, dio problemas en la elución al aparecer una especie de gránulos gelatinosos que no se evaporaban en corriente de nitrógeno, por lo que se desechó su utilización. Con la mezcla acetato de etilo-isooctano se obtuvieron buenos resultados, pero debido que el proceso de acondicionamiento era más largo, y a la dificultad de evaporación de la mezcla, se optó por la utilización de tolueno para el acondicionamiento y extracción de las muestras acuosas diluidas.

En las condiciones ensayadas (200 mL de una solución acuosa preparada a  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) se comprobó que no existía volumen de ruptura o "breakdown", acondicionando dos cartuchos de forma individual, y colocándolos uno encima del otro. Los cartuchos se eluyeron por separado, y en estas condiciones, se comprobó que todo el plaguicida era retenido en el primer cartucho y no pasaba nada al segundo.

Algunos autores (Brooks y col., 1989; McDowall, 1994; van der Horl y col., 1996; Meney y col., 1998) sugieren la adición de metanol a la muestra acuosa cuando el volumen de ésta es elevado, como una forma de mejorar las recuperaciones. El efecto del metanol se comprobó con la adición de este disolvente al 2,5, 5 y 10 % en soluciones acuosas de metidation preparadas a  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , que fueron extraídas por el procedimiento descrito anteriormente. Las recuperaciones obtenidas fueron similares en los tres casos ( $116 \pm 4 \%$ ), por lo que se desechó su uso para la extracción de volúmenes pequeños de soluciones acuosas del plaguicida.

Para obtener la recuperación del procedimiento y la influencia del volumen de muestra en la recuperación, se realizaron 5 réplicas con soluciones de metidation en agua MilliQ a  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , con volúmenes de 200, 100 y 50 mL. Los resultados muestran que la recuperación disminuyó cuando el volumen de muestra que se extrajo fue de 50 mL (Tabla II-7). Este ensayo se realizó ya que el volumen de agua intersticial de suelo en los ensayos de campo podía oscilar entre 0 y 500 mL, con una media de 100 mL (Adams y Thurman, 1991).

**Tabla II-7:** Valores de recuperación en muestras diluidas mediante SPE. Ensayos con distintos volúmenes de muestra.

V (mL)	Recuperación (%)	Desvest
200	104,23	13,6
100	99,84	9,5
50	89,51	6,0

Desvest: Desviación estándar

## 4.2 Soluciones acuosas concentradas

Para el análisis de muestras acuosas que contenían el analito en estudio, se puso a punto una nueva metodología analítica con ayuda del diseño experimental, basada en la utilización de la energía microondas. El uso de esta técnica en el análisis de distintos



compuestos ha experimentado un gran aumento en los últimos años (Paré y col., 1994; Fournier y col., 1998) debido a su simplicidad, rapidez y bajo consumo de disolventes.

La mayoría de los trabajos consultados emplean la extracción con microondas en matrices sólidas (Onuska y Terry, 1993; López-Ávila y col., 1994, 1995b, 1995c; Pylypiw y col., 1997; Düring y Gäth, 2000; Andréa y col., 2001). Pocos son los autores que han utilizado esta técnica para la extracción de plaguicidas de muestras acuosas (Chee y col., 1996). Onuska y Terry (1995) emplean un microondas de cocina para la extracción de bifenilos policlorados de muestras acuosas.

Debido a que las microondas son ondas electromagnéticas, pueden actuar como radiación electromagnética y producir fenómenos de polarización y rotación en las moléculas que presentan momento dipolar, sin alterar su estructura.

El proceso de extracción se basa en las características de la radiación microondas, que se comporta de distinta forma según la naturaleza química de las sustancias a las que se aplica. El parámetro que se utiliza para medir el nivel de adsorción es el valor de la constante dieléctrica: cuanto mayor es este valor, mayor es el grado de absorción de la energía microondas. Muchos disolventes orgánicos son transparentes a la radiación microondas debido a que presentan un bajo valor de la constantes dieléctrica, todo lo contrario a lo que ocurre con el agua. La aplicación de radiación microondas a la muestra se traduce en un aumento de la temperatura en la fase acuosa, que facilita que los compuestos orgánicos pasen a la fase orgánica en la cual son más solubles.

Por otro lado, la utilización de diseños experimentales en la optimización de métodos de extracción por microondas ha sido empleada por varios autores (Carro y col., 1997; Egizabal y col., 1998; Campos y col., 1998), ya que permite reducir el número de experiencias a realizar, y al mismo tiempo, determinar las variables que intervienen en el proceso.

De entre todas la variables que podían intervenir en el proceso de extracción se seleccionaron el volumen de muestra (VM), tiempo de calentamiento (TC), número de calentamientos (NC), volumen de la mezcla de disolventes seleccionados (VD), proporción de los disolventes en la mezcla extractante (HP) y la potencia del microondas (PM). Los valores entre los que oscilaron los parámetros seleccionados aparecen descritos en la Tabla II-8.

**Tabla II-8:** Valores de los parámetros estudiados en el diseño experimental.

Variable	Valor más bajo	Valor más alto
VM: Volumen de muestra (mL)	0,5	3
NC: Número de calentamientos	1	7
TC: Tiempo de calentamiento (s)	30	120
VD: Volumen de fase orgánica (mL)	1	3
PM: Potencia del microondas (%)	50	100
HP: Proporción de hexano	20	80

Para determinar qué parámetros intervenían en el proceso de extracción se utilizó un diseño factorial  $2^{6-2}$ , según la matriz del diseño que aparece en la Tabla II-9. Los experimentos se llevaron a cabo de forma individual, y en el orden que indica la matriz.

**Tabla II-9:** Matriz del diseño factorial  $2^{6-2}$ .

Experiencia	VM (mL)	NC	TC (s)	VD (mL)	PM (%)	HP (%)	Recup. (%)
1	0,5	7	120	3	50	80	91,4
2	3	1	120	1	50	80	89,45
3	3	1	30	3	100	80	88,14
4	3	7	120	3	100	80	92,14
5	0,5	7	30	3	100	20	100,78
6	0,5	1	120	1	100	80	97,80
7	3	7	120	1	100	20	87,68
8	1,75	4	75	2	75	50	96,07
9	1,75	4	75	2	75	50	98,40
10	0,5	7	120	1	50	20	101,66
11	0,5	7	30	1	100	80	91,20
12	3	1	120	3	50	20	90,23
13	3	1	30	1	100	20	91,56
14	3	7	30	3	50	20	85,77
15	0,5	1	30	3	50	80	81,03
16	0,5	1	30	1	50	20	100,01
17	0,5	1	120	3	100	20	91,40
18	3	7	30	1	50	80	85,98
19	1,75	4	75	2	75	50	99,86

El análisis de los resultados se realizó utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 3.1. El ANOVA de los resultados del diseño factorial  $2^{6-2}$  mostró que sólo el volumen de muestra (VM) y la proporción de hexano en la mezcla (HP) presentaban efectos significativos con valores del estadístico por debajo o muy cercanos al nivel de

significación ( $p = 0,0285$  y  $0,0529$  respectivamente). El resto de las variables estudiadas (PM, NC, VD, y TC), no presentaron un efecto significativo ( $p > 0,05$ ), y por esta razón se eliminaron las variables PM y NC. Sin embargo, las variables VD y TC no fueron rechazadas, al estar implicadas en interacciones de segundo orden con un valores muy cercanos al nivel de significación ( $p = 0,0500$  y  $p = 0,0543$ ).

Tras la selección de los parámetros que intervenían en el proceso de extracción, se amplió el diseño para determinar la superficie de la respuesta. La ampliación del diseño se llevó a cabo con un nuevo diseño factorial  $2^4$  al que se añadieron seis puntos centrales, lo que dio lugar a lo que se denomina "Central Composite Blocked Cube-Star Design". La realización de este diseño implicó la adición de once experimentos más, que se describen en la matriz representada en la Tabla II-10.

**Tabla II-10:** Central Composite Blocked Cube-Star Design (Diseño factorial  $2^4$ ).

Experiencia	VM (mL)	TC (s)	VD (mL)	HP (%)	%Recup. (%)
					90,30
20	0,2	75	2	50	91,00
21	1,75	75	2	50	94,60
22	1,75	75	2	0	81,24
23	1,75	75	2	100	92,95
24	1,75	75	2	50	101,07
25	1,75	75	2	50	83,58
26	1,75	75	0,5	50	87,15
27	1,75	75	4,15	50	89,03
28	1,75	0	2,0	50	89,03
29	4,5	75	2,0	50	86,77
30	1,75	172	2,0	50	102,87
<b>Check points</b>					
31	1	60	1	90	83,79
32	2	10	1,5	30	92,82
33	1,5	90	3,5	60	97,83
34	1	70	2	50	90,10
35	0,5	95	1,72	33	99,24
36	2	120	1,5	40	99,17

El ANOVA de los resultados indicó que los cuatro factores seleccionados, así como algunos términos cuadráticos en los que intervenían, eran significativos, y el valor no significativo del ajuste, indica que nuestro datos se ajustan al modelo propuesto.

Por tanto, los datos obtenidos se utilizaron para la obtención de la ecuación del polinomio de segundo orden (Tabla II-11) que permite calcular las superficies de respuesta (Figura II-8) y el valor de las recuperaciones teóricas (Tabla II-12).

**Tabla II-11:** Coeficientes de la ecuación polinómica de segundo orden.

Variable	Coefficientes de la regresión	Variable	Coefficientes de la regresión
Constante	100	VM * VM	-1,02
VM	-3,59	VM * VD	1,38
TC	-0,031	VM * HP	0,055
VD	6,02	TC * HP	0,0015
HP	-0,094	VD * VD	-2,27
		HP * HP	-0,0019

La confirmación de la validez del procedimiento de extracción se obtuvo con el procesamiento de seis puntos a distintas condiciones experimentales (check points, Tabla II-10). Usando la ecuación polinómica de segundo orden de ajuste al modelo (Tabla II-11), se compararon los valores experimentales con los teóricos (Tabla II-12), confirmando que la ecuación propuesta por el modelo es una herramienta adecuada para la predicción de los resultados.

**Tabla II-12:** Comparación entre los valores experimentales y los obtenidos con el modelo. Intervalo de confianza del 95%.

Experiencia	Valor experimental	Valores teóricos		
		Media	Valor inferior	Valor superior
31	83,8	87,4	83,4	91,4
32	92,8	95,6	91,7	99,4
33	90,1	90,2	86,6	93,8
34	97,8	97,2	94,6	99,7
35	99,2	100	96,1	103
36	99,2	96,7	94,5	101

De las representaciones de las superficies de respuesta (Figura II-8), se deduce que el factor volumen de disolvente (VD) limita la recuperación máxima que se puede obtener hasta el 97%, por lo que se escogió un valor de 2 mL para este factor, al ser fácilmente medible y encontrarse dentro del intervalo de volúmenes con los que se obtienen los resultados óptimos (1,4 y 2,3 mL). Del resto de los factores se puede observar que, cuando disminuye el volumen de muestra y la proporción de hexano en la mezcla, o cuando aumenta el tiempo de calentamiento, aumenta la recuperación.

Por todos estos motivos, y teniendo en cuenta las condiciones de manejo del procedimiento se decidió trabajar con 1 mL de muestra, 2 mL de HT en una proporción 1:1, 50% de potencia del microondas y durante 100 s. En estas condiciones, según el modelo teórico, los valores máximos de recuperación para metidation estarían comprendidos entre el 96 y 97 %. La determinación de la varianza experimental se realizó

con la desviación estándar de los puntos centrales del modelo, obteniéndose un valor del 4,1 %.

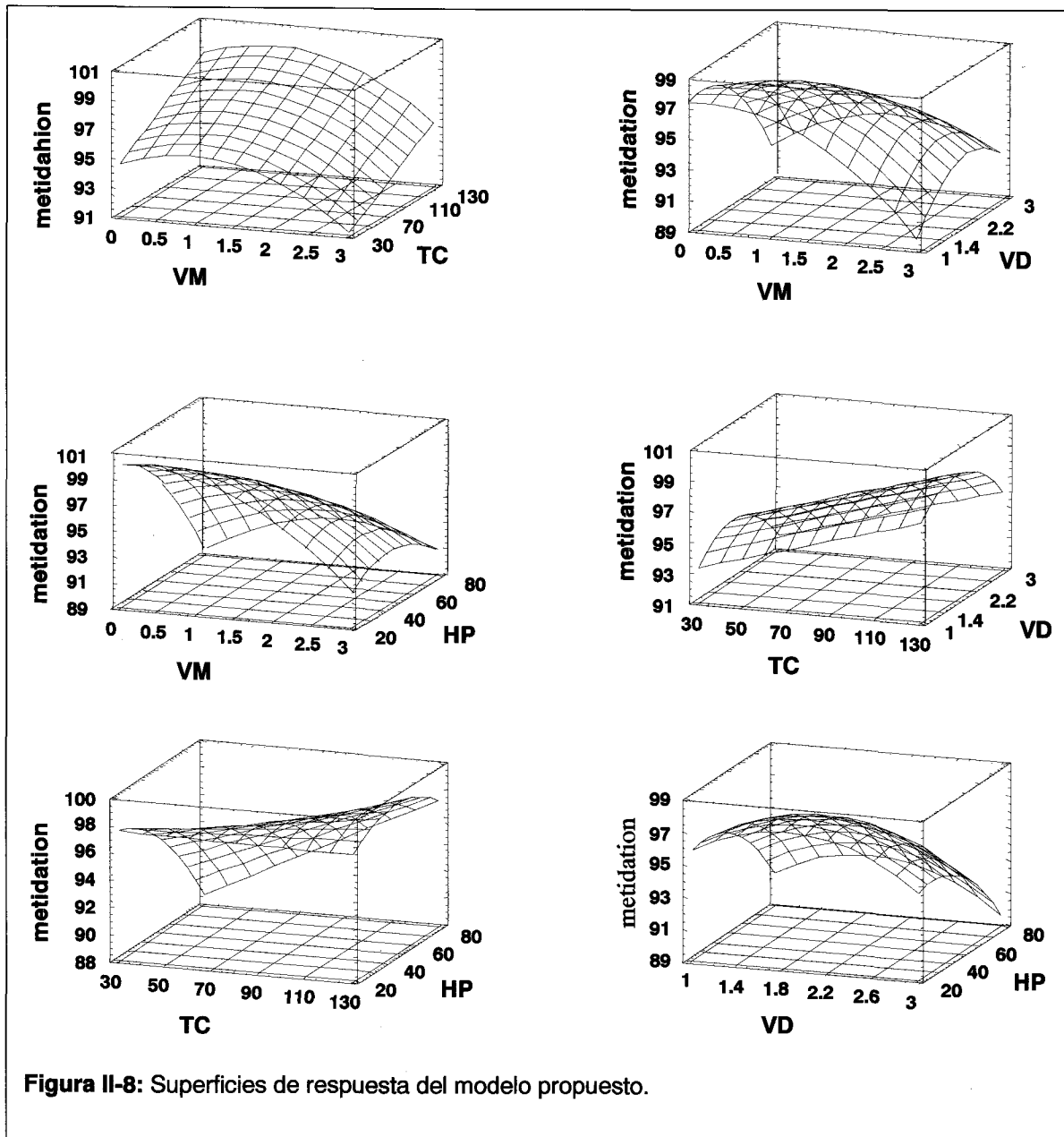


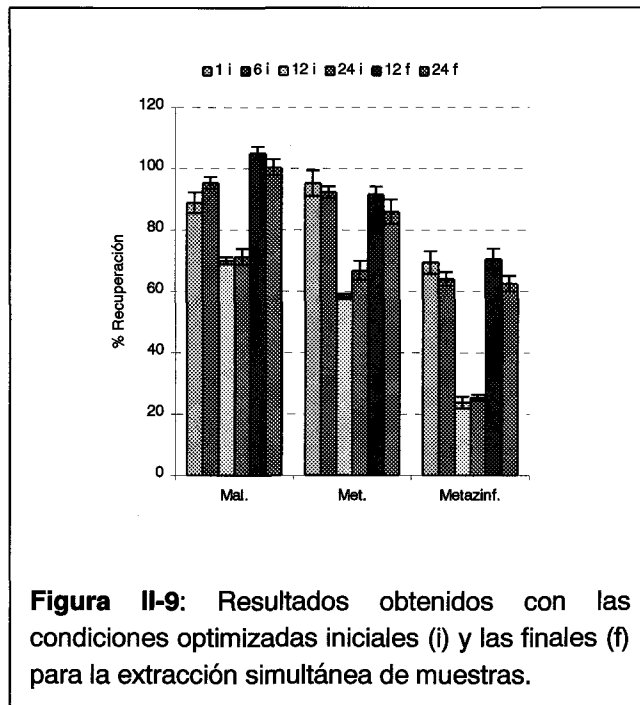
Figura II-8: Superficies de respuesta del modelo propuesto.

**4.2.a Extracción simultánea de metidation, malation y metil azinfos. Comparación con los métodos convencionales**

Debido a la necesidad de procesar un elevado número de muestras, se estudió la eficacia del proceso de extracción con grupos de 6, 12 y 24 muestras de forma simultánea. Para ello, se preparó una solución patrón a 5 mg L<sup>-1</sup>, que contenía a los plaguicidas metidation, malation y metil azinfos, se extrajo bajo las condiciones optimizadas del diseño (2 mL HT

(1:1), 50 % PM, 100 s) y se compararon los valores con los obtenidos de la extracción individual (Figura II-9).

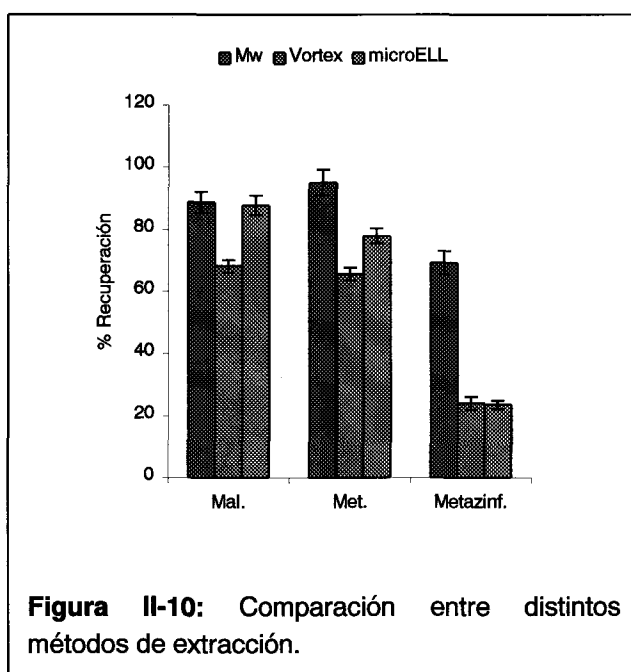
Los resultados del análisis estadístico mostraron que las recuperaciones eran significativamente distintas ( $p < 0,05$ ) de la extracción individual. Salvo en el caso de la extracción en grupos de seis muestras, en las que la diferencia es tan pequeña que se puede despreciar, en el resto de las extracciones múltiples estudiadas las recuperaciones fueron inferiores. Los resultados indican que cuando el número de muestras aumenta la energía del microondas es insuficiente para mejorar la extracción.



Debido a esto se midieron las temperaturas en los tubos de extracción bajo las condiciones de trabajo ensayadas, encontrándose valores de:  $37,7 \pm 4$  °C, para los grupos de seis muestras,  $34,5 \pm 3$  °C en el caso de grupos de 12 muestras y  $35,5 \pm 3$  °C para los 24 tubos. Para mejorar las recuperaciones se realizaron una serie de experiencias aumentando el tiempo de calentamiento y la potencia del microondas, en la extracciones de grupos de 12 y 24 muestras. Los resultados de estas experiencias mostraron que para grupos de 12 muestras las condiciones de extracción óptimas eran 100 s de calentamiento y 75 % de potencia, mientras que para los grupos de 24 se necesitaban 150 s de calentamiento y una potencia del 100 %. La dependencia de la temperatura y cantidad de muestra en la extracción por microondas de plaguicidas ha sido demostrada por otros autores (Bouaid y col., 2000). Lopez-Avila y col. (1998) en un estudio de extracción de varios plaguicidas OPs de muestras de suelo utilizando la energía de las microondas, encuentra que en este caso la temperatura es el factor que más afecta a la recuperación de este tipo de compuestos.

Para evaluar la exactitud del método se realizaron seis extracciones individuales de una muestra problema preparada a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  mediante MAP, microELL y agitación en Vortex (Figura II-10). El método de extracción con Vortex ha sido empleado por otros autores para la extracción de plaguicidas (DiVincenzo y col., 1996; Konstantinou y col., 2001).

El ANOVA de los resultados muestra que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tres métodos, para los tres plaguicidas estudiados. Los valores más altos de recuperación se obtuvieron con el método de extracción en microondas para metidation y malation. En el caso de malation los valores obtenidos en la extracción con MAP y microELL son similares y no difieren de forma significativa ( $p = 0,645$ ). Con azinfosmetilo, MAP obtiene los valores de recuperación más bajos, si se comparan con metidation y malation, pero son tres veces más altos que los obtenidos por los otros métodos empleados.



En general, MAP siempre conduce a recuperaciones mayores que el método de agitación o la microELL. El poco tiempo necesario para la extracción de las muestras, la posibilidad de la extracción simultánea de varias muestras y los bajos volúmenes de disolvente necesarios hacen que el procedimiento estudiado se haya utilizado para la extracción de soluciones acuosas concentradas de metidation.

**Tabla II-13:** Precisión de método de extracción MAP.

Precisión	Metidation	Malation	Metil azinfos
S <sub>a</sub>	5,75	4,67	7,92
S <sub>b</sub>	4,33	5,20	3,73
S <sub>total</sub> *	7,14	6,98	8,76

$$*S_{total}^2 = S_a^2 + S_b^2$$

Para evaluar la precisión de las medidas mediante MAP, se extrajeron seis alícuotas distintas de una solución patrón que contenía los tres plaguicidas, cada día (s<sub>a</sub>) y el proceso se repitió cuatro veces (s<sub>b</sub>). La varianza total de las medidas (S<sub>total</sub>) se obtuvo como la raíz cuadrada de la suma del cuadrado de la varianza de cada una de las experiencias. Las condiciones de extracción en MAP para los distintos casos considerados se muestran en la Tabla II-13.

**Tabla II-14:** Condiciones de extracción para MAP.

Condiciones Extracción	Nº Muestras			
	1	6	12	24
Vol. Muestra (mL)			1	
Vol. Disolventes (mL)			2 HT (1:1)	
TC (s)	100	100	100	150
% W*	50	50	75	100

\* W: potencia del microondas.

#### 4.2.b Estabilidad de las soluciones acuosas concentradas de metidation.

Muchos de los plaguicidas OPs son inestables, lo cual puede ser una ventaja desde el punto de vista medioambiental, y un inconveniente desde el punto de vista analítico (Bourne, 1978; Lacorte y col., 1995a). Pero en otros casos, se ha observado una mayor persistencia (Lacorte y col., 1995b), lo representa un riesgo medioambiental sobre todo para la vida acuática (Rechcigl y col., 2000). La hidrólisis química y la degradación microbológica son las principales vías de degradación de este tipo de compuestos (Crosby, 1970; Smith y col., 1978; Walker y col., 1988; Wolfe y col., 1990; Jeannot, 1994). La hidrólisis dependerá de la estructura, pH, temperatura, tipo de disolvente usado, y de la presencia de agentes catalíticos, como pueden ser las arcillas u óxidos metálicos (Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1983; Dannenberg y Pehkonen, 1998).

La necesidad de almacenar las soluciones acuosas de metidation nos llevó a realizar un estudio de la degradación de soluciones a distintas concentraciones (10, 20, 30 y 40 mg L<sup>-1</sup>), y conservadas a 5° C en condiciones de oscuridad.

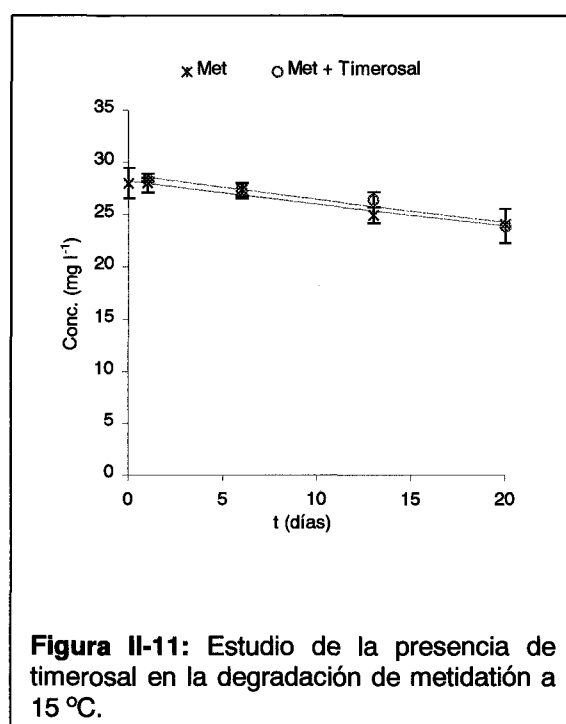
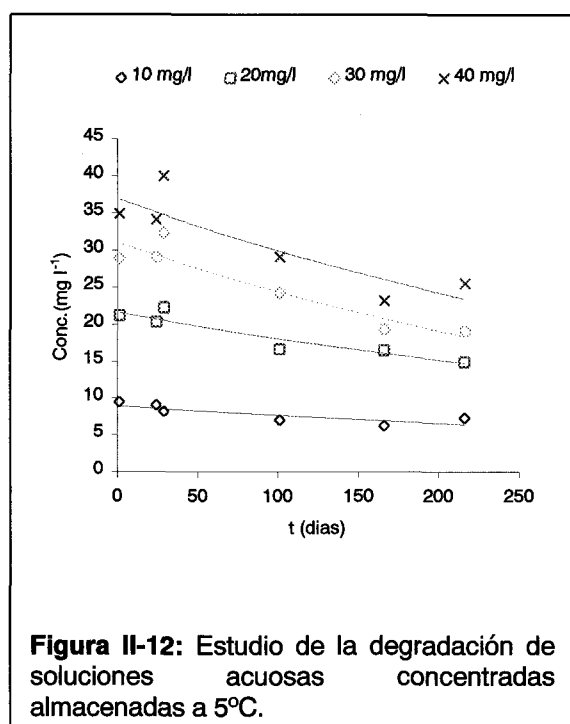


Por otro lado, debido a que el pH del suelo en estudio es básico, se estudió el efecto del mismo sobre una solución preparada en H<sub>2</sub>O MilliQ a 10 mg L<sup>-1</sup>. Para ello se separaron tres alícuotas, en una de ellas se añadieron unas gotas de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (1 N) con la que se obtuvo un valor de pH de 8,5, y con otra solución 0,1 N de CO<sub>3</sub><sup>-2</sup> se modificó el pH de la segunda alícuota hasta obtener un valor de 9,6. La tercera alícuota preparada en agua MilliQ se utilizó como control, obteniéndose un valor de pH de 6,5. Todas las soluciones se almacenaron en cámara termostaticada a 15 °C y en ausencia de luz durante 19 días (periodo durante el cual el pH no se modificó) y fueron extraídas por duplicado a diferentes intervalos.

Finalmente se estudió el efecto que producía en la degradación del insecticida la presencia de timerosal a una concentración del 2 ‰. Timerosal es una sal mercúrica que se emplea en la esterilización de muestras de suelo (Metzger y col., 1996) y que será empleado en estudios posteriores de degradación del plaguicida. Para ello se preparó una solución acuosa de metidation a 30 mg L<sup>-1</sup> que fue dividida en dos alícuotas, una de ellas se utilizó como control, y a la otra se le añadió timerosal hasta que la concentración en la solución alcanzó el valor anteriormente indicado. Las dos soluciones se almacenaron en cámara termostaticada a 15 °C, en condiciones de oscuridad y se extrajeron por duplicado a distintos intervalos.

Todas las extracciones fueron realizadas siguiendo el método de extracción MAP, descrito en el apartado 4.1.

Del análisis de la degradación de soluciones acuosas preparadas a distintas concentraciones y almacenadas a 5°C (Figura II-11, Tabla II-15), se deduce que la degradación del plaguicida en estas condiciones es lenta en todos los casos, presentando tiempos de vida media (t<sub>1/2</sub>) superiores a 280 días. Lartiges y Garrigues (1995b) también encuentran t<sub>1/2</sub> elevados (>200 días), en soluciones acuosas de plaguicidas OPs conservados a 6°C.

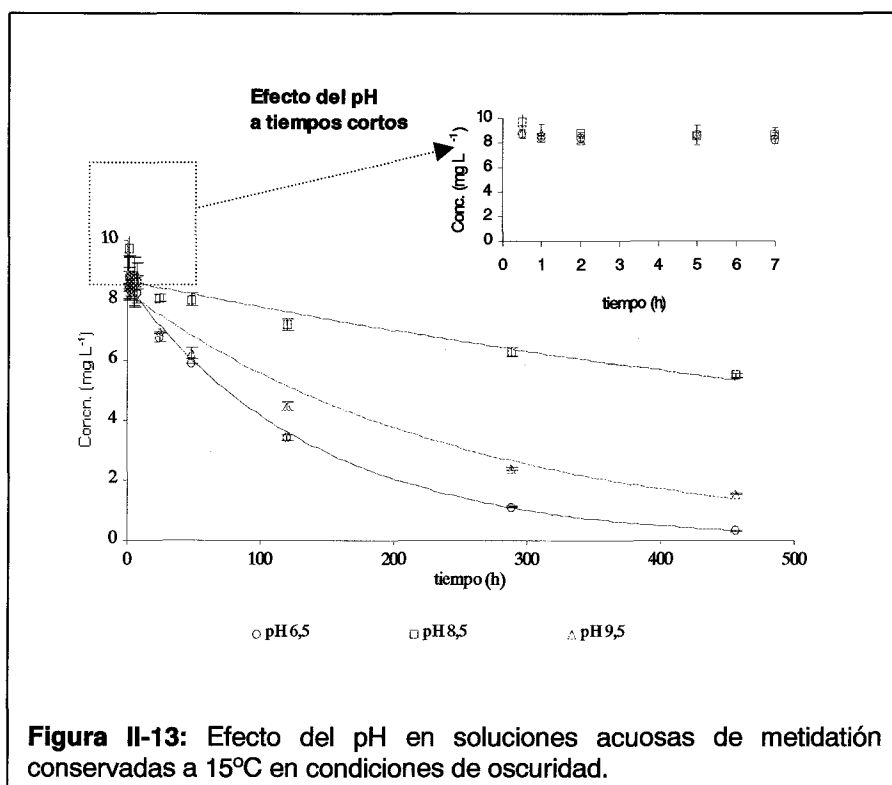


La presencia de timerosal a la concentración citada anteriormente no aumenta la degradación del insecticida, ya que los resultados obtenidos son similares a los de la solución control (Figura II-12, Tabla II-15).

Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Bourne (1978) quien encuentra que la refrigeración de soluciones acuosas de varios plaguicidas OPs a 4°C es una buena técnica para preservarlas. Kyriakidis y col. (2000) demuestran que metidation en muestras acuosas adicionadas, no sufren una degradación rápida si se almacenan a temperaturas entre 0 y 15°C. La degradación se ajusta al modelo exponencial de primer orden, obteniéndose tiempos de vida media de 114 días cuando se almacenan 15 °C, y de 385 días, cuando se mantienen a 5°C.

Los resultados del estudio de la influencia del pH en las condiciones anteriormente descritas (Figura II-13, Tabla II-15) muestran que la degradación del plaguicida depende del pH y del tiempo transcurrido. Cuando el tiempo de incubación es corto (< 7 h) la degradación del plaguicida es despreciable y similar en los tres casos estudiados. Sin embargo, transcurrido más de un día desde su preparación se observa que existen diferencias en la degradación de las tres soluciones preparadas, siendo mayor en las soluciones con valores de pH de 6,5 y 9,5 que la preparada a pH= 8,5.

Tras su ajuste a una ecuación exponencial de primer orden se pudieron obtener tiempos de vida media de 96, 178 y 693 días respectivamente, lo que indica que en estas condiciones la estabilidad de las soluciones acuosas de metidation es mayor cuando el pH alcanza valores cercanos a 8,5.



Por otro lado también se puede observar en la Tabla II-15, la degradación de metidation también se ve afectada por la temperatura ( $t_{1/2}$ =462 días a 5 °C, y 96 días a 10 °C), lo que sugiere que la hidrólisis puede ser la principal forma de degradación (Frank y col., 1991).

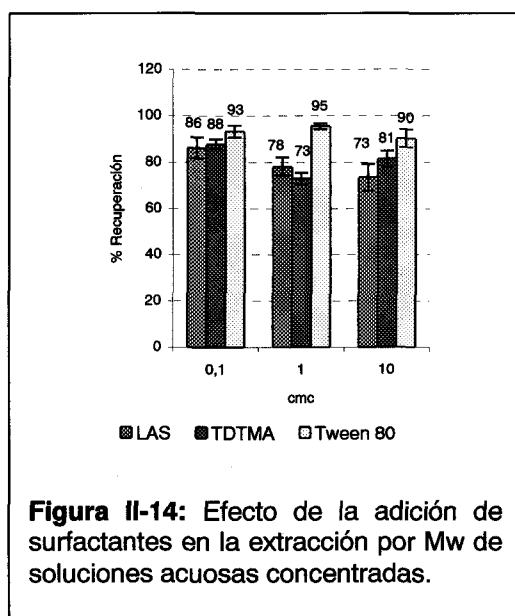
Lacorte y col. (1995b), estudian la degradación de metidation en soluciones acuosas de agua de río a pH = 8-8,5, T=21 °C, expuestas a la luz natural. En estas condiciones los  $t_{1/2}$  encontrados oscilan entre 9,9 y 6,5 días, lo cual indica la importancia de las condiciones ambientales en la degradación de metidation, y apunta que la degradación sea debida mayoritariamente a procesos fotolíticos y de tipo microbiológico, que no han estado presentes en nuestro ensayo debido a las condiciones del experimento.

#### 4.2.c Estudio de la adición de surfactantes: efecto matriz

El empleo de surfactantes en los estudios de adsorción del plaguicida nos llevó a investigar el efecto de su presencia en las recuperaciones de soluciones acuosas de metidation. Para ello se prepararon soluciones del insecticida a una concentración de 10 mg L<sup>-1</sup>, y se le adicionaron distintas cantidades de los tres tipos de surfactantes empleados (LAS, TDTMA y T80) hasta obtener concentraciones en solución de 1, 0,1 y 10 cmc, de cada uno de ellos. En estas condiciones fueron extraídas por triplicado alícuotas de cada una de la soluciones siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 4.1. Los resultados obtenidos aparecen en la Figura II-3.

En el proceso de extracción se observó en algunos casos la presencia de emulsiones. La aparición de emulsiones durante los procesos de extracción de compuestos hidrófobos de soluciones acuosas ha sido descrita por varios autores (Pennell y col, 1997; DiVincenzo y col.,1996). En nuestro caso la destrucción de las mismas se consiguió repitiendo el proceso de congelación al menos dos veces (tras la descongelación de la muestra extraída), hasta conseguir la separación total de la fase acuosa.

De los resultados obtenidos podemos concluir que la presencia de T80 es la que menos influye en la recuperación de metidation de las muestras acuosas. Tanto para LAS como para TDTMA se observa una disminución en las recuperaciones del insecticida que dependerá de la naturaleza del surfactante y de su concentración.



**Tabla II-15:** Parámetros del ajuste a la ecuación de primer grado  $C=C_0e^{-kt}$  en el estudio de la degradación de soluciones acuosas de metidation.

Conc (mg L <sup>-1</sup> )	Influencia de la concentración				Influencia del pH			Influencia timerosal	
	10	20	30	40	10			30	
Temp.	5 °C				15 °C			15 °C	
pH	6,5				6,5	8,5	9,5	Control	2 <sup>0</sup> / <sub>00</sub> timerosal
C <sub>0</sub>	8,92	21,60	31,04	36,93	8,50	8,63	8,25	28,21	28,81
Kx10 <sup>3</sup>	1,5	1,8	2,4	2,1	7	1	4	8,1	8,5
R <sup>2</sup>	0,6792	0,8900	0,9039	0,7896	0,9990	0,9183	0,9764	0,9644	0,9416
t <sub>1/2</sub>	462	385	289	330	96	693	178	86	82

### 4.3 Muestras de suelo

Para la extracción de muestras de suelo adicionadas con metidation, se intentó poner a punto una nueva metodología de extracción en microondas ya utilizado con éxito para el análisis de distintos contaminantes por distintos autores (Onuska y Terry, 1993; Molins y col., 1996; Font y col., 1998; Xiong y col., 1999; Düring y Gäth, 2000; de Andréa y col., 2001). Para ello, se hicieron pruebas de extracción por agitación con o sin microondas, utilizando el microondas de cocina anteriormente empleado. Se extrajeron muestras de 2 g de suelo adicionado con metidation a una concentración de  $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ , con distintas mezclas de disolventes, y se estudió la influencia de parámetros tales como tiempo, número de calentamientos, y la presencia o ausencia de agua.

Los resultados obtenidos además de ser poco reproducibles, tenían el problema de la separación de la fase orgánica del suelo, por lo que se optó por la extracción con Soxhlet.

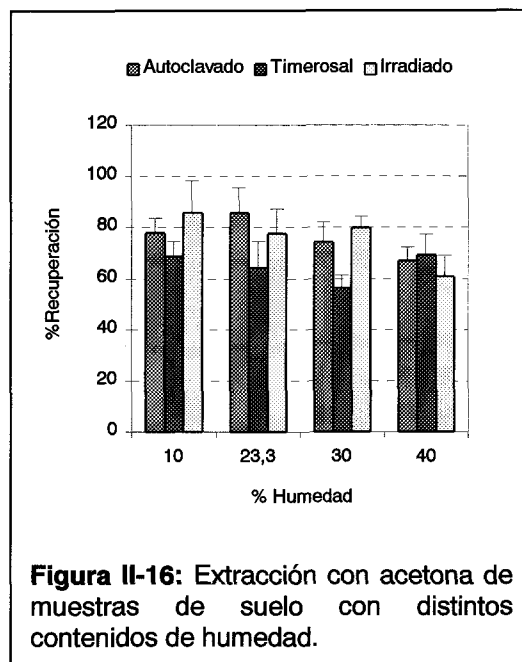
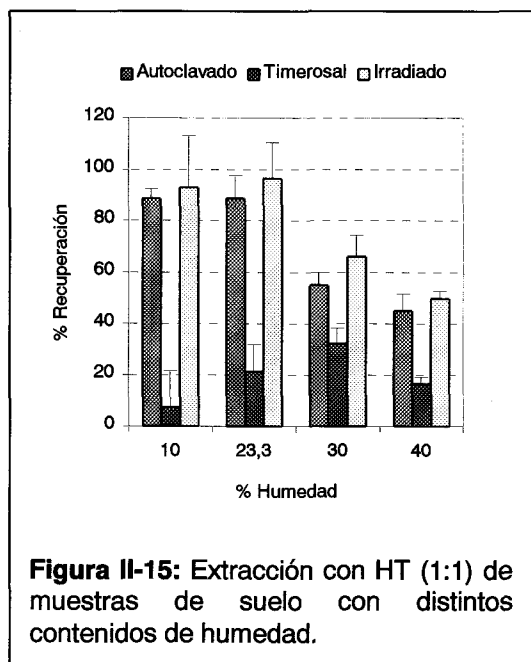
La necesidad de extraer muestras con distintos contenidos en humedad, y del empleo de diversos métodos de esterilización en el suelo para el estudio del comportamiento del plaguicida, nos llevó a investigar la influencia de estos factores en la extracción de metidation de muestras de suelo.

Según la bibliografía consultada todos los métodos de esterilización llevan consigo la alteración de las propiedades del suelo (Wolf y col., 1989) (Tabla II-16), siendo los métodos por autoclavado y químicos los que más cambian la estructura y las propiedades químicas del suelo (Grosby, 1970). La ventaja del empleo de los métodos de esterilización, es que consiguen distinguir la degradación química y microbiológica del plaguicida en el suelo.

**Tabla II-16:** Principales inconvenientes de la utilización de métodos de esterilización en suelo (Guth, 1981; Wolfe y col., 1990).

Método	Consecuencias
Autoclavado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Puede ser poco eficaz en matar esporas (Tuominen y col., 1994), e inducir cambios pH (Berger y Wolfe, 1996).</li> <li>- Las altas presiones y temperaturas alteran las superficies del suelo y descomponen la m.o. del suelo.</li> <li>- Destrucción del sistema generador de radicales libres del suelo.</li> </ul>
$\gamma$ – irradiación	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disminución de la actividad enzimática de microbios y plantas.</li> <li>- Destrucción del sistema generador de radicales libres del suelo.</li> </ul>
Esterilización química	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La adsorción de elevadas cantidades de producto puede alterar las propiedades químicas y de adsorción del suelo.</li> <li>- En función de la cantidad empleada, pueden no eliminarse por completo los microorganismos del suelo.</li> <li>- Puede modificar el pH del suelo o sedimento.</li> </ul>

Los resultados obtenidos (Figuras II-15 y II-16, Tabla II-17) muestran que el grado de humedad de la muestra, el método de esterilización empleado y las características del disolvente influyen en el proceso de extracción.



En el caso de la extracción con HT, no existen diferencias en la extracción de suelos autoclavados o irradiados, sin embargo se observa una disminución en las recuperaciones obtenidas cuando el porcentaje de humedad es superior al 23,3 %. Las peores recuperaciones se obtienen con suelos esterilizados con timerosal. De los resultados obtenidos se puede deducir que la utilización de disolventes orgánicos apolares inmiscibles con agua impiden la extracción de la totalidad del insecticida, sobre todo cuando el grado de humedad de la muestra es muy elevado. Por otro lado, el timerosal, con una estructura molecular orgánica y un elevado peso molecular, puede competir con las moléculas de insecticida en el proceso de extracción reduciendo mucho las recuperaciones obtenidas.

La utilización de acetona como extractante conduce en general a recuperaciones similares o superiores a las obtenidas en el caso anterior, siendo más importante este efecto en las muestras con mayores porcentajes de humedad. Este hecho puede achacarse a sus características polares y a su alta miscibilidad con el agua. También se observa una disminución de las recuperaciones cuando aumenta el grado de humedad, pero mucho menos acusada que en el caso anterior. En este caso no existe tanta diferencia entre el método de esterilización empleado, lo que nos lleva a la conclusión de la importancia de la elección del disolvente. En todos los casos se obtuvieron las mejores recuperaciones con suelos autoclavados e irradiados, lo que confirma la hipótesis de la competencia de la molécula de timerosal en la extracción.

Una posible explicación de la importancia del grado de humedad en la extracción con HT puede ser la forma de tratamiento de la muestra. Los extractos obtenidos eran concentrados en rotavapor hasta un pequeño volumen, y posteriormente concentrados a sequedad en corriente de nitrógeno. Dado que el volumen de agua en la muestra iba de 3 a 12 mL, existía la posibilidad de encontrar cantidades residuales de agua en los extractos. Esta agua podría explicar por un lado las bajas recuperaciones obtenidas, y por el otro las altas desviaciones obtenidas, debido a que se requería un tiempo más largo en el proceso de evaporación de la muestra que cuando se empleaba acetona como extractante. En la extracción con acetona la concentración se realizó en evaporador rotativo, pero en solución acuoso-acetónica se extrajo por el método Mw, sin necesidad de evaporación a sequedad.

También se realizaron experiencias aumentando el tiempo de extracción con acetona a un porcentaje de humedad fijo del 23,3 % (Tabla II-17), realizándose seis réplicas en cada caso, y con los tres tipos de suelo empleados. Se comprobó que el aumento del tiempo de extracción incrementó en todos los casos las recuperaciones obtenidas, incluso en el caso de suelos esterilizados con timerosal, con el que de nuevo se obtuvieron los valores más bajos. Sin embargo la utilización de tiempos de extracción largos no es interesante desde un punto de vista práctico, sobre todo cuando el número de muestras a procesar es muy alto.

La importancia de la elección del método de esterilización empleado ha sido descrita por algunos autores (Guth, 1981; Tuominen y col., 1994; Berger y Wolfe, 1996). Aronstein y col. (1991) proponen el método de autoclavado o irradiación del suelo para no cambiar las propiedades físico-químicas de éste.

Otros autores (Wolf y col., 1989; Tuominen y col., 1994) recomiendan por el contrario la esterilización química ( $\text{HgCl}_2$ , formaldehído) por ser ésta la que mejor controla la población microbiana durante más tiempo (3 meses) y por su capacidad de matar esporas. También hay que tener en cuenta que la adición de formaldehído al 1% reduce el pH, y esto puede tener un efecto adverso en el comportamiento de ciertos plaguicidas.

Getzin y Rosefield (1968) estudian la influencia del método de esterilización de suelos en la degradación de varios plaguicidas OPs, entre ellos metidation. Encuentran que en algunos plaguicidas influye el procedimiento empleado, siendo más efectivo el autoclavado, ya que esta técnica puede destruir sustancias termolábiles responsables en parte de la degradación. Según estos autores la degradación de metidation no se ve afectada por la utilización de suelos irradiados o autoclavados.

Aún cuando el método de esterilización por rayos y es en general, el que menos modifica la estructura fisicoquímica del suelo, puede crear hidrógeno libre y radicales hidroxilo. Estos radicales son muy reactivos y pueden actuar como agentes oxidantes o reductores y romper enlaces C-C (Tuominen y col., 1994). Por tanto, a la vista de los resultados obtenidos en nuestras experiencias, y de las observaciones de otros autores, así como por la no disponibilidad en nuestro laboratorio de un sistema de esterilización por

radiación y, se decidió utilizar suelos autoclavados en las experiencias de laboratorio que requiriesen el empleo de métodos de esterilización.

#### **4.3.a Estudio de la adición de enmendantes: efecto matriz**

La utilización del surfactante catiónico TDTMA y de biosólidos en las experiencias posteriores nos llevó a estudiar la influencia de la matriz en la extracción de suelos esterilizados y tamizados de la capa superficial de la parcela.

En todos los casos se realizaron seis réplicas y las distintas experiencias realizadas aparecen recogidas en la Tabla II-18.

Los resultados de la extracción con HT muestran que no existen diferencias en las recuperaciones obtenidas en suelos enmendados, autoclavados o irradiados al 10 y 23,3 % de humedad en las mismas condiciones, lo cual apoya los resultados obtenidos en el estudio de la influencia de la humedad. Como era de esperar los resultados obtenidos en suelos esterilizados con timerosal con un porcentaje de humedad del 40 % son los más bajos.

La enmienda con surfactante de forma general al valor de las recuperaciones, incluso a concentraciones de surfactante a 100 cmc. Por el contrario, se observa una reducción de las recuperaciones en suelos enmendados con biosólidos (SL, SLS), con respecto al suelo solo. Este hecho se ha observado en distintas ocasiones, independientemente de la naturaleza del enmendante orgánico empleado (turba, lodo, ...) (Romero y col., 1998; 2001) e independientemente del sistema de extracción utilizado (Guo y Wagenet, 1999; Matallo y col., 1999; Sánchez-Camazano y col., 2000).

El efecto matriz en la extracción con acetona se estudió en suelos autoclavados y esterilizados con timerosal, dada la similitud de los resultados entre suelos autoclavados e irradiados. En general, el empleo de acetona reduce las diferencias en las recuperaciones obtenidas con las distintas matrices empleadas, incluso en el caso de timerosal. Se observa también que el empleo de elevados tiempos de extracción no es imprescindible en las matrices de suelo enmendado, y que las muestras esterilizadas con timerosal siguen dando los resultados más bajos.

De todos los estudios realizados, podemos concluir que la utilización de acetona como disolvente a tiempos relativamente cortos y en presencia de todas las matrices estudiadas conduce a los mejores resultados, siendo el método de esterilización química el que más influye en las recuperaciones.



**Tabla II-17:** Estudio del efecto de la humedad y el tiempo de extracción. Se expresa la recuperación obtenida expresada en %, junto con la DE de las diferentes determinaciones (n=6).

EFECTO % HUMEDAD						
% H	Extracción con HT (1:1), 30g, 2h			Extracción con Acetona, 30g, 2h		
	Autoclavado	Timerosal	Irradiado	Autoclavado	Timerosal	Irradiado
10	88,7 ± 3,7	7,4 ± 14,5	93,0 ± 20,1	77,8 ± 5,9	68,8 ± 5,8	85,7 ± 12,7
23,3	88,6 ± 9,1	21,4 ± 10,6	96,5 ± 14,0	85,8 ± 9,7	64,2 ± 10,3	77,5 ± 9,6
30	55,0 ± 4,9	32,2 ± 6,0	66,0 ± 8,2	74,3 ± 7,7	56,4 ± 4,9	79,9 ± 4,5
40	45,0 ± 6,6	16,5 ± 2,9	49,6 ± 3,1	66,9 ± 5,3	69,2 ± 8,1	61,0 ± 8,1

EFECTO TIEMPO EXTRACCIÓN			
Extracción Acetona	Autoclavado H: 23.3% 30g	2h	89.3 ± 4.8
		4h	89.8* ± 2.3
		6h	101.9** ± 5.0
	Timerosal H: 23.3% 30g	2h	64.2 ± 10.3
		4h	65.0 ± 12.6
		6h	82.0** ± 4.7
	Irradiado H: 23.3% 30g	2h	77.5 ± 9.6
		4h	-
		6h	99.7 ± 5.4

\*Dos réplicas. \*\* Tres réplicas.

**Tabla II-18:** Estudio del efecto matriz en suelos esterilizados y extraídos con HT y Acetona. Se expresa la recuperación obtenida expresada en %, junto con la DE de las diferentes determinaciones.

	Esterilización	Condiciones	MATRIZ	Rec. (%)
Extracción con HT (1:1)	Autoclavado	H: 10% 2h (20g)	S	88,8 ± 3,7
			SL <sup>†</sup>	83,7 ± 4,8
			SL	72,9 ± 8,8
			SS	98,5 ± 2,0
			SS*	96,7 ± 2,1
			SLS‡	88,7 ± 3,6
			SLS**	84,5 ± 12,3
		H: 23,3% 2h (30g)	S	88,6 ± 9,1
			SL	83,6 ± 4,3
			SS	95,6 ± 5,8
			SLS	76,2 ± 12,0
	Irradiado	H: 23,3 % 2h (30 g)	S	96,5 ± 14,0
			SL	86,0 ± 13,9
			SS	93,4 ± 11,6
			SLS	82,5 ± 8,7
	Timerosal	H: 40% 2h (30 g)	S	16,5 ± 2,9
			SL	5,7 ± 2,2
SS			15,5 ± 3,1	
SLS			6,0 ± 3,3	

	Esterilización	Condiciones	MATRIZ	Rec. (%)
Extracción con acetona	Autoclavado	H: 30% 2h (10g)	S	87,8 ± 8,8
			SL	102,3 ± 8,0
			SS	101,4 ± 8,6
		SLS	104,7 ± 6,4	
		H: 23,3% 6h (30g)	S	101,9 ± 5,0
			SL	92,6 ± 8,1
	SS		95,5 ± 4,0	
	Timerosal	H: 23,3 % 4h (30 g)	SLS	90,4 ± 5,9
			S	65,0 ± 12,6
			SL	65,6 ± 19,8
SS			74,9 ± 3,5	
		SLS	-	

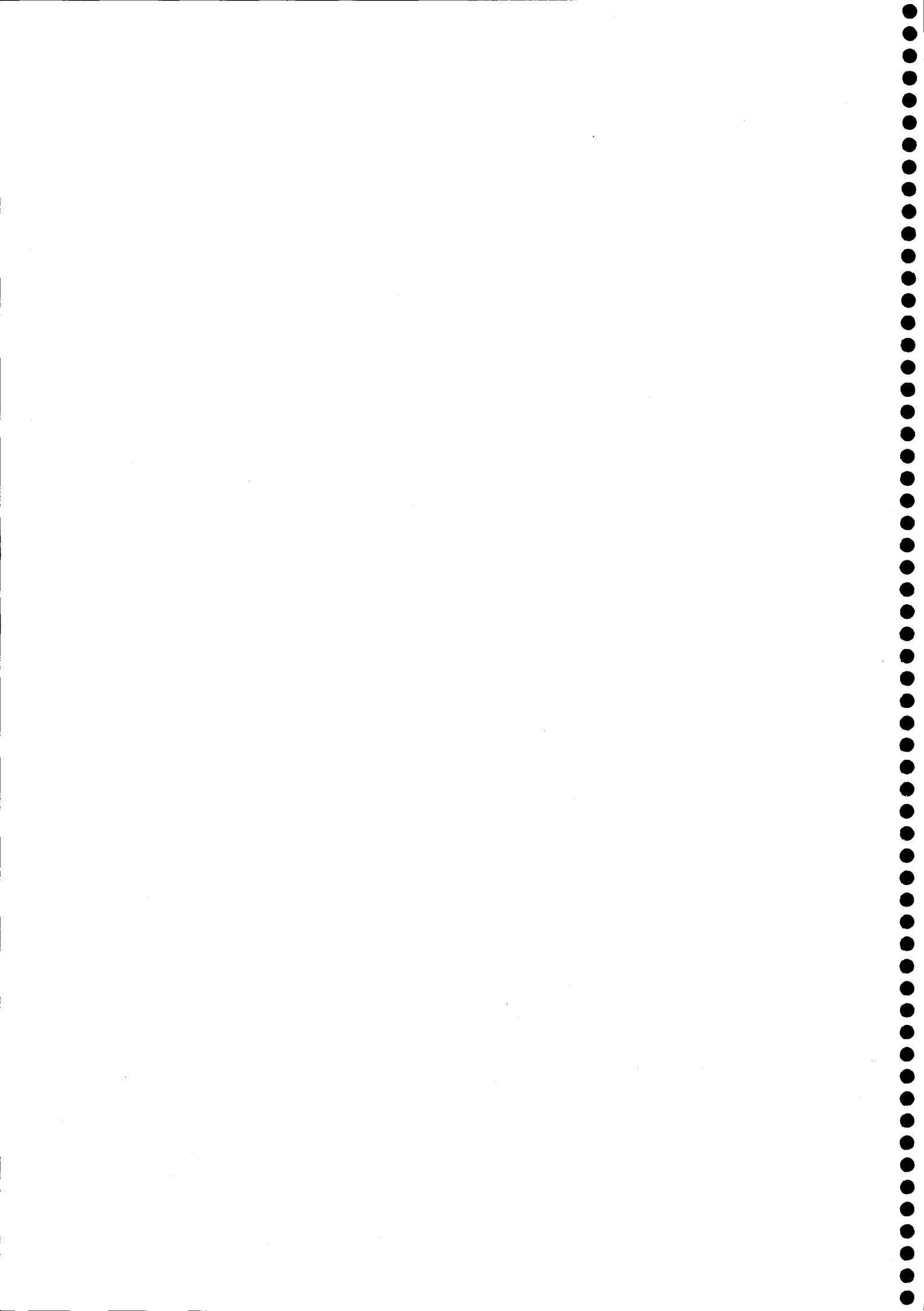
S: Suelo; SL: Suelo + 4% Lodo; SS: Suelo TDTMA (10 cmc); SLS: Suelo + 4% Lodo + TDTMA (10 cmc).

SL<sup>†</sup>: Suelo + 2% Lodo; SS\*: Suelo TDTMA (100 cmc); SLS‡ Suelo + 2% Lodo + TDTMA (100 cmc); Suelo + 4% Lodo + TDTMA (100 cmc)



# **Capítulo III:**

## **Ensayos de Adsorción**



# 1 Estudios de adsorción

Los procesos de adsorción tienen una importancia fundamental en el comportamiento de los plaguicidas en el medio. Muchos autores consideran que el proceso de adsorción es en realidad un proceso de partición del soluto entre la fase vapor y solución de suelo, y las partículas del suelo (Chiou y col., 1979).

Algunos autores han intentado crear programas informáticos que predigan el comportamiento del plaguicida en función de su estructura (Lohninger, 1994), sin tener en cuenta las características del adsorbente (suelo). Sin embargo la adsorción de un plaguicida en el suelo depende tanto de las características de éste, como la del material que actúa como adsorbente, por lo que los ensayos de adsorción en el laboratorio son una herramienta fundamental para el entendimiento de los procesos de adsorción.

La mayoría de los estudios realizados coinciden en que la materia orgánica del suelo y las arcillas son los principales responsables de la adsorción de los plaguicidas al suelo (Beltrán y col., 1995; Romero y col., 1996), y dentro de la materia orgánica se destaca el papel que desempeñan los ácidos húmicos. Celis y col. (1998 y 1999) encuentran que la adsorción de triadimefon aumenta cuando se utilizan modelos de coloides naturales que contienen ácidos húmicos, por lo que este componente de la materia orgánica puede jugar un importante papel en la adsorción de los plaguicidas al suelo. La enmienda con materia orgánica exógena, también aumenta la adsorción de los plaguicidas por el suelo (Matallo y col., 1998; Celis y col., 1998).

Menos frecuentes son las referencias encontradas en la que se observa una disminución de la adsorción de plaguicidas cuando el contenido de m.o. aumenta (Fröbe y col., 1989).

En los últimos años se han incorporado nuevas sustancias al suelo, con objeto de aumentar la retención de los productos fitosanitarios. Entre estas sustancias, numerosos son los estudios en los que se ha ensayado el empleo de surfactantes (Iglesias y col., 1996), y la adición de materia orgánica exógena (Matallo y col., 1998; Celis y col., 1998).

En nuestro caso la metodología empleada para la realización de los estudios de adsorción, comienza con la realización de cinéticas de adsorción de suelo sin enmendar tomado a distintos niveles de profundidad de la parcela experimental. A continuación se realizaron cinéticas con los enmendantes utilizados (lodos de depuradora y surfactantes) para comprobar si la cinética de adsorción se modificaba con la presencia de éstos. Una vez finalizados los estudios cinéticos, se pasó a la realización de distintas isothermas de adsorción, para determinar el enmendante /s que producía un cambio significativo en la adsorción del insecticida.

## 1.1 Material y métodos

### INSTRUMENTACIÓN

Agitador de tubos Reax 2000, Heidolph (Alemania).



Balanza electrónica COBOS D-600, COBOS S.A. (Barcelona, España).

Barrena manual ( 40 mm d.i.), para toma de muestras de suelo.

Cámara termostatzada HOTCOLD-M, Selecta.

Centrífuga Sigma 2K15, (Osterode, Alemania).

pHmetro Crison 506.

Tubos de vidrio (POBEL 17).

Viales Eppendorf

## MATERIAL

Lodos de depuradora, secos y molidos.

Suelo de la parcela experimental, seco y tamizado (<2mm), de tres niveles de profundidad distintos (0-25, 50-75 y 100-110 cm).

Surfactantes: TDTMA, LAS y T80.

### 1.1.a Metodología seguida en las cinéticas

Se pesaron muestras de 5 g de suelo, a las que se les añadieron 20 mL de una solución de metidation a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . La adición de los surfactantes al suelo, se realizó de forma conjunta con el plaguicida, preparando una solución de metidation a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , y añadiéndole la cantidad de surfactante necesaria en cada caso para obtener una solución final de 0,1, 1 ó 10 cmc. La cinética con el lodo se llevó a cabo pesando 0,1 g de lodo y añadiéndole 20 mL de la solución de plaguicida sin surfactante. En la Tabla III-6 aparecen resumidas las muestras preparadas y la nomenclatura empleada en cada caso.

En todos los casos, la mezcla se introdujo en tubos Pobel 17 con tapón de rosca, se agitaron y se colocaron en cámara termostatzada, a  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , y se extrajeron muestras a diferentes intervalos de tiempo (desde 15 min a 24 h).

Transcurrido el tiempo de incubación necesario, se tomó una porción del sobrenadante, se trasvasó a un vial tipo Eppendorf y se centrifugó a 10.000 g durante 20 min a  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Una vez centrifugada la solución, se tomó 1 mL del sobrenadante, y se determinó la concentración de metidation siguiendo el procedimiento descrito en el apartado II.4.1, para el análisis de soluciones acuosas concentradas. En la Tabla III-1 aparecen resumidas las muestras preparadas para estos ensayos así como su nomenclatura.

**Tabla III-1:** Muestras realizadas en las cinéticas e isotermas de adsorción, junto con la nomenclatura empleada.

	Suelo (S)	Lodo (L)	Suelo + Lodo (SL)	Suelo + Surfactante (SS)	Suelo + Lodo + Surfactante (SLS)
<b>Cinéticas</b>	0-25 cm 50-75 cm 100-110 cm	0,1 g	-----	TDTMA (10 cmc) LAS (1 cmc) T80 (1 cmc)	-----
<b>Isotermas</b>	0-25 cm 50-75 cm 100-110 cm	0,1 g	S + 2% L S + 4% L	TDTMA (0,1, 1 y 10cmc) LAS (0,1, 1 y 10cmc) T80 (0,1, 1 y 10cmc)	S+TDTMA 10cmc + 2%L S+LAS 1cmc + 2% L S+LAS 1cmc + 4%L S+T80 1cmc + 2% L

### 1.1.b Metodología para la realización de las isotermas de adsorción

En la Tabla III-1 aparecen resumidas las muestras preparadas para estos ensayos así como su nomenclatura.

Se pesaron por duplicado 5 g de suelo y se les añadieron 20 mL de soluciones de metidation a 10, 20, 30 y 40 mg L<sup>-1</sup>. Las isotermas de suelo superficial adicionado con lodo al 2 y 4%, se realizaron de igual forma, tras la adición al suelo y homogeneización de la cantidad correspondiente de lodo. La enmienda con el 2 % de lodo corresponde a la dosis normal utilizada en agricultura de 45 t ha<sup>-1</sup> (Bellin y col., 1990b; Fresquez y col., 1990).

La realización de isotermas de adsorción con los tres tipos de surfactantes en suelo de la capa superficial enmendado o sin enmendar con lodo, se hizo por adición de 20 mL de solución de plaguicida preparada a las cuatro concentraciones antes mencionadas, y con la cantidad de surfactante necesaria para alcanzar 0,1, 1 y 10 cmc.

En todos los casos la mezcla se introdujo en tubos Pobel 17 con tapón de rosca, se colocó en cámara termostatazada a 15 °C, y se agitó durante 3h, ya que según los resultados cinéticos a este tiempo ya se ha alcanzado el equilibrio. La determinación analítica de la concentración de insecticida en el sobrenadante, se hizo de la forma descrita en el apartado II.4.1 del capítulo anterior.

## 1.2 Resultados y discusión

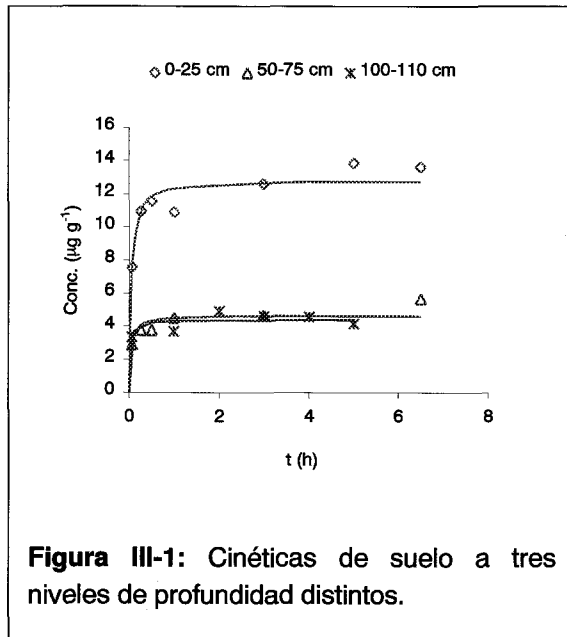
### 1.2.a Cinéticas de adsorción

Se hizo un estudio previo de la cinética que sigue nuestro plaguicida con lodo de depuradora, suelo tamizado (< 2 mm) de la capa arable (0-25 cm) y de las capas intermedia (50-75 cm) y profunda (100-110 cm). Se comprobó el efecto de los enmendantes en la cinética del proceso, con la realización de cinéticas de adsorción con suelo de la capa arable enmendado con los tres tipos de surfactantes empleados (TDTMA, LAS y T80), a distintas concentraciones.

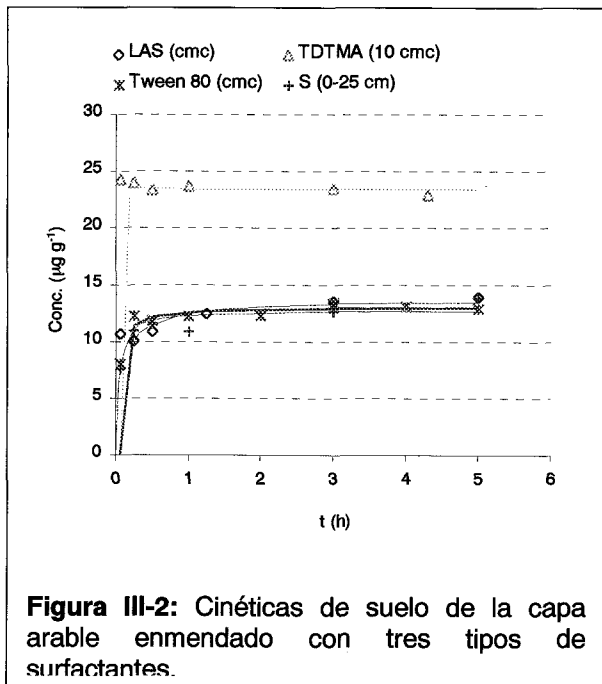
Los valores experimentales se han ajustado a la ecuación hiperbólica (1), donde  $X$  es la cantidad de plaguicida adsorbido ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) al tiempo  $t$  (h),  $B$  es una constante y  $X_{\text{max}}$  la cantidad máxima de plaguicida adsorbida por el suelo.  $X_{\text{max}}$  se calcula mediante una representación lineal de la ecuación 1 considerando la cantidad adsorbida frente a los valores de tiempo, ambos a la inversa.

$$X = \frac{X_{\text{max}} * t}{B + t} \quad \text{ó} \quad \frac{1}{X} = \frac{B}{X_{\text{max}} * t} + \frac{1}{X_{\text{max}}} \quad (1)$$

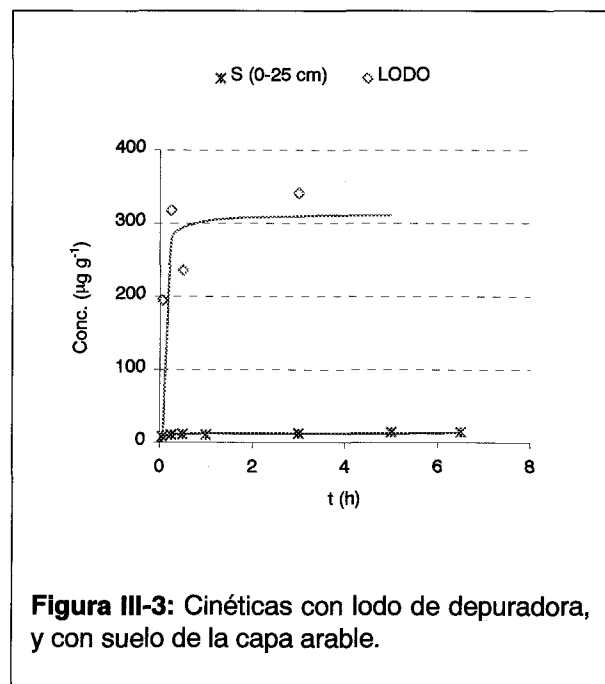
En la Figuras III-1, 2 y 3 se representan los puntos experimentales, junto con la curva teórica obtenida tras la aplicación a los resultados de la ecuación (1).



**Figura III-1:** Cinéticas de suelo a tres niveles de profundidad distintos.



**Figura III-2:** Cinéticas de suelo de la capa arable enmendado con tres tipos de surfactantes.



**Figura III-3:** Cinéticas con lodo de depuradora, y con suelo de la capa arable.



De las representaciones gráficas (Figuras III-1, 2 y 3), se deduce que la adsorción del plaguicida es rápida, teniendo lugar en los primeros minutos de contacto entre la solución y el suelo, existiendo posteriormente una adsorción más lenta del plaguicida. En todos los casos, el tiempo necesario para adsorber el plaguicida fue inferior a 3 h, por lo que se tomó éste como el tiempo de equilibrio.

Para el cálculo de la velocidad de reacción del proceso se emplea la ecuación (2), de acuerdo con la ecuación de Moreale y van Bladel (1979).  $k$  es la constante de velocidad del proceso y  $n$  es el orden de la reacción,  $X$  es la cantidad de plaguicida adsorbido por gramo de suelo a tiempo  $t$ , y  $X_{max}$  es el valor calculado con la expresión anterior.

$$\frac{dx}{dt} = k ( X_{max} - X )^n \quad (2)$$

Los valores de los parámetros cinéticos obtenidos con las ecuaciones teóricas (1 y 2) aparecen resumidos en la Tabla III-2.

**Tabla III-2:** Datos cinéticos de la adsorción de metidation en lodos de depuradora, suelo de la Vega de Granada a tres profundidades, y suelo de la capa arable enmendado con tres tipos de surfactantes.

Muestra	$X_{max}$ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	$K$ ( $\mu\text{g g}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$n$
Lodo de depuradora	312,50	$0,3 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (0-25 cm)	12,82	$5,1 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (50-75 cm)	4,68	$15,1 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (100-110 cm)	4,40	$33,3 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (0-25 cm) + LAS (1cmc)	13,74	$2,0 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (0-25 cm) + Tween 80 (1cmc)	13,05	$5,8 \cdot 10^{-4}$	2
Suelo (0-25 cm) + TDTMA (10cmc)	23,36	$50,9 \cdot 10^{-4}$	2

El ajuste de los datos al modelo hiperbólico permite calcular el valor de la máxima cantidad de plaguicida adsorbida por el suelo ( $X_{max}$ ). Los valores oscilan entre  $12,8 \mu\text{g g}^{-1}$  para el suelo de la capa superficial y  $4,7$  y  $4,4 (\mu\text{g g}^{-1})$  para las capas intermedia y profunda respectivamente. Si se hace una correlación con el contenido en C.O. de cada perfil (Tabla II-5), se obtiene la ecuación  $X_{max} = 0,1579 * \text{C.O.} - 1,8074$ , con un coeficiente de correlación de  $0,9854$ .

Este resultado indica que el contenido en C.O. puede ser el factor principal que controle la adsorción de metidation. El valor negativo de la ordenada en el origen muestra que no todo el C.O. es utilizado en el proceso de adsorción, probablemente debido a que interaccione con las partículas de arcilla del suelo.

El mayor valor de  $X_{max}$  lo encontramos en la cinética realizada sólo con lodo, lo que parece confirmar la correlación encontrada en los perfiles del suelo, que apunta hacia el contenido en m.o. como el principal responsable de la adsorción del insecticida.

Para el caso de los suelos enmendados, el valor de  $X_{max}$  no es distinto del suelo de la capa superficial, salvo en el caso de surfactante catiónico TDTMA. No se han hecho determinaciones de cómo afecta la adición de cada uno de los surfactantes al contenido de carbono orgánico del suelo, por si esto pudiera tener alguna relación con el aumento en la adsorción. Pero, teniendo en cuenta que las cantidades añadidas han sido en general muy bajas (4, 8,8 y 0,056 mg g<sup>-1</sup> de TDTMA, LAS y T80, respectivamente), y que la mayor adición de masa se produjo con la utilización del surfactante aniónico cuya  $k$  es similar a la del suelo natural, no parece ser este el motivo, sino las características del surfactante empleado.

Por sus características, los surfactantes de tipo catiónico pueden ser fuertemente adsorbidos por el suelo mediante un proceso de intercambio catiónico (Bayer y col., 1982; Cross, 1994; Ginkel, 1995) dando lugar a la formación de agregados estructurales. Debido a que la cantidad de surfactante añadida ha sido baja y no supera la CIC del suelo (Tabla II-5), es probable que estas sustancias se encuentren en forma de hemimicelas (Brown y Burris, 1996). Esto hace que la superficie del suelo sea más hidrófoba y que aumente la retención de compuestos con estas características, como es el caso de metidation.

De la ecuación 2 se obtienen los valores de la constante de velocidad cinética ( $k$ ) y el orden de reacción ( $n$ ), que aparecen resumidos en la Tabla III-7. En todos los casos el orden de reacción es 2, y los valores de  $k$  son del orden de 10<sup>-4</sup>.

El valor tan bajo de  $k$ , indica que el proceso es de tipo difusivo, hecho descrito en trabajos anteriores (Dios y col., 1992) y, debido a que incrementa cuando disminuye el contenido en m.o., puede estar controlado por la difusión de las moléculas de insecticida en los poros de la materia orgánica. Esta hipótesis viene apoyada por el hecho de que para el lodo, sustrato con el mayor contenido en m.o., el valor de  $k$  es el más bajo.

Para el caso de los suelos enmendados con los surfactantes LAS y T80 se modifica débilmente el valor de la constante de velocidad con respecto al suelo no enmendado. Por el contrario, la adición de TDTMA incrementó diez veces el valor de la constante de velocidad. Esto parece estar de acuerdo con la hipótesis de que la adición del surfactante catiónico aumenta el carácter hidrófobo del sustrato, y debido a esto la reacción es más rápida. No obstante, dado el gran aumento que experimenta la constante de velocidad, es probable que en la adsorción del insecticida intervengan otros mecanismos.

### 1.2.b Isotermas de adsorción. Generalidades

Los dos modelos más empleados en la interpretación de los datos experimentales de las isotermas de adsorción son los modelos de Freundlich y Langmuir. La isoterma de Freundlich se utiliza cuando la adsorción del compuesto ocurre en múltiples capas. La isoterma de Langmuir se emplea cuando se sabe que no existe interacción entre las

moléculas de adsorbato y el proceso de adsorción se localiza en una monocapa (Li y Bowman, 1997).

El modelo de Langmuir en su forma lineal se expresa mediante la ecuación 3, donde  $X$  es la cantidad adsorbida por gramo de muestra,  $C_e$  la concentración de equilibrio de la solución en contacto con el sólido,  $b$  una constante relacionada con el calor de adsorción y  $X_m$  la cantidad de soluto presente en la monocapa.

$$\frac{C_e}{X} = \frac{1}{b * X_m} + \frac{C_e}{X_m} \quad (3)$$

La ecuación 4, corresponde al modelo de Freundlich y los parámetros  $X$  y  $C_e$  tienen el mismo significado que en la ecuación 3.  $K_f$  y  $n$  son dos constantes que dependen de la naturaleza del adsorbato, adsorbente y la temperatura, y expresan el comportamiento típico de una superficie heterogénea. La ecuación 5 es la forma lineal del modelo de Freundlich.

$$X = K_f * C_e^{1/n} \quad (4)$$

$$\text{Log } X = \text{Log } K_f + 1/n * \text{Log } C_e \quad (5)$$

Cuando  $1/n = 1$ , el modelo de Freundlich es lineal, y la constante  $K_f$  se la denomina  $K_d$  o constante de distribución lineal.

$K_d$  es el coeficiente de distribución de cada plaguicida entre el agua y el suelo, y depende de las propiedades del suelo estudiado. Cuando la adsorción del plaguicida está regulada por el contenido en m.o. del suelo los valores de  $K_d$  se normalizan dividiéndolo por el contenido en carbono orgánico (C.O.T.) del suelo, y a este valor se le denomina  $K_{oc}$ . Cuando la adsorción del plaguicida está regulada por el contenido en arcillas del suelo, se normaliza dividiéndolo por el contenido en arcillas de éste, y al valor que se obtiene se le denomina  $K_{clay}$ .

$$K_{oc} = \frac{K_d * 100}{\% C_{orgánico}}; \quad K_{clay} = \frac{K_d * 100}{\% arcillas} \quad (6)$$

Se asume que el coeficiente  $K_{oc}$  es más independiente de las propiedades del suelo y constante para cada compuesto químico. La ecuación (7) relaciona  $K_d$  y  $K_f$ .

$$K_d = K_f * C_e^{\frac{1-n}{n}} \quad (7)$$

Por otro lado, la forma de la isoterma expresa la cantidad de plaguicida adsorbido en función de la concentración de equilibrio. Según Giles y col. (1960) las isotermas de adsorción en disolución acuosa se clasifican de la siguiente forma:

- Isoterma tipo S. Se produce cuando el suelo posee una menor afinidad por el soluto (plaguicida) de la que posee por el solvente (agua). La isoterma tipo S

presenta una pendiente inicial no lineal y convexa respecto al eje de abscisas, lo que indica que la adsorción inicial es lenta comparada con la del solvente u otros solutos, y se incrementa conforme aumenta el número de moléculas del soluto en la superficie.

- Isoterma tipo L o de Langmuir. Se produce cuando el adsorbente (suelo) tiene mayor afinidad por el soluto que por el solvente a bajas concentraciones de equilibrio y menor afinidad por el soluto que por el solvente a elevadas concentraciones de soluto, cuando los lugares de adsorción empiezan a saturarse. Presenta una pendiente inicial no lineal y cóncava respecto al eje de abscisas, y se interpreta como una existencia de lugares de adsorción específicos para la molécula de soluto con la interfase del suelo, no existiendo una competición con el solvente.
- Isoterma tipo H. Se produce cuando el adsorbente presenta una alta afinidad por el soluto, hasta que la superficie se satura y el soluto sobrante permanece en solución. La parte inicial de la isoterma es vertical.
- Isoterma tipo C. Se debe a la existencia de una afinidad similar del adsorbente por el soluto y por el solvente. En este caso la adsorción es directamente proporcional a la concentración del soluto en la solución. La curva presenta una pendiente lineal a todas las concentraciones, hasta la saturación.

En bibliografía se han descrito varios ejemplos de cada una de estas isotermas, siendo el modelo de Freundlich el más aplicado para describir la adsorción de los plaguicidas al suelo (Beltrán y col., 1995; Romero y col., 1997; Iglesias-Jiménez y col., 1997).

El valor de  $1/n$  nos indica cómo va ser la forma de la isoterma. Cuando  $1/n$  se aproxima a 1 da lugar a isotermas lineales. Si  $1/n$  es menor de 1, la isoterma presenta una forma convexa o tipo L según la clasificación de Giles. Esto indica que los sitios vacantes son menos accesibles a las moléculas de soluto, conforme la superficie se va recubriendo.

Si  $1/n$  es mayor de 1, la forma de la isoterma es cóncava o tipo S según la clasificación de Giles. En este tipo de isotermas conforme aumenta la concentración de soluto en solución aumenta la adsorción.

### 1.2.c Isotermas de adsorción. Resultados

La mayoría de los datos experimentales obtenidos en las isotermas de adsorción se ajustaron al modelo de Freundlich. En la Tabla III-3 se recogen los valores de  $K_f$  y  $n$  obtenidos del ajuste al modelo de Freundlich. El cálculo de los errores de ambas constantes se obtiene del análisis estadístico de la regresión lineal realizada con los puntos experimentales, teniendo en cuenta que se realizaron dos repeticiones de cada punto, y que cada una de ellas se inyecta por duplicado.

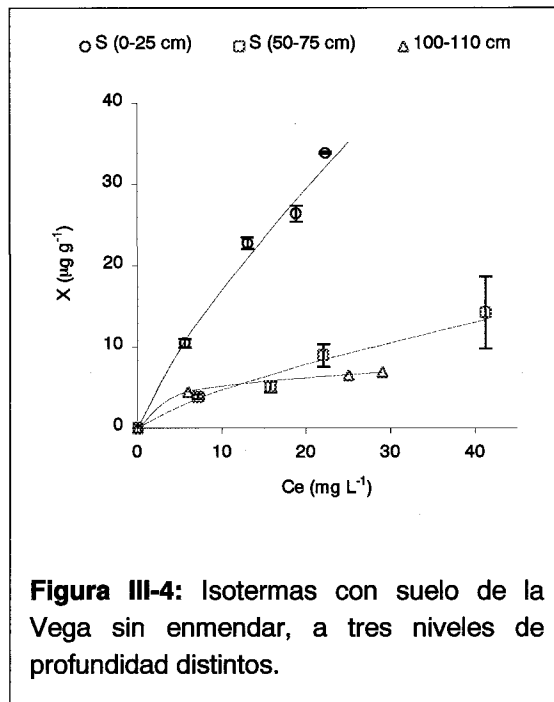
**Tabla III-3:** Valores de las constantes de Freundlich ( $K_f$  y  $1/n$ ) y del coeficiente de determinación para metidation en diferentes sustratos

Muestra	$K_f$	$1/n$	$R^2$
Suelo (0-25 cm)	$2,7 \pm 0,31$	$0,80 \pm 0,05$	0,961
Suelo (50-75 cm)	$0,84 \pm 0,21$	$0,74 \pm 0,09$	0,863
Suelo (100-110 cm)	-	-	-
Lodo de depuradora (L)	$98,21 \pm 29,83$	$0,78 \pm 0,11$	0,878
Suelo + 2% L	$2,53 \pm 0,20$	$0,95 \pm 0,03$	0,986
Suelo + 4% L	$4,09 \pm 0,39$	$0,89 \pm 0,04$	0,976
Suelo + T80 (0,1cmc)	$1,91 \pm 0,33$	$0,94 \pm 0,06$	0,935
Suelo + T80 (1cmc)	$1,99 \pm 0,29$	$0,90 \pm 0,06$	0,945
Suelo + T80 (10cmc)	$1,52 \pm 0,39$	$1,03 \pm 0,10$	0,883
Suelo + LAS (0,1cmc)	$3,07 \pm 0,78$	$0,75 \pm 0,10$	0,783
Suelo + LAS (1cmc)	$2,59 \pm 0,38$	$0,83 \pm 0,05$	0,939
Suelo + LAS (10cmc)	$1,98 \pm 0,37$	$0,87 \pm 0,07$	0,917
Suelo + TDTMA (0,1cmc)	$1,66 \pm 0,23$	$1,13 \pm 0,07$	0,949
Suelo + TDTMA (1cmc)	$2,63 \pm 0,57$	$0,87 \pm 0,09$	0,862
Suelo + TDTMA (10cmc)	$44,80 \pm 0,71$	$1,10 \pm 0,02$	0,995
Suelo + T80 (1cmc)+ 2%L	$2,39 \pm 0,35$	$1,00 \pm 0,07$	0,931
Suelo + LAS (1cmc)+ 2%L	$2,67 \pm 0,56$	$1,00 \pm 0,08$	0,906
Suelo + TDTMA (10cmc)+ 2%L	$83,44 \pm 2,08$	$1,02 \pm 0,04$	0,982

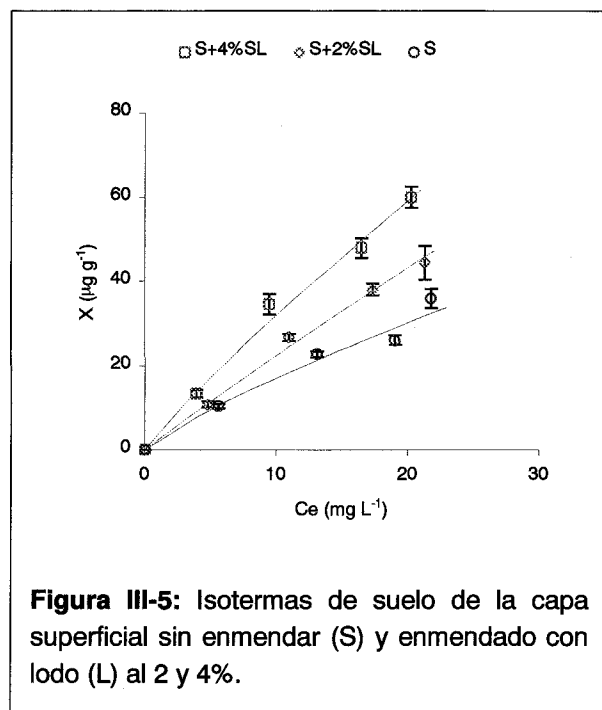
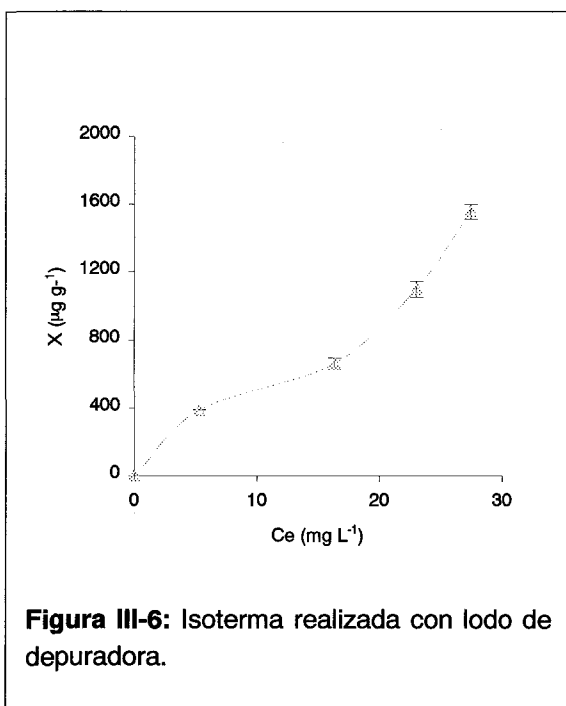
Los enmendantes lodo (L), surfactante no iónico (T80), aniónico (LAS) y catiónico (TDTMA), fueron añadidos sólo al suelo de la capa superficial.

En las Figuras III-4, 5, 6, 7, 8 y 9 se representan los puntos experimentales obtenidos, junto con la curva teórica del ajuste a Freundlich. Las barras verticales representan la desviación estándar de los puntos experimentales.

Las muestras de suelo sin enmendar, de la capa superficial e intermedia (Figura III-9), se ajustan al modelo de Freundlich ( $R^2$  de 0,961 y 0,863). Los valores de  $K_f$ , indican una moderada adsorción de metidation al suelo. En ambos casos el exponente  $1/n$  es menor de la unidad, lo que pone de manifiesto que la forma de la isoterma es del tipo L, según la clasificación de Giles (Giles y col., 1960). Este valor indica que el número de sitios de adsorción libres es menor conforme aumenta la concentración de soluto. Esta es una isoterma muy habitual la adsorción de plaguicidas (Senesi y col., 1997; Romero y col., 1997; Matallo y col., 1998; Sánchez-Camazano y col., 2000). Estos resultados están de acuerdo con los datos cinéticos, siendo la adsorción de metidation mayor en la capa superficial que a su vez es la que presenta un mayor contenido en materia orgánica (Tabla III-2).

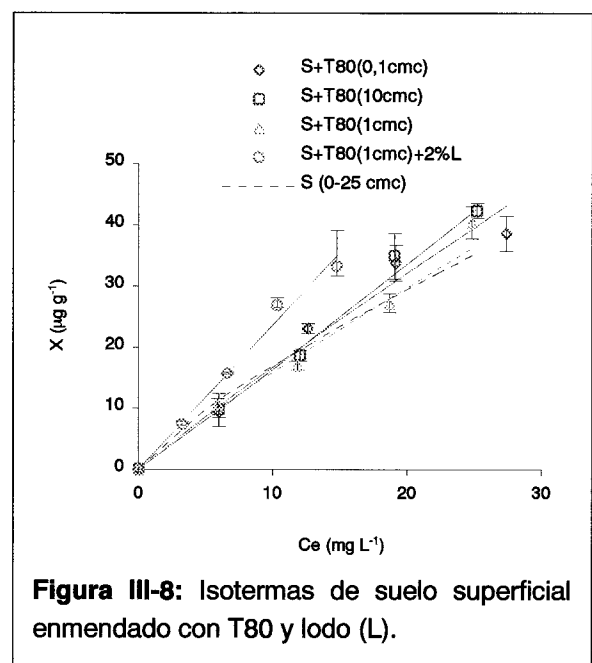
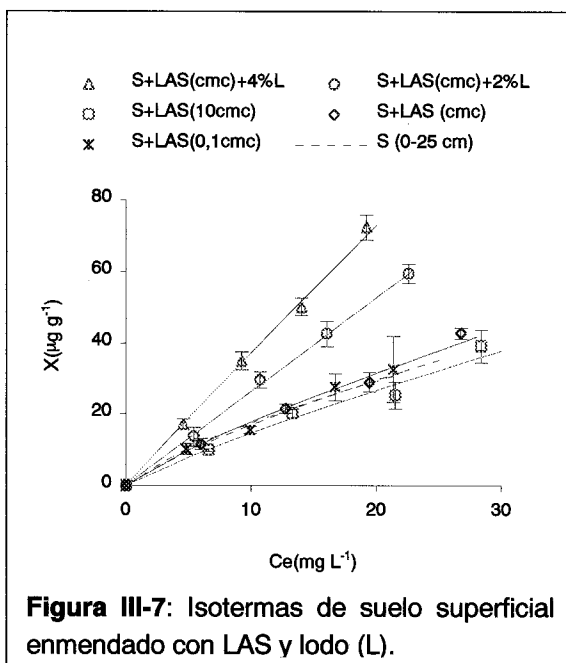


Los datos de la isoterma de adsorción realizada con lodo solo (Figura III-5), se ajustan al modelo de Freundlich, pero las constantes se ven afectadas de un elevado error. Considerando la forma de la isoterma, podemos clasificarla como tipo L3 o L4 dentro de la clasificación de Giles. Este tipo de isoterma implica la formación de una segunda capa de insecticida adsorbido, al aumentar la concentración en el medio. Este hecho no se pudo comprobar debido a que, aunque la solubilidad teórica de metidation es de 200 mg L<sup>-1</sup>, en la practica no se pudieron preparar soluciones de concentraciones superiores a 50 mg L<sup>-1</sup>. Esto indica que en el rango de concentraciones utilizadas la adsorción del insecticida no está limitada por los sitios de adsorción. El aumento en la adsorción, está de acuerdo con los datos obtenidos en los estudios cinéticos.

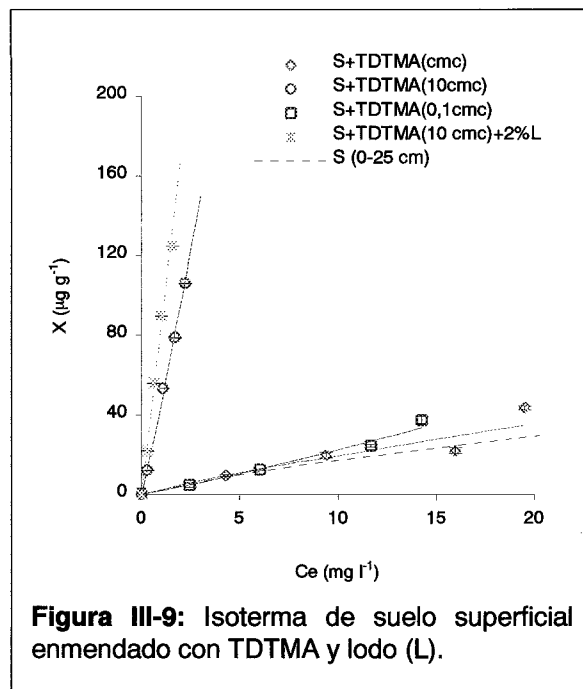


En el caso de la enmienda de suelo superficial con lodo (Figura III-6), los valores de  $1/n$  aumentaron con respecto al suelo sin enmendar y se aproximaron a la unidad, lo que indica una mayor afinidad por el metidation en las mezclas de suelo con lodo, y la isoterma se puede clasificar como tipo C. Celis y col. (1998), encuentran que la adsorción de atrazina aumenta en suelos enmendados con lodo, y que el valor de  $1/n$  en presencia de lodos solos o combinados con el suelo es cercano a la unidad. En estudios del grupo de Sánchez-Camazano (Arienzo y col., 1994 y Sánchez Camazano y col., 2000) con suelos de distinta naturaleza los valores de  $1/n$  para las isotermas de adsorción los plaguicidas linuron y diazinon en suelos con un contenido en m.o. > 2 % son cercanos a la unidad.

Las isotermas de adsorción realizadas con los tres tipos de surfactantes (Figuras III-7, 8 y 9) a las tres concentraciones ensayadas (0,1, 1 y 10 cmc), presentan en conjunto un buen ajuste al modelo de Freundlich (Tabla III-3).



En general, la adición de los surfactantes no produjo un cambio significativo en la adsorción del insecticida, salvo en el caso del surfactante catiónico TDTMA (Figura III-9), lo que está de acuerdo con los datos cinéticos (Tabla III-2). El aumento de la adsorción puede achacarse, como ya se explicó anteriormente, a cambio en el carácter hidrófobo del suelo como consecuencia de la adsorción de las moléculas de surfactante en el sustrato. Un incremento similar en la adsorción ha sido descrito por Iglesias y col. (1996), con el herbicida etofumesato tras la adición de TDTMA a 20 cmc.



El grado de hidrofobicidad del plaguicida es un factor a tener en cuenta, ya que parece existir un rango el que el aumento de la adsorción del plaguicida es máximo (Tabla III-4).

**Tabla III-4:** Propiedades de los plaguicidas y constantes de Freundlich sobre suelos en presencia de TDTMA a distintas cmc (Iglesias-Jiménez y col., 1996, 1997 y datos propios).

	Sol. (agua) mg L <sup>-1</sup>	K <sub>ow</sub>	Ctes. de Freundlich				
			Suelo solo	+ TDTMA 1 cmc	+ TDTMA 10 cmc	+ TDTMA 20 cmc	+ TDTMA 75 cmc
Atrazina	3	2,5	0,68	0,75 (x1,1)	—	2,46 (x 3,6)*	—
Diazinon	40	3,3	9,95	12,96 (x 1,3)	—	15,39 (x 1,6)	21,9 (x 2,5)
Linuron	81	3,0	2,29	—	—	—	72,70 (x 30)
Etofumesato	110	2,7	0,89	2,59 (x 2,9)	—	136,8 (x150)	—
Metidation	200	2,2	2,7	2,63 (x 0,97)	44,8 (x 16,6)	—	—
Acefato	650 x 10 <sup>3</sup>	1,11	0,72	0,14 (x 0,2)	—	0,93 (x 1,3)	—

\*Estos parámetros indican el incremento de la K<sub>f</sub> en relación al suelo sin enmendar.

Iglesias-Jiménez y col. (1996 y 1997) estudian la modificación de la adsorción que produce la adición de TDTMA sobre tres plaguicidas moderadamente solubles: etofumesato (S = 110 mg L<sup>-1</sup>) linuron (S = 81 mg L<sup>-1</sup>) y diazinon (S = 40 mg L<sup>-1</sup>). Para estos tres plaguicidas las constantes de Freundlich alcanzadas, aunque con distintas concentraciones de TDTMA, son de 136,8, 72,70 y 15,4, que suponen incrementos respecto al suelo sin enmendar de 150, 30 y 1,5 veces, respectivamente.



En el trabajo de 1996 (Iglesias-Jiménez y col., 1996) también estudian otros dos plaguicidas, atrazina ( $S = 30 \text{ mg L}^{-1}$ ) y acefato ( $S = 650 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ ), para los que se obtienen constantes de Freundlich de 2,5 y 0,93 que suponen un incremento de 3,5 y 1,3 respectivamente, respecto al suelo solo. En estudios anteriores que se presentan en la tabla se observa por un lado, que no existe una correlación directa entre las propiedades de los plaguicidas (solubilidad y  $K_{ow}$ ) y por el otro, que el incremento en la adsorción no es proporcional a la concentración de TDTMA añadida. En todos los casos se pone de manifiesto que es necesario que es necesario superar la cmc para que empiece a mostrarse el efecto, pero que, una vez por encima de la misma, el aumento en la concentración de surfactante no conduce a un aumento proporcional en la adsorción (diazinon).

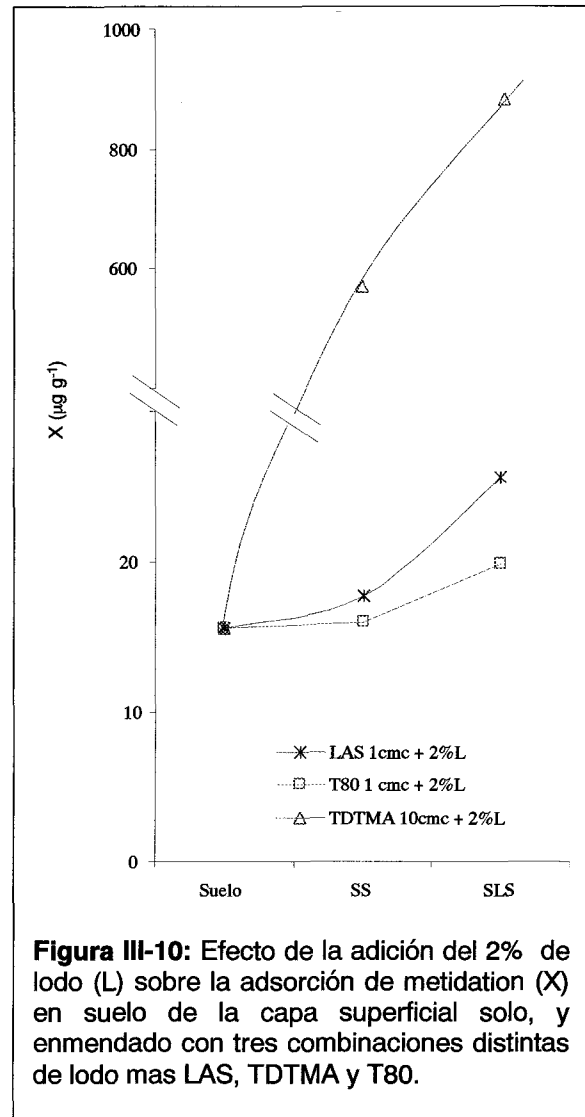
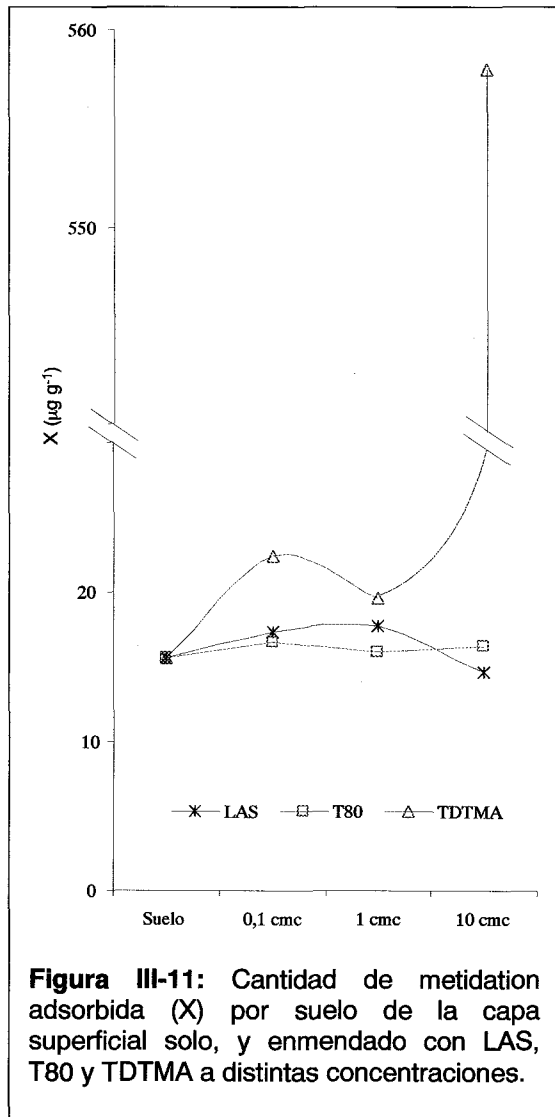
Gao y col. (2001) encuentran que la adición del surfactante catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) aumenta unas 3,7 veces la retención de clorobenceno al suelo, con respecto al suelo sin enmendar. Sheng y col. (1998) consiguen un aumento de la adsorción de entre 100-350 veces en suelos esmectíticos para este mismo compuesto. La cantidad de surfactante catiónico añadida en este último caso suponía el 0,7 de la CIC. Los surfactantes catiónicos, en un sistema acuoso, son retenidos por las superficies interlaminares y externas de las arcillas, mediante procesos de intercambio catiónico (Zhang y col., 1993b; Xu y Boyd, 1995a y b; Sullivan y col., 1998). Como resultado de esto el suelo presenta una gran capacidad para retener compuestos orgánicos presentes en el agua (Smith y col., 1990; Wang y col., 1997; Sheng y col., 1995; Dentel y col., 1998).

Probablemente, el surfactante aniónico no interacciona con las fracciones del suelo, y por tanto no se modifica el comportamiento de adsorción de metidation. Por otro lado, aunque el surfactante no-iónico puede ser adsorbido por el suelo, no modifica este proceso.

Debido a que el valor de  $1/n$  es distinto en cada uno de los casos, y por lo tanto no se pueden comparar los valores de  $K_f$ , para resaltar el cambio en la adsorción que produjo la adición del surfactante se ha realizado el gráfico de la Figura III-10. En el gráfico se comparan los valores teóricos de  $X$ , calculados para una concentración de equilibrio de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , en el suelo sin enmendar y enmendado con los surfactantes utilizados a las tres concentraciones ensayadas. Como puede observarse, la adición de LAS o T80 no modifica la adsorción de metidation, mientras que la adición de TDTMA a 10 cmc, es la que produce el mayor cambio en la cantidad de plaguicida adsorbido.

La enmienda conjunta con lodo y surfactante no se tradujo en un aumento significativo en la adsorción del plaguicida (Tabla III-8), salvo en el caso de la adición de TDTMA a 10 cmc más lodo al 2% (Figura III-9). De la misma forma que en el caso de la enmienda con surfactante, para comparar el aumento en la adsorción tras la combinación de ambos enmendantes, se ha utilizado el gráfico de la Figura III-11.

En esta figura se han representado las cantidades teóricas de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , en suelo sin enmendar, enmendado con los tres tipos de surfactantes a distintas concentraciones (LAS y T80 a 1 cmc, y TDTMA a 10 cmc) y enmendado con una combinación de lodo al 2% y surfactante a cada una de las concentraciones anteriores.



Como se puede comprobar en el gráfico, la enmienda con lodo, en el caso de los surfactantes aniónico y no-iónico, aumentó ligeramente la adsorción del insecticida. Sin embargo, la doble enmienda en la que intervino el surfactante catiónico produjo un gran aumento en la adsorción de metidation ( $880 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Este aumento en la adsorción se atribuye a la presencia del surfactante por un lado, pero especialmente a la presencia de lodo en la mezcla. La presencia de éste, puede aumentar la CIC del suelo, concediendo al surfactante nuevos puntos de unión, que confieren un mayor carácter hidrófobo al sustrato y hace aumentar la adsorción del insecticida.

Con los tres tipos de surfactantes la doble enmienda, tal como ocurría con el aporte de lodo solo, se tradujo en un aumento del coeficiente  $1/n$  obteniéndose valores cercanos a la unidad. Esto indica que la adsorción es directamente proporcional a la concentración de soluto en solución, y las isothermas se pueden clasificar como tipo C, lo que coincide con los resultados encontrados por otros autores.

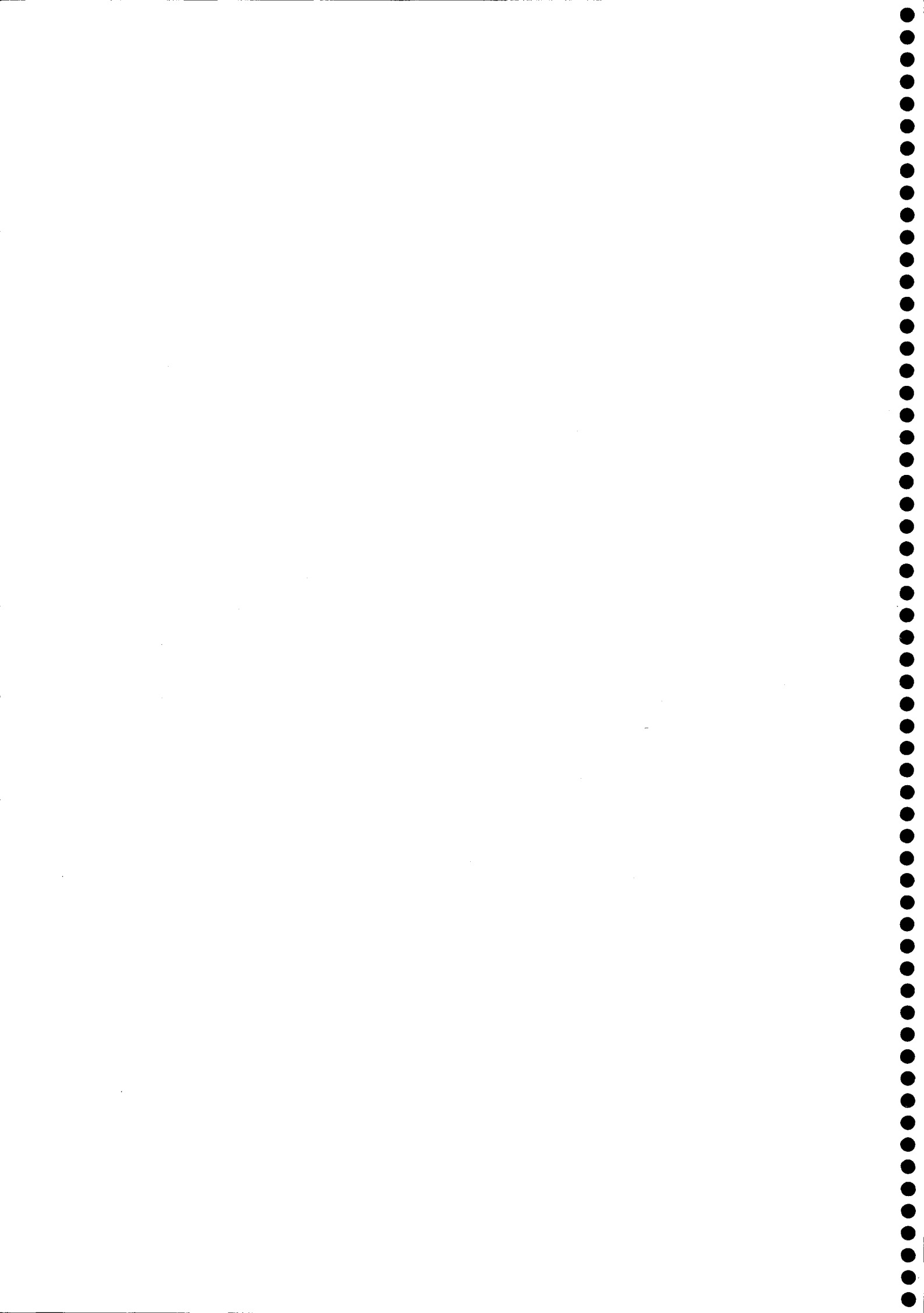
Como el lodo y el surfactante catiónico TDTMA fueron los que produjeron un mayor aumento de la adsorción de metidation en el suelo en estudio (Tabla III-3), en la Tabla III-4 se expresa el contenido en C.O. debido al aporte de ambos enmendantes. El objetivo era poder establecer posibles comparaciones en estudios posteriores. Se ha elegido este parámetro, por la relación que algunos autores han encontrado entre su valor y la adsorción de los plaguicidas al suelo (González-Pradas y col., 1992 y 1994; Arienzo y col., 1994; Sánchez-Camazano y col., 1996; Celis y col., 1998 y 1999; Socías-Viciano y col., 1999; Cox y col., 2000).

**Tabla III-5:** Contenido en C.O. del suelo sin enmendar, y aporte de C.O. (%) que supone la adición de lodo y TDTMA como enmendantes.

	% C.O.				$K_f$
	Suelo	Lodo	TDTMA	TOTAL	
S (0-25 cm)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	-	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7
S (50-75 cm)	$4,5 \times 10^{-1}$	-	-	$4,5 \times 10^{-1}$	0,8
S (100-110 cm)	$3,6 \times 10^{-1}$	-	-	$3,6 \times 10^{-1}$	-
SL (2% L)	$9,2 \times 10^{-1}$	$4,6 \times 10^{-1}$	-	$13,8 \times 10^{-1}$	2,5
SL (4% L)	$9,2 \times 10^{-1}$	$9,2 \times 10^{-1}$	-	$18,4 \times 10^{-1}$	4,1
SS 0,1cmc (0,2 mg de TDTMA)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	$0,024 \times 10^{-1}$	$9,2 \times 10^{-1}$	1,7
SS 1cmc (2 mg de TDTMA)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	$0,24 \times 10^{-1}$	$9,4 \times 10^{-1}$	2,6
SS 10cmc (20 mg de TDTMA)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	$2,4 \times 10^{-1}$	$11,6 \times 10^{-1}$	44,8
SLS (2%L + 20 mg de TDTMA)	$9,2 \times 10^{-1}$	$4,6 \times 10^{-1}$	$2,4 \times 10^{-1}$	$16,2 \times 10^{-1}$	83,4

Los valores se expresan en porcentaje, referidos a la cantidad de suelo empleado en las experiencias en batch. El contenido en C.O. de TDTMA es de 60,6 %, y considerando este valor se ha calculado el aporte de C.O. al suelo con las distintas cantidades de surfactante empleado en estos ensayos. Para el lodo se realiza el mismo cálculo teniendo en cuenta la cantidad añadida y el contenido de C.O. determinado para este enmendante (Tabla II-6). Los valores se han relacionado con las constantes de adsorción obtenidas, y el contenido en C.O. total en el suelo tras la enmienda.

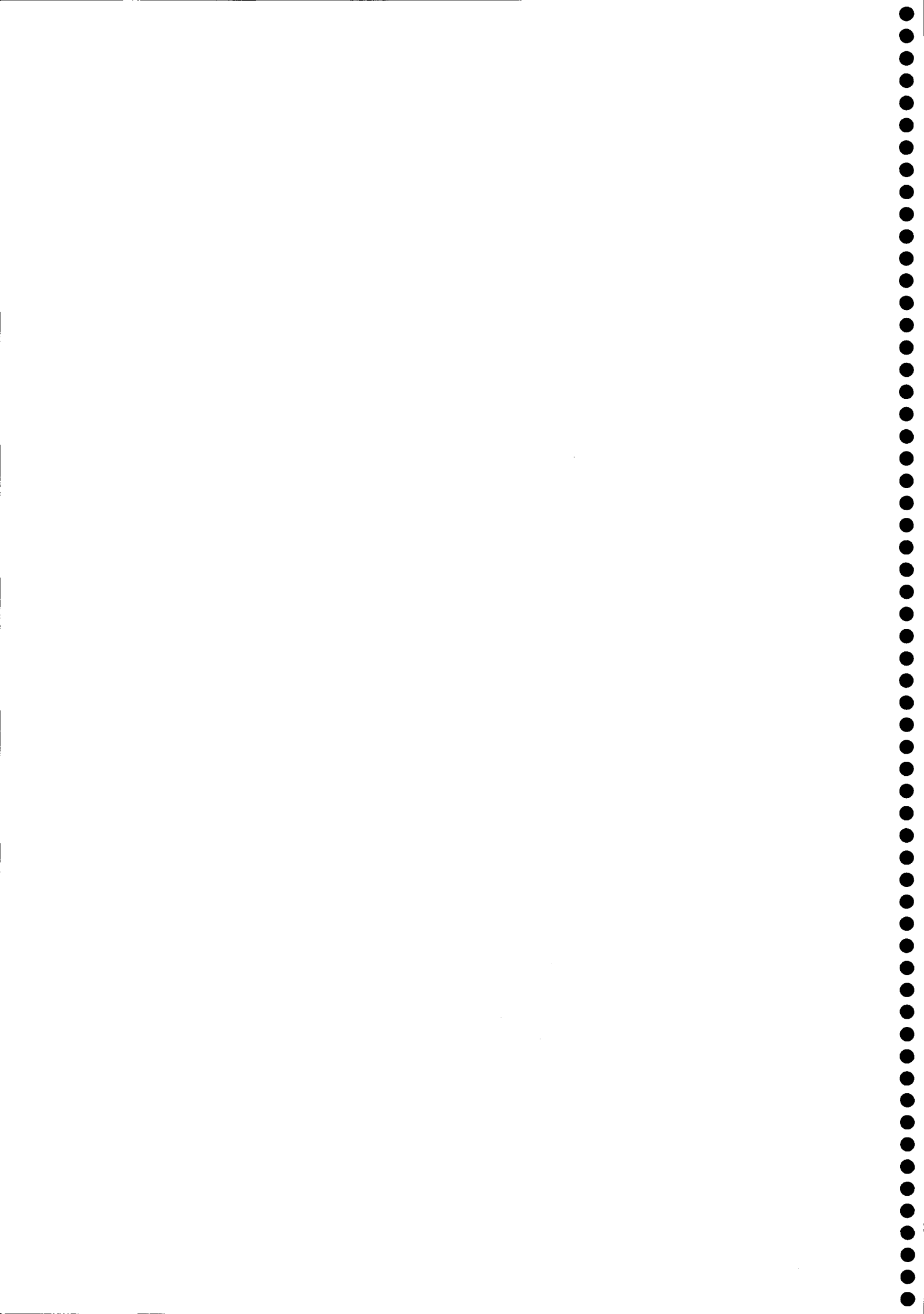
Excepto en la enmienda con lodo solo, hay que resaltar que el valor de C.O. total por sí mismo no basta para predecir el comportamiento de adsorción de un determinado absorbato, cuando se trata de aportes exógenos de naturaleza distinta (lodo y TDTMA).





# **Capítulo IV:**

## **Ensayos de degradación**



# 1 Introducción

Los estudios de persistencia de plaguicidas en suelos son importantes desde el punto de vista ambiental, ya que nos indican qué contaminantes pueden quedar en el suelo después de su aplicación, y por tanto el potencial para contaminar aguas superficiales y subterráneas (García-Varcárcel y Tadeo, 1999). Por otro lado, la determinación de las constantes de degradación de un plaguicida en el suelo es importante para la aplicación de modelos matemáticos que simulen su comportamiento en el medio (Dubus y col., 1999).

El término degradación se refiere a un grupo de procesos que reducen la concentración del plaguicida tras su aplicación en el laboratorio o a una porción de suelo en una parcela experimental (Gustafson y Holden, 1990). Incluye una multitud de fenómenos biológicos, químicos y físicos que dependen del suelo y de las características de éste. Los procesos más asociados con la disipación de los plaguicidas son la degradación microbiológica, hidrólisis química, volatilización, runoff, fotólisis y la dispersión por el viento (Nash, 1988). Entre los principales factores que afectan a la proporción de estos procesos incluyen: la densidad de población microbiana (Crecchio y col., 2001), temperatura y humedad (García-Valcárcel y Tadeo, 1999; Beulke y Malcomes, 2001; Dakhel y col., 2001), pH del suelo (Bending y col., 2001) o el contenido en m.o. del suelo (Wardle, 1992). Además, existe una correlación negativa entre el coeficiente de adsorción y la constante de degradación, es decir, que cuanto mayor es la afinidad del suelo por un compuesto menor es su degradación (de Wolf y col., 1998).

En el suelo, la degradación de los plaguicidas tiene lugar fundamentalmente a través de la microflora (Alexander, 1994; Robertson y Alexander, 1994; Gisi y col., 1997; Cullington y Walker, 1999). Es difícil aislar a los grupos de microorganismos implicados, pero fundamentalmente se trata de bacterias Gram-negativas y actinomicetos (Suett y col., 1996).

En este capítulo se comenta el efecto de la enmienda (lodos de depuradora y TDTMA) en la degradación de metidation. Los surfactantes pueden aumentar o disminuir la degradación de compuestos orgánicos en el suelo, en relación con el papel que juegan en los procesos de adsorción / desorción (Aronstein y col., 1991). La degradación de estos compuestos en este medio está relacionada con la adición de m.o. exógena (lodo, turba, compost, etc) (Beck, 1984; Anderson y Domsch, 1989; Honeycutt y Schabacker, 1994; Liu y col., 1996; Beulke y Malcomes, 2001; Moorman y col., 2001), por sus propiedades para modificar la adsorción y por los cambios en la actividad microbiológica que conlleva su aplicación (Liu y Cole, 1996). Para comprobar la importancia de los microorganismos en la degradación del metidation, se trabajará con controles estériles y para estimar el efecto del enmendante en la actividad microbiológica del suelo se analizará la actividad deshidrogenasa en los diferentes tratamientos (Camiña y col., 1998).

## 2 Material y métodos

### 2.1 Material empleado

Bolsas de plástico (polietileno).

Barrena manual.

Cámara termostatzada.

Duquesas de plástico (1 L de capacidad).

Espectrofotómetro

INT (cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazolium), pureza del 99%, Pm: 505,70. Acros Organics, New Jersey (USA).

INTF (iodonitrotetrazolium), Pm: 471,3. Sigma-Aldrich (Alemania).

Lodo de depuradora, seco y finamente molido.

Metidation (99 %, pureza)

Suelo (< 2 mm) de tres profundidades.

Tamiz (2 mm).

TDTMA (Surfactante catiónico).

Tetracloroetileno : Acetona (2:3)

Timerosal (agente biocida)

### 2.2 Toma de muestra y almacenamiento

Se tomaron muestras de suelo no tratado con metidation de la parcela de la Vega de Granada en estudio, a tres profundidades distintas (0-25, 50-75 y 100-110 cm). Para la toma de muestra se empleó una pala en el caso del suelo superficial (S), y barrena manual para las capas intermedia (SI) y profunda (SP). En total se recogieron 6 Kg de la capa superficial, 1 kg de la intermedia y 400 g de la capa más profunda, debido a la dificultad que supone la toma de muestra a esas profundidades.

Una vez recolectadas se trasladaron al laboratorio, donde fueron tamizadas y almacenadas a 15° C, hasta su utilización. Antes de su almacenamiento, se hizo una determinación de la humedad de cada una de las muestras.

### 2.3 Condiciones de Incubación y aplicación del insecticida

El suelo de la capa superficial se dividió en seis submuestras de 1 kg para cada tratamiento, mientras que el de la capa intermedia y profunda se utilizó en su totalidad sin realizar ninguna modificación.

Antes de la adición del plaguicida, las muestras de suelo se preincubaron a un 14 % de humedad (40% de la CC) en cámara termostatzada a 15 °C durante tres días aproximadamente, para estimular la actividad microbiológica. Tras este periodo de preincubación se añadió el volumen de plaguicida necesario a cada una de las muestras, para obtener una concentración final de 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  (referida a peso de suelo seco) y el

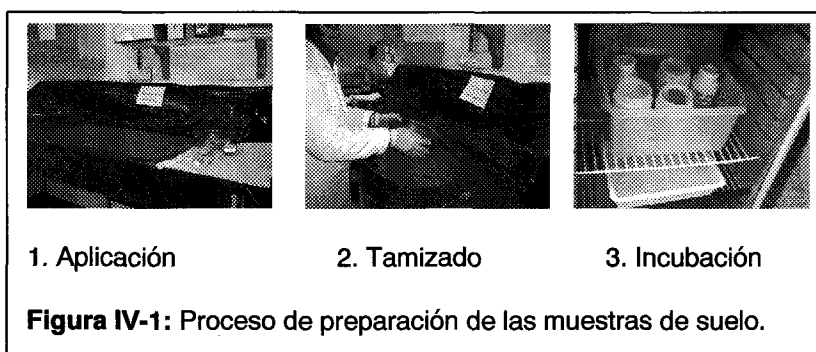


volumen de agua necesario para obtener una humedad del 20 % aproximadamente (70 % de la CC).

Las experiencias de incubación se realizaron durante un mes aproximadamente, con suelo de la capa superficial (S), adicionado de lodo al 4% (SL), TDTMA (SS) y ambos enmendantes (SLS). La enmienda con lodo se realizó por mezcla de éste con el suelo hasta obtener una mezcla lo más uniforme posible. La de surfactante, aplicando el plaguicida de forma conjunta con el surfactante con una solución de TDTMA a 10 cmc. De esta forma, la concentración final en el suelo de TDTMA fue de  $0,44 \text{ mg g}^{-1}$ .

Los controles estériles se preincubaban con una solución de timerosal al 2 ‰ adicionado a dos muestras de suelo superficial solo (St) y enmendado con lodo (SLt). El plaguicida añadido a estas muestras se preparó con la misma solución del biocida. El timerosal ha sido utilizado por otros autores (Metzger y col., 1996; Beulke y Malkomes, 2001) para eliminar la actividad microbiológica en el suelo.

La aplicación del plaguicida se realizó en todos los casos con microaspersor sobre el suelo extendido en una bolsa de plástico (Figura IV-1), procurando repartir el insecticida de forma uniforme. Cada muestra se homogeneizó pasándola por un tamiz de 2 mm, y se dividió en dos submuestras. Cada submuestra fue introducida en duquesas de plástico y analizadas por separado.



Las duquesas se esterilizaron con alcohol, se les hizo un pequeño agujero en su parte superior y se introdujeron en cámara termostática a  $15 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Para mantener la humedad de las muestras, en la cámara se colocó una bandeja con agua y se controló la pérdida de peso de los frascos, añadiendo el agua necesaria en caso de observarse un descenso en el peso.

Para comprobar que el insecticida no se adsorbía sobre la superficie de las duquesas se preparó una solución acuosa de metidation a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , que fue introducida en dos duquesas iguales a las empleadas y mantenida en la cámara termostática a  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  durante una semana.

## 2.4 Análisis de las muestras de suelo

De forma periódica se pesaban una porción de suelo de cada submuestra (25 g) y se extraía en Soxhlet durante 2 h, con una mezcla de HT (1:1), por el procedimiento explicado en el apartado II-3.3.

La extracción de la solución acuosa se realizó por el método de extracción de soluciones acuosas concentradas por Mw II-3.2.

## 2.5 Actividad deshidrogenasa

Para la medida de la actividad deshidrogenasa a 1 g de suelo se añadieron 0,2 mL de agua destilada y a continuación 0,2 mL de INT. Se dejaron en oscuridad a 25 °C durante 20 h. Al día siguiente, se le añadían 5 mL de una mezcla de tetracloroetileno: acetona (2:3), se agitaban manualmente y se centrifugaban a 8 rpm durante 10 min. De la fase orgánica (color rojo) se pipeteaban 2 mL que eran diluidos con otros 2 mL de la mezcla extractante.

La cantidad de la forma reducida (INTF) se cuantificaba por absorción de la solución en un espectrofotómetro a 490 nm, y posterior comparación con una curva patrón.

## 2.6 Ecuaciones matemáticas de simulación de la degradación

Para el ajuste de los valores experimentales se ha empleado la ecuación exponencial para una cinética de primer orden, de Hoerl (cinética de pseudoprimer orden), y biexponencial.

En la ecuación exponencial (1),  $C_0$  es la concentración inicial del plaguicida y  $k$  la constante de velocidad del proceso y  $t$  el tiempo de degradación. A partir de su forma lineal se calcula el valor de las constantes de degradación y el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ).

$$C = C_0 * e^{-kt} \quad (1)$$

La ecuación de Hoerl (2), es un caso especial de la ecuación cinética de primer orden (Hoerl, 1954).

$$y = a * e^{bt} * t^c \quad (2)$$

$a$  y  $b$  tienen el mismo significado que  $C_0$  y  $k$  en la ecuación 1, mientras que el término  $c$  nos indica la desviación de la forma exponencial.

En la ecuación biexponencial (3),  $C_0$  es la concentración inicial, y  $k_1$  y  $k_2$  son dos constantes de velocidad (Reyes y Zimdahl, 1988; (Beulke y Brown, 2001). El inconveniente que presenta este método es que precisa de herramientas informáticas para su ajuste.

$$C = \frac{k_1' * C_0}{(k_1' + k_2' * C_0) * e^{k_1' * t} - k_2' * C_0} \quad (3)$$

El ajuste de la ecuación exponencial de primer orden y la de Hoerl se realizó mediante regresiones lineales simples y múltiples, respectivamente.

Para el ajuste de la función biexponencial se minimizó una función  $S$  (ecuación 4) por mínimos cuadrados mediante el método de Monte Carlo (Kalos y Whitlock, 1986; Alfonso-Méndez, 2001), utilizando un programa en FORTRAN 77. Los parámetros ajustados son la concentración inicial,  $C_0$  y las constantes de degradación  $k_1$  y  $k_2$ , los cuales se varían en un rango suficientemente amplio. La variante de Monte Carlo utilizada genera un parámetro aleatorio por vez, siendo también aleatoria la decisión de qué parámetro se varía, ya que de esta forma el método converge mejor (Alfonso-Méndez, 2001).

$$S = \sum (C_i^{exp} - C_i^{calc})^2 \quad (4)$$

$C_i^{exp}$ , valores experimentales

$C_i^{calc}$ , valores calculados por el método de Monte Carlo

### 3 Resultados y discusión

Debido a que toda la experiencia se realizó en duquesas de plástico y a que en ensayos anteriores se tuvo problemas con este material, se quiso comprobar que no retenía al insecticida. La prueba de adsorción dio resultados negativos, ya que el porcentaje de plaguicida recuperado fue en todos los casos superior al 95%. De esta manera se confirmó la validez de los resultados obtenidos.

Del análisis de la concentración de metidation en distintas muestras de suelo se obtendrán los valores de la constante de degradación del insecticida en cada tratamiento.

Las medidas de actividad deshidrogenasa se utilizarán para comprobar el efecto de la enmienda en la actividad microbiológica, y si existe relación con la degradación del compuesto.

También se analizará el ajuste de los datos experimentales a distintas ecuaciones matemáticas.

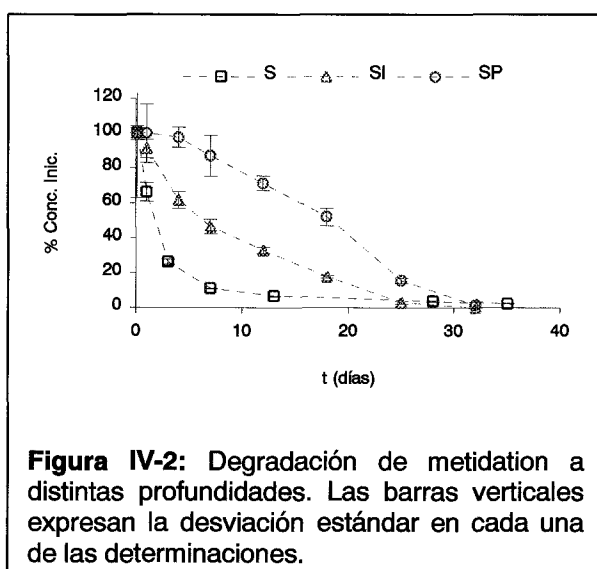
#### 3.1 Degradación de metidation en el perfil del suelo

En la Figura IV-2 se muestra la degradación que sigue el plaguicida en suelo de la capa superficial (S), intermedia (SI) y profunda (SP).

Como se observa, la degradación de metidation es rápida en todos los casos, desapareciendo en su totalidad en los primeros 25 días. No obstante se observan diferencias en cada una de las profundidades. Como era de esperar la degradación en la

capa arable es mucho más rápida, desapareciendo el 90% del plaguicida en los primeros 10 días. En la capa intermedia, se observa una rápida degradación en los primeros días de incubación, al igual que ocurría en la superficial. En la capa profunda la degradación muestra una primera etapa casi estacionaria seguida de una degradación más lenta que en las anteriores capas, y se requieren unos 30 días para que la concentración inicial sea menor del 90 %.

Las isotermas de adsorción revelan una disminución de la adsorción de metidation por el suelo con la profundidad (Tabla III-4). Por lo que el insecticida estaría más disponible para ser degradado en las capas más profundas. No obstante, es evidente como se ve en la figura IV-2 que la degradación también disminuye con la profundidad. Este hecho se puede achacar a la disminución en la densidad y naturaleza de la población bacteriana en el perfil del suelo (Accinelli y col., 2001; Vinther y col., 2001), que hace que la degradación del compuesto sea más lenta cuanto mayor es la profundidad a la que se ha tomado el suelo. Esto hecho apunta hacia que la degradación de metidation en suelo pueda ser fundamentalmente de tipo microbiológico, como observan Getzin y Rosefield (1968) y Getzin (1970).



Aunque exista una disminución de la población bacteria en el perfil del suelo, no podemos descartar la importancia de otros procesos abióticos en la degradación de metidation. Estos procesos pueden estar relacionados con el contenido en arcillas, ya que otros autores han observado que la presencia de éstas influye en la degradación de metidation en suelo (Getzin, 1970) y en la de otros OPs en agua (Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1983).

### 3.1.a Ajuste a la ecuación exponencial de primer orden

En la Tabla IV-1 se muestra el ajuste de la ecuación exponencial a los valores experimentales de degradación de metidation en el perfil del suelo.

**Tabla IV-1:** Ajuste lineal de la ecuación exponencial de los valores experimentales de degradación de metidation en el perfil del suelo.

Modelo		S	SI	SP
Lineal $C = C_0 * e^{-kt}$	$k \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	8,9 ±1,0	12,9 ±0,6	8,7 ±0,8
	$R^2$	0,8258	0,9364	0,8038
	$t_{1/2}$ (días)	7,8	5,4	7,9

El valor de  $R^2$  que se obtiene en todos los casos es superior a 0,70, y según Beulke y Brown (2001) en todos los casos el ajuste a la ecuación exponencial se puede considerar aceptable. El mejor ajuste se obtuvo para el suelo de la capa intermedia ( $R = 0,9364$ ) lo que se corrobora con el valor de  $t_{1/2}$ , que está de acuerdo con lo observado experimentalmente (Figura IV-2).

Para la capa superficial y profunda, a pesar de que los coeficientes de correlación son buenos, los valores de las constantes de degradación y los valores de  $t_{1/2}$  no concuerdan con lo observado experimentalmente (Figura IV-2). Esta falta de concordancia revela que la cinética de degradación es más rápida para S y más lenta para SP, que la que predice el ajuste. Estas diferencias entre los valores teóricos y los experimentales se pueden achacar al bajo grado de ajuste obtenido ( $< 0,90$ ), y ponen en entredicho la idea de que un  $R^2 > 0,70$  sea suficiente para considerar que el ajuste a la ecuación exponencial es aceptable.

Los resultados obtenidos, indican que existe una cinética de degradación para metidation diferente en el perfil del suelo.

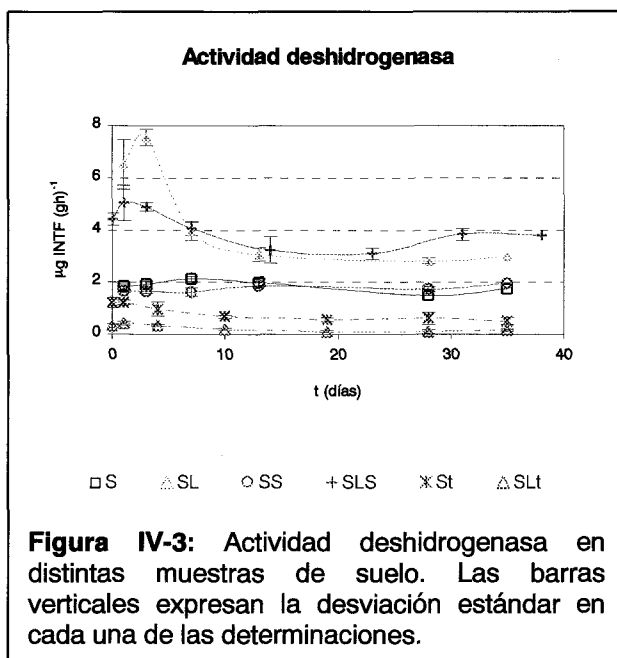
### 3.2 Efecto de los enmendantes en la degradación de metidation

Para analizar el efecto del lodo y TDTMA en la actividad microbológica del suelo, se midió la actividad deshidrogenasa en las distintas muestras de suelo superficial sin enmendar (S), enmendado con lodo (SL), con el surfactante catiónico TDTMA (SS), y con lodo y surfactante (SLS), y en muestras estériles (St y SLt) (Figura IV-3).

La medida de la actividad deshidrogenasa se considera una buena estimación de la actividad microbológica oxidativa en el suelo (Camiña F. y col., 1998), y puede relacionarse con la degradación del insecticida.

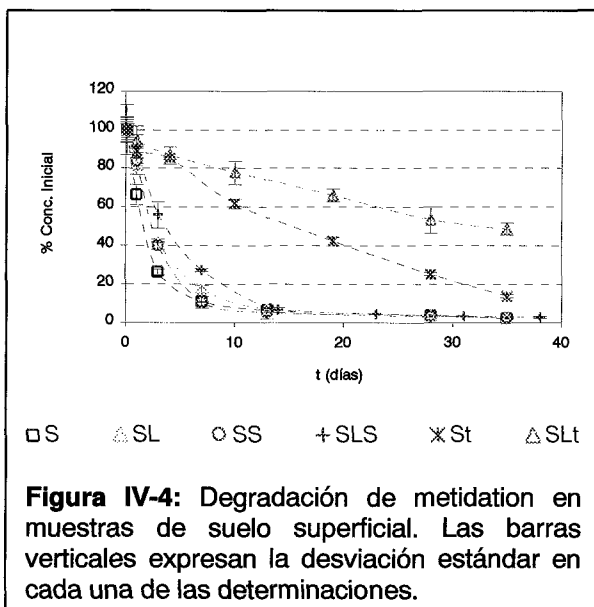
Como era de esperar se observa una reducción de la actividad microbológica en las muestras de suelo estéril, si se compara con las correspondientes muestras no estériles. La mayor actividad microbológica se encuentra en los suelos enmendados con lodo (SL y SLS). Este hecho se puede relacionar con el mayor contenido en m.o. de las muestras enmendadas con lodo, ya que ésta es una importante fuente de nutrientes para los microorganismos del suelo (Beck, 1984; Anderson y Domsch, 1989). Moorman y col.

(2001) encuentran que la población microbiana y la actividad deshidrogenasa aumenta cuando adicionan m.o. exógena a distintas muestras de suelo.



La adición de TDTMA no supuso ningún cambio en la actividad microbiológica, ya que se han obtenido valores iguales para las muestras S y SS. En consecuencia, el incremento de la actividad deshidrogenasa en SL y SLS debe atribuirse, como se ha comentado a la presencia de lodo y no a la del surfactante. Este hecho era de esperar debido a que la enmienda con TDTMA no supuso un aumento significativo en el contenido de carbono del suelo como se verá posteriormente (Tabla IV-1), y por tanto en la fuente de nutrientes para los microorganismos

En la Figura IV-4 se representan los datos experimentales de la degradación de metidation en suelo superficial sin enmendar y enmendado, y en los controles estériles.



Como se puede observar, existe una diferencia clara entre la degradación de las muestras estériles y no estériles, siendo esta mucho mayor en las muestras no estériles. Dupuis y col., 1971, estudian la degradación de metidation en suelos autoclavados y sin autoclavar, encontrando que ésta es rápida y mayor en las muestras no esterilizadas.

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que la actividad microbiológica es una de las principales causas de la degradación de metidation en el suelo, enmendado o sin enmendar. La importancia de la actividad microbiológica en la degradación de los plaguicidas en suelo es un hecho aceptado por otros muchos autores (Robertson y Alexander, 1994; Suett y col., 1996; Gisi y col., 1997; Shapir y Mandelbaum, 1997; Crecchio y col., 2001).

En los suelos estériles se observa que la velocidad de degradación es más lenta en presencia de lodo (SLt). Esta diferencia revela que la enmienda con lodo juega un papel importante en la degradación abiótica de metidation. La mayor persistencia en la muestra SLt puede deberse a la interacción de componentes del lodo (moléculas orgánicas, etc.) con puntos del suelo que actúen como catalizadores en la degradación del compuesto, por ejemplo arcillas y cationes (Getzin, 1970; Grosby, 1970; Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1989). Estas interacciones parecen controlar la cinética de la degradación cuando se suprime la actividad microbiológica.

Las escasas diferencias en la degradación entre las muestras enmendadas (SL, SS y SLS) y sin enmendar (S) se pueden relacionar con el cambio en la adsorción del insecticida por la adición de los enmendantes, ya que sólo la fracción disuelta de un plaguicida es la que está disponible para ser degradada por los microorganismos del suelo (Scow, 1993), y por tanto cuanto menor es la adsorción mayor es la degradación (de Wolf y col., 1998).

Como se vio en los ensayos de adsorción, excepto en la enmienda con lodo solo, hay que resaltar que el valor de C.O. total por sí mismo no basta para predecir el comportamiento de adsorción de un determinado absorbato, cuando se trata de aportes exógenos de naturaleza distinta (lodo y TDTMA). Este aumento se relacionó con el contenido de C. O del suelo en el caso de la enmienda con lodo, pero en el caso del surfactante catiónico el aumento de la adsorción se observa a partir de un valor crítico de C.O. próximo a  $2,4 \times 10^{-1} \%$  (ver Tabla III-4). Considerando esta relación, se ha querido comprobar si el aporte de C.O. debido a los enmendantes en la incubación fue suficiente para aumentar la adsorción del insecticida. La Tabla IV-1 recoge los aportes de C.O. calculados para cada muestra y se comparan con enmiendas similares utilizadas en la adsorción con el fin de estimar un valor aproximado del coeficiente de adsorción. Los cálculos se realizan siguiendo la explicaciones dadas en capítulo dedicado a la adsorción.

Las cantidades de lodo y TDTMA empleadas son similares a los ensayos de adsorción aplicando lodo al 4% y TDTMA a 1 cmc. Excepto en el caso del lodo, en los ensayos de adsorción se obtuvieron unas  $K_f$  similares a la del suelo sin enmendar, por lo que la enmienda empleada en estos ensayos de incubación no ha modificado de forma importante la adsorción del insecticida al suelo. En el caso de la doble enmienda es difícil

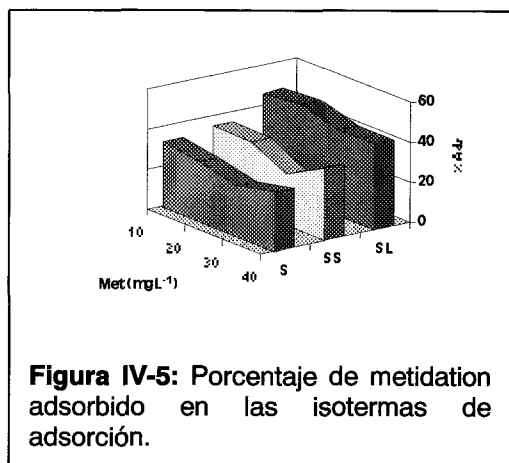
extraer conclusiones de los ensayos de adsorción debido a que no se realizó un ensayo similar.

**Tabla IV-2:** Aporte de C.O. al suelo en las muestras incubadas y su relación con enmiendas similares realizadas en los ensayos de adsorción, con sus correspondientes coeficientes de adsorción.

Ensayos de Incubación	% C.O.		Ensayos de Adsorción		
	Lodo	TDTMA	% C.O.		$K_f$
			Lodo	TDTMA	
S (0-25 cm)	-	-	S	-	2,7
SL (4%L)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	SL (4 %L)	$9,2 \times 10^{-1}$	4,1
SS (0,22 mg TDTMA g <sup>-1</sup> )	-	$0,26 \times 10^{-1}$	SS (1 cmc)	$0,24 \times 10^{-1}$	2,6
SLS (4%L + 0,22 mg g <sup>-1</sup> )	$9,2 \times 10^{-1}$	$0,26 \times 10^{-1}$	*	-	-

\*En este caso no se tienen datos experimentales de adsorción, para valores similares de enmienda.

El efecto de la enmienda también se puede estudiar calculando los porcentajes de metidation adsorbidos (Biggar y Cheung, 1973) en las isotermas de adsorción a las cuatro concentraciones que se ensayaron, en suelo enmendado con lodo al 4% y TDTMA a 1 cmc (Figura IV-5).



Como puede observarse, los porcentajes de adsorción del insecticida en el suelo varían solo de forma moderada con la adición de los enmendantes (S:  $29 \pm 3\%$ ; SS:  $33 \pm 5\%$  y SL:  $45 \pm 3\%$ ), no existiendo datos experimentales de la enmienda conjunta a estas concentraciones de lodo y surfactante. Estos resultados explicarían las escasas diferencias observadas en la degradación de metidation en presencia de los enmendantes ensayados.

Para el caso del surfactante, si se tiene en cuenta la cantidad añadida y se compara con las experiencias de la adsorción, el aumento que supuso es muy pequeño (29 % para S y 33 % para SS). Esta diferencia no parece afectar a la degradación de metidation en el suelo, debido a la similitud de los resultados con la muestra de suelo sin enmendar (Figura IV-4).

La enmienda con lodo (SL), aumentó la actividad microbiológica en el suelo (Figura IV-3), por lo que se esperaba una degradación mayor que en el suelo natural. Sin embargo sólo se observa una degradación ligeramente menor en los primeros días. Este pequeño efecto puede explicarse si se tiene en cuenta que el porcentaje de adsorción del



insecticida aumenta ligeramente (S: 29% y SL: 45 %), y consecuentemente la cantidad de metidation disponible para ser degradada es ligeramente menor. También hay que tener en cuenta que el aporte de lodo al suelo puede constituir una fuente de energía más fácil de degradar para los microorganismos, que será preferida al insecticida. Moorman y col. (2001) en el estudio de la degradación de trifluralina en suelos enmendados con m.o. exógena encuentra que si bien la adición de ésta produce un aumento de la actividad deshidrogenasa en el suelo, este aumento no afecta la degradación del compuesto.

En la enmienda conjunta de lodo y surfactante en el suelo (SLS), la mayor contribución a aumentar la capacidad de adsorción de metidation se debe a la adición de lodo, ya que la cantidad de surfactante añadida ( $0,24 \times 10^{-1} \%$ ) es 10 veces menor que la que produjo un aumento significativo en las isothermas de adsorción ( $2,4 \times 10^{-1} \%$  para TDTMA a 10 cmc). Aunque en este caso no se tienen datos experimentales de adsorción, cabe esperar por los resultados obtenidos en las experiencias en "batch" que el principal efecto se deba a la adición de lodo, y que por tanto el efecto sea similar al caso anterior (SL). Esta afirmación se apoya con el hecho de que la degradación en la muestra SLS, es similar a la de la muestra enmendada solo con lodo. Por otro lado, el poco efecto que ejerce la pequeña cantidad de surfactante añadida al suelo se corrobora con el hecho de la similitud de los datos en la actividad microbiológica entre SL y SLS, de la misma manera que ocurría con S y SS (Figura IV-3).

Para concluir podemos afirmar que la adición de lodo de depuradora y el surfactante catiónico en las cantidades ensayadas, modifican levemente la adsorción del insecticida. Esto da lugar a que la fracción de la molécula disponible para ser degradada por los microorganismos del suelo sea similar en todos los casos, y a que existan pocas diferencias en el proceso de degradativo.

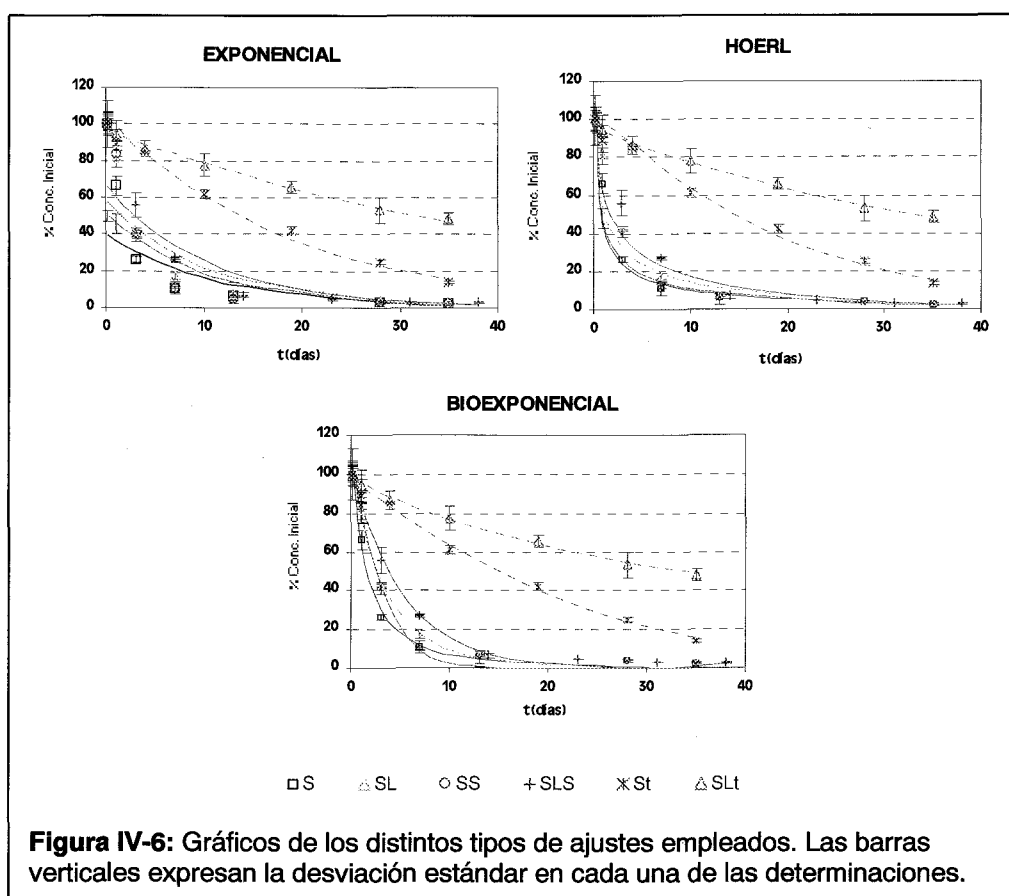
### 3.2.a Ajuste de los datos a ecuaciones matemáticas

El empleo de ecuaciones matemáticas que intenten explicar la degradación de los plaguicidas en el suelo ha sido una herramienta ampliamente utilizada en el estudio de los procesos degradativos (Lafleur y col., 1978; Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1983; Romero y col., 2000). Las constantes de degradación permiten estimar la persistencia de un compuesto en el suelo y además son necesarias en modelos matemáticos que simulan el comportamiento de los plaguicidas en el suelo (Dubus y col., 1999; Beulke y Brown, 2001; Beulke y Malcomes, 2001).

Dentro de las ecuaciones matemáticas, el modelo lineal (monofásico o cinética de un compartimento) basado en la ecuación exponencial de primer orden, es uno de los más empleados (Lafleur y col., 1978; Gustafson y Holden, 1990; Zimdahl y col., 1994; García-Valcárcel y Tadeo, 1999; Beulke y col., 2000; Bending y col., 2001; Beulke y Brown, 2001). alguna de las razones de su uso es que tiene una matemática sencilla, funciona en la mayoría de los casos (Zimdahl y col., 1994), y es uno de los más empleados en los modelos de simulación del comportamiento de los plaguicidas en el suelo (Beulke y Brown, 2001).

Cuando la degradación no se ajusta a una cinética de primer orden, puede seguir un modelo bifásico (Romero y col., 1998; Beulke y Brown, 2001). Existen varias ecuaciones empíricas no lineales que describen el modelo de degradación bifásico, como el modelo del compartimento protegido ("protected compartment model"), el propuesto por Gustafson y Holden (1990), el modelo biexponencial o la ecuación de Hoerl (Beulke y Brown, 2001).

En la Figura IV-6 se representan los puntos experimentales de la degradación de metidation en suelo superficial en los diferentes tratamientos (S, SS, SL, SLS, St y SLt), junto con las curvas teóricas del ajuste al modelo lineal (ecuación exponencial de primer orden), a la ecuación bioexponencial y a la Hoerl.



En la figura se observa como los modelos bifásicos son más apropiados para el ajuste de los datos experimentales en las muestras no estériles, mientras que los controles estériles se ajustaron bien a todas las ecuaciones propuestas.

En la Tabla IV-3 se muestran las constantes de degradación obtenidas en cada uno de los ajustes empleados, junto con algunos parámetros estadísticos del ajuste. También se han calculado el valor de las constantes de degradación, suponiendo que existen dos procesos cinéticos de primer orden, uno a tiempos cortos y otro a valores de tiempo mayores, definidos por las constantes  $k_1$  y  $k_2$ .

**Tabla IV-3:** Parámetros obtenidos del ajuste de distintos modelos matemáticos a los datos de degradación de metidation en suelo.

Modelo		S	SS	SL	SLS	St	SLt
<b>Exponencial</b> $C = C_0 * e^{-kt}$	$k \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	8,9 ±1,0	9,9 ±1,0	9,6 ±0,7	9,8 ±0,6	5,4 ±0,1	2,1 ±0,1
	$R^2$	0,8258	0,7957	0,8657	0,8835	0,9818	0,9367
	$t_{1/2}$ (días)	7,8	7,0	7,2	6,9	12,8	33,8
<b>A tiempos cortos</b>	$k_1 \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	30,8 ±1,9	33,6 ±1,4	25,6 ±0,8	19,6 ±0,6	4,7 ±0,3	2,4 ±0,4
	$R^2$	0,9547	0,9755	0,9854	0,9853	0,9817	0,7561
<b>A tiempos largos</b>	$k_2 \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	4,6 ±0,3	3,3 ±0,3	4,1 ±0,3	3,9 ±0,4	6,9 ±0,3	1,9 ±0,4
	$R^2$	0,9623	0,9099	0,9386	0,8278	0,9772	0,7233
<b>Ec. Hoerl</b> $y = a * e^{bt} * t^c$	$-b \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	31,3 ±0,7	40,5 ±1,1	5,1 ±0,8	6,0 ±0,9	5,9 ±0,2	1,8 ±0,2
	$-c \times 10^2$	53,9 ±5,2	49,9 ±7,6	38,3 ±5,4	32,7 ±6,4	3,7 ±1,7	1,8 ±1,3
	$R^2$	0,9665	0,9176	0,9519	0,9341	0,9836	0,9396
<b>Ec. Bioexponencial</b> $C = \frac{k_1' * C_0}{(k_1' + k_2' * C_0)} * e^{k_1't} - k_2' C_0$	$k_1' \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	13,0	42,2	18,8	18,7	6,5	0,43
	$k_2' \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	0,54	-0,17	0,14	0,01	-0,03	0,03
	ER*	309,6	335,9	395,8	1254,0	98,5	545,6

\*ER: error estándar

Con el ajuste a la ecuación exponencial se obtuvieron valores de  $R^2 > 0,70$  en todos los casos, por lo que según Beulke y Broen (2001) se puede considerar aceptable. Pero excepto en las muestras control, el ajuste subestima el valor de  $C_0$  y la velocidad de degradación de metidation a tiempos cortos. Este hecho que ha sido observado por otros autores (Zimdahl y col., 1994; Beulke y Brown, 2001). La falta de ajuste ha sido achacada a la heterogeneidad de las muestras de suelo (Gustafson y Holden, 1990; Beulke y col., 2000) y a otros muchos factores (presencia de agua, de superficies catalíticas o la variabilidad en la población microbiana), que no se reflejan en ningún parámetro de la ecuación exponencial (Zimdahl y col., 1994). En nuestro caso, la influencia de la población microbiana puede ser el principal motivo de desajuste, ya que en las muestras control el ajuste es bueno y los valores de  $t_{1/2}$  (12,8 y 33,8 días) concuerdan con los datos experimentales (Figura IV-6).

Por esta razón se decidió ajustar los valores experimentales considerando dos procesos cinéticos de primer orden, obteniéndose dos constantes de degradación ( $k_1$ , a tiempos cortos y  $k_2$ , a tiempos largos). El uso de dos constantes de degradación para describir la degradación de los plaguicidas ha sido propuesto por varios autores (Hyzak, y Zimdahl, 1974; Lafleur y col., 1978; Lafleur, 1980; Parker y col., 1982 y 1983; Sánchez-Camazano, y Sánchez-Martín, 1983), aunque su empleo no tiene base teórica (Zimdahl y col., 1994). Los valores de  $K_1$  son mucho más grandes que los de  $K$ , mientras que los de  $K_2$  son más pequeños. Solamente en el caso de las muestras control los valores de ambos constantes se encuentran próximos al valor de  $K$ .

La forma de las curvas de degradación, con un rápida pendiente inicial seguida de una segunda etapa más lenta, nos indica que los modelos bifásicos pueden ser más apropiados para describir la degradación de metidation en el suelo (Beulke y Brown, 2001). Este hecho puede estar relacionado con dos fracciones de la molécula con distinta biodisponibilidad para ser degradadas (Lafleur y col., 1978; Gustafson y Holden, 1990). Algunos autores lo achacan también a que el proceso de equilibrio en la adsorción del plaguicida al suelo puede ser más lento del esperado, y el plaguicida una vez adsorbido se degrada más lentamente que antes de estarlo (Hamaker y Goring, 1976; Scow, 1993).

En el ajuste a Hoerl, el valor del parámetro  $c$  en las muestras St y SLt está muy próximo a cero, lo que muestra que el ajuste lineal a la ecuación exponencial es una buena aproximación en este caso (Zimdahl y col., 1994). En las otras muestras el valor de  $c < 0$  indica que la degradación del compuesto es más rápida al principio que al final (Zimdahl y col., 1994).

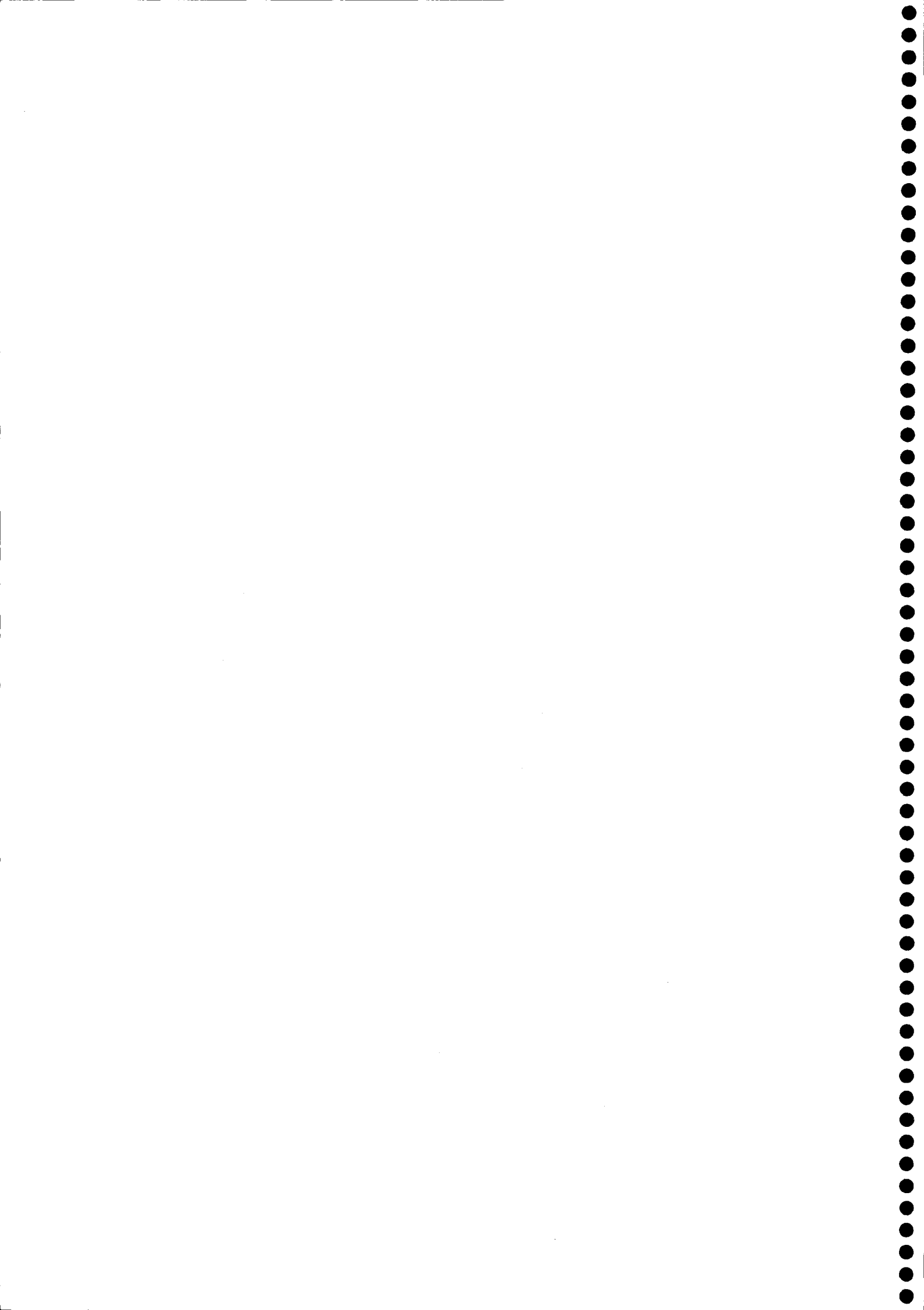
Con la ecuación bioexponencial también se obtuvo un buen ajuste a los valores experimentales, aunque en este caso es más difícil comparar con las otras ecuaciones ya que el parámetro que nos habla del grado de ajuste es distinto (desviación estándar).

El problema del empleo de ecuaciones distintas a la exponencial de primer orden es que no se pueden calcular valores de  $t_{1/2}$  y la estimación de valores de TD50 considerando cinéticas de otro orden puede conducir a valores muy distintos según la ecuación empleada (Leake y col., 1995; Beulke y Brown, 2001). Los valores de  $t_{1/2}$  calculados para metidation con el modelo lineal oscilan entre 12,8 y 33,8 días para St y SLt, respectivamente, y una media de 7,2 días para el resto de las muestras. Si tenemos en cuenta los ajustes a Hoerl y a la ecuación biexponencial, gráficamente se obtienen unos valores de TD50 de entre 3 y 5 días para las muestras no estériles, y de 16 y 35 días para las muestras estériles. Estos resultados indican que cuando con el ajuste a la ecuación exponencial se obtienen valores de  $R^2 < 0,9$ , los  $t_{1/2}$  que se obtienen pueden no coincidir con lo observado experimentalmente.

De los resultados se deduce que la degradación de metidation en el suelo enmendado o sin enmendar es rápida, y concuerdan con los obtenidos en otros estudios. Getzin (1970) en el estudio la degradación de metidati6n en dos tipos de suelos (arcilloso y orgánico), observó que la degradación de este compuesto es rápida, y que en dos semanas desaparecía el 50% de la concentración aplicada.



# **Capítulo V: Fotodegradación**



# 1 Introducción

Entre los diferentes procesos bióticos y abióticos que afectan a la degradación de los plaguicidas en el campo, los de tipo fotodegradativo son unos de los menos estudiados, pero a su vez unos de los más importantes (Fielding y col., 1992). Estos procesos no sólo tienen lugar en el momento de su aplicación, sino también cuando los residuos alcanzan la superficie del suelo debido a prácticas de roturación o por fenómenos de advección debido a la evaporación del plaguicida en la capa superficial.

Aunque estos procesos tienen lugar en los primeros milímetros del suelo (Hebert y Miller, 1990; Lartigues y Garrigues, 1995; Vaughan y Blough, 1998), la velocidad con la que transcurren las reacciones fotolíticas suele ser más rápida que la existente en otras reacciones de tipo degradativo .

Los procesos de tipo fotodegradativo pueden ser directos o indirectos. En la fotólisis directa la absorción de la radiación por el compuesto es la que da lugar a la transformación, mientras que en la indirecta la energía es absorbida por otros constituyentes del medio (agua, suelo) y dan lugar a la formación de especies excitadas (Torrents y col., 1997). Estas especies excitadas pueden transferir su energía a la sustancia, o dar lugar a la formación de especies reactivas (oxígeno singlete, radicales hidroxilo, etc.), que intervendrán en las reacciones fotolíticas que dan lugar a la reacción del compuesto (Zepp y col., 1985; Mill y col., 1980; Haag y Hoigne, 1986). En el suelo las especies que pueden absorber la luz, además de los plaguicidas, son la materia orgánica disuelta (m.o.d.) y compuestos inorgánicos (agua, metales), jugando ambos un papel muy importante en los procesos fotodegradativos directos o indirectos (Zepp y Cline, 1977; Choudhry y Webster, 1985).

Los estudios de este tipo pueden llevarse a cabo bajo diversas condiciones de irradiación natural o artificial. La mayoría de los trabajos usan fuentes de irradiación artificiales (lámparas de xenon o mercurio) que imitan a la luz solar (Taboada y col., 1995), o radiación UV (Khan y Gamble, 1983) con partículas que actúan como catalizadores ( $\text{TiO}_2$  o  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) (Mansour y Feicht, 1994). Las lámparas de mercurio de alta presión se usan para acelerar la reacción, ya que las reacciones fotolíticas dependen de la intensidad y la longitud de onda utilizada (Katagi, 1990; Durand y col., 1994).

Pero aunque estos estudios de laboratorio son muy interesantes, la extrapolación de los resultados obtenidos a condiciones de campo no es muy acertada, debido a las condiciones cambiantes de temperatura e irradiación que existen en el campo (Chiron y col., 1995b). En la actualidad existen pocas trabajos que estudien el comportamiento fotodegradativo de los plaguicidas en suelo en condiciones ambientales (Takahashi y col., 1985b; Hebert y Miller, 1990; Pelizzetti y col., 1992; Kochany y Maguire, 1994; Lartigues y Garrigues, 1995; Konstantinou y col., 2001).

En este capítulo se estudiará la fotodegradación de metidation en muestras de suelo superficial enmendando y sin enmendar con lodo de depuradora y/ o el surfactante catiónico TDTMA, en condiciones de humedad y con irradiación mediante luz natural. El

objetivo era estudiar la fotodegradación del insecticida objeto de estudio, en una condiciones similares a las que tendrían lugar tras su aplicación en campo.

## 2 Material y métodos

### 2.1 Material empleado

#### INSTRUMENTACIÓN

CG Hewlett-Packard Serie II 5890, equipado con un detector fotométrico de llama (FPD), inyector automático Hewlett-Packard 6890 con y sin división de flujo.

CG-Varian Star 3400 CX, equipado con un inyector automático, y conectado a un espectrómetro de masas con trampa de iones Varian Saturn 3.

Cromatógrafo Líquido Hewlett-Packard 1090, equipado con un detector de diodos en cadena y un integrador multicanal DPU.

Espectrofotómetro para la medida de absorción de la radiación UV-Visible por las placas Petri y el vidrio posteriormente utilizado.

Estación metereológica (DILUS) con sensores de medida de la temperatura ambiental (THIES) y radiación solar (Piranómetro, Kipp & Zonen, THIES).

#### MATERIAL

Lodo de depuradora autoclavado.

Metidation (99 %, pureza).

Metidation oxon o GS 13007 (99%, pureza).

5-Metoxi-3H-(1,3,4) tiazol-2-ona o GS 12956 (99%, pureza).

Papel de plata.

Placas Petri Pirex (9,7 cm d.i.).

Silicona transparente.

Suelo (< 0,63 mm), de la capa superficial (0-25 cm) y autoclavado.

TDTMA (Surfactante catiónico).

Placas de vidrio de 9,5 cm de diámetro.

### 2.2 Preparación de las muestras

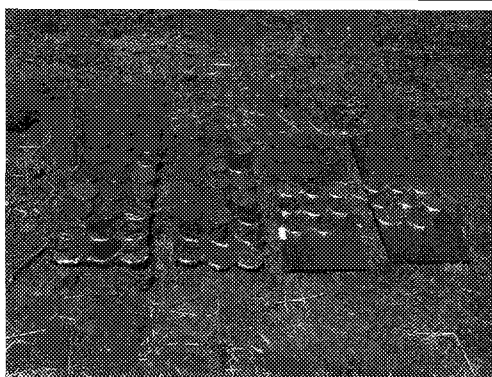
El estudio fotodegradativo del insecticida se llevó a cabo en finas capas de suelo húmedo sin enmendar (S) y enmendado, y en condiciones de luz y oscuridad. Los enmendantes utilizados fueron lodo de depuradora (SL), TDTMA (SS) y una mezcla de ambos (SLS). La enmienda con lodo se realizó por mezcla de éste con el suelo al 4%. La enmienda con el surfactante se realizó de forma conjunta con la del plaguicida, como se explicará posteriormente.



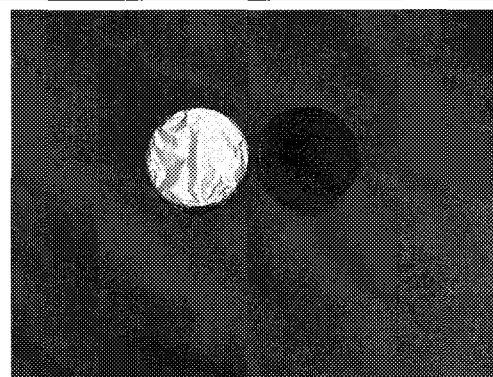
Las capas de suelo ( $\approx 1$  mm) se prepararon añadiendo 10 g de suelo (sin enmendar o enmendado con lodo) sobre una placa Petri, y distribuyéndolos de la forma más homogénea posible. Para formar una película de espesor uniforme se añadieron 10 mL de agua MilliQ sobre cada una de las muestras, y se dejaron secar durante 48 h aproximadamente. De esta forma se logra una capa de suelo delgada y de espesor uniforme.

Una vez seca, se añadieron 3 mL de una solución de metidation a  $33,3 \text{ mg L}^{-1}$  con un pipeta. De esta forma la concentración final en suelo fue 10 veces las dosis normalmente usada en campo ( $1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y el contenido de humedad del 100% CC. Para realizar la enmienda con el surfactante, se adiciona TDTMA a la solución acuosa que contenía el plaguicida hasta alcanzar una concentración de 10 cmc. Tras la adición del insecticida, las placas se taparon con un vidrio de diámetro ligeramente inferior al de las placas Petri, y se sellaron con silicona transparente para evitar la pérdida de humedad de las muestras durante su exposición a la luz solar. Una vez selladas, las placas Petri fueron expuestas al sol por la parte inferior de las mismas.

En total se prepararon 88 placas, de las cuales 8 (2 repeticiones por cada tipo de muestra) se extrajeron sin exponer a la radiación solar y se utilizaron como controles a tiempo cero. El resto (80 placas) se expusieron a la luz solar durante 21 días entre los meses de julio y agosto del 2000 (Figura V-1). De las 80 placas preparadas fueron cubiertas con papel de plata por completo, para mantenerlas en condiciones de oscuridad (Figura V-2). A intervalos de tiempo previamente fijados, las placas de suelo se retiraban, se desmontaban y se extraía el suelo de su interior en su totalidad.



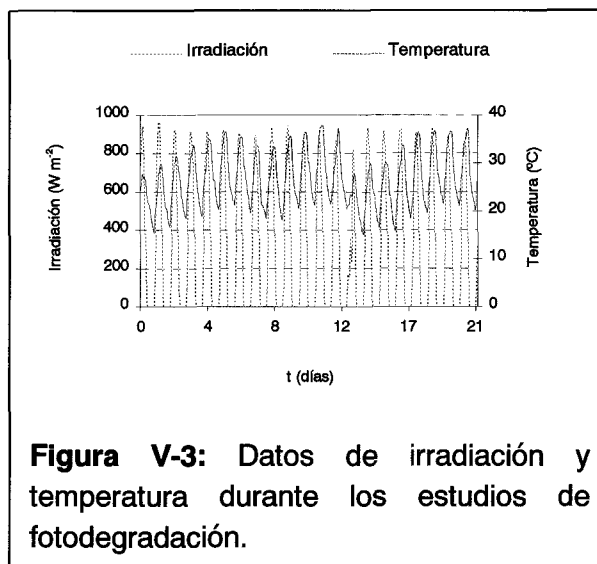
**Figura V-1:** Montaje del experimento de fotodegradación en condiciones ambientales.



**Figura V-2:** Detalle de las muestras de suelo expuestas a la radiación en condiciones de oscuridad (izquierda) y luz (derecha).

De forma simultánea se midieron la temperatura y la intensidad de la radiación durante el periodo en el que se realizó el estudio de fotodegradación (Julio-Agosto 2000) (Figura V-3).

En este periodo, las temperaturas medias en el aire oscilaron entre un valor máximo de 38 °C y un mínimo de 15 °C. Los valores de radiación se encontraron entre 0 y 970 W m<sup>-2</sup>.



Estas fluctuaciones de la temperatura del aire tendrán lugar también en la superficie del suelo expuesta a la radiación. Hay que considerar que la temperatura en el suelo será más alta que la del aire debido a la absorción de la luz solar (Smith y col., 1978).

### 2.3 Análisis de las muestras

Las muestras de suelo se extrajeron en Soxhlet con 75 ml de Acetona durante 6h, por el procedimiento descrito en el apartado II-3.3.

A partir del día 10 y debido a que la concentración era muy baja, el sobrenadante se trasvasó y se concentró en corriente de N<sub>2</sub> hasta sequedad. En este caso las muestras se redisolvieron en 200 µL de hexano, a los que se añadieron 5 µL de P.I. a 5 mg L<sup>-1</sup>.

Cada uno de los extractos fue analizado por duplicado mediante CG, y se conservaron a - 80 °C hasta su análisis por CG-MS.

### 2.4 Determinación de los productos por CG-MS

La determinación del analito en estudio junto con algunos de los posibles fotoproductos se llevó a cabo por CG-MS, en un CG-Varian Star 3400 CX, equipado con un inyector automático, y conectado a un espectrómetro de masas (Varian Saturn 3) con trampa de iones.

Se utilizó una columna DB-SMS (5% de fenil, metil silicona, J & W Scientific) de 30 m de longitud, 0,25 mm de d.i. y 0,25 µm de grosor. Las temperaturas del inyector, de la línea de transferencia y del detector colector fueron de 250, 250 y 200 °C respectivamente. El helio fue usado como gas portador a un flujo de 1 mL min<sup>-1</sup>.

El programa de temperatura empleado fue el siguiente: temperatura inicial del horno 45 °C (1 min), calentamiento hasta 250 °C a 20 °C min<sup>-1</sup>, donde se mantuvo durante 4 min.

Cada 600 ms, y transcurridos 5 min desde la inyección, se recogía un espectro en modo de impacto electrónico en el rango de m/z comprendido entre 60 y 340.

Con estas condiciones de inyección los tiempos de retención fueron: 7,31 min (GS 12956), 12,63 min (metidation oxón), 12,66 min (bromofos) y 13,36 min (metidation).

## 2.5 Obtención de los espectros de adsorción UV-visible de metidation y TDTMA

Se obtuvieron los espectros de absorción del insecticida en estudio y del surfactante en un rango de longitudes de onda que abarcaba la región del espectro de la luz UV-Visible (200-450 nm).

Para ello, se inyectaron soluciones acuosas de ambos compuestos en un CL Hewlett-Packard 1090, equipado con un detector de dedos en cadena. Se utilizó una columna SymmetryShield<sup>TM</sup> (Waters), con unas dimensiones de 150 x 2,1 mm, con una fase reversa RP<sub>8</sub> de 5 µm. La fase móvil empleada fue H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M (pH = 2,5)/ CH<sub>3</sub>CN ----M (30/70), a un flujo de 0,2 ml min<sup>-1</sup>. La temperatura del horno fue de 40 °C, y el volumen de muestra inyectado 0,1 µL. En estas condiciones los tiempos de retención de TDTMA y metidation fueron de 1,3 y 1,8 min, respectivamente.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Efecto de los enmendantes

La fotólisis es el proceso por el cual la radiación ultravioleta o visible (290-450 nm, Grosby, 1970) produce transformaciones en los compuestos químicos (Wolfe y col., 1990). Puede ser directa o indirecta, según sea producida por la absorción de la radiación solar por el compuesto o por otros compuestos que absorban la radiación y sean capaces de transformarse e inducir reacciones de tipo fotodegradativo. Para la fotólisis directa es necesario que el compuesto absorba radiación por encima de los 290 nm (Wolfe y col., 1990), longitud de onda en la que comienza el espectro de la luz visible.

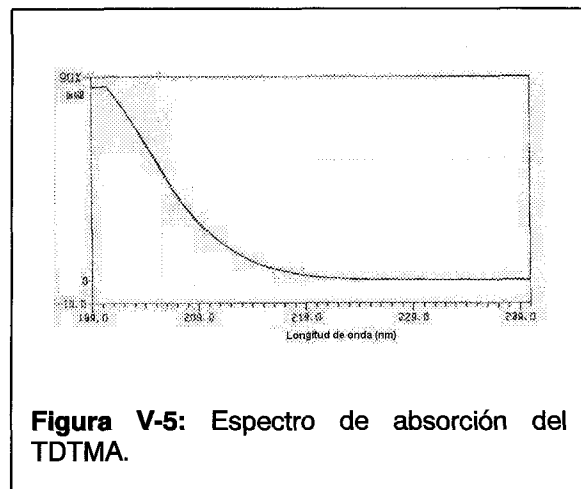
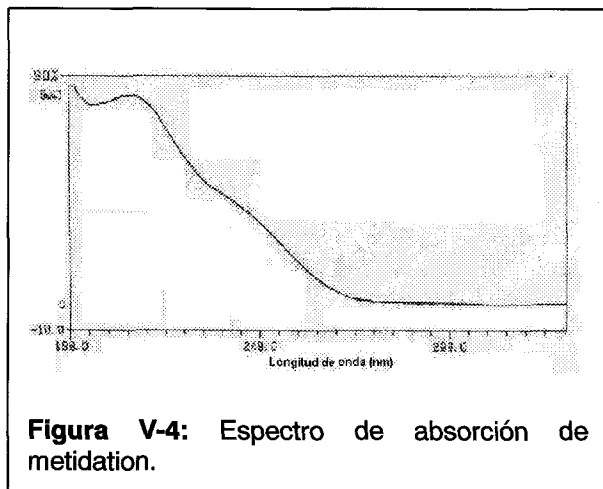
Los procesos directos o indirectos también dependerán de la profundidad que se considere. Para los primeros, algunos autores los han restringido a los primeros 0,2-0,3 mm superficiales (Hebert y Miller, 1990), mientras que los procesos indirectos pueden ocurrir en los primeros 0,7 mm del suelo en estudios con luz natural (Zafiriou y col., 1984; Takahashi y col., 1985b; Zepp y col., 1985; Jensen-Korte y col., 1987; Lartigues y Garrigues, 1995; Vaughan y Blough, 1998). Esto es debido a que las especies reactivas que se forman pueden moverse mediante procesos de tipo difusivo hasta 1 mm, dependiendo de la humedad y porosidad del suelo, y debido a los gradientes térmicos en

superficie, presentes en los estudios llevados a cabo con luz natural (Kostantinou y col., 2001). Finalmente, ciertas especies inorgánicas (arcillas,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y  $\text{MnO}_2$ ), pueden actuar como catalizadores y acelerar las reacciones en las que intervienen las especies excitadas (Katagi, 1990; Kostantinou y col., 2001).

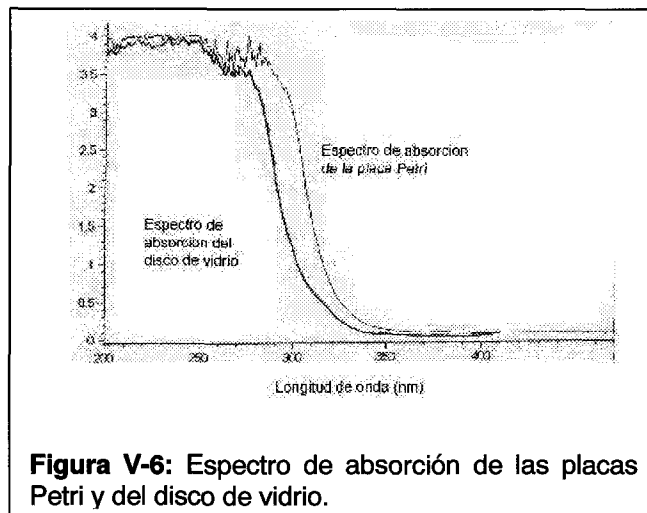
La absorción de la luz y la fotólisis de contaminantes orgánicos se verá influenciada también por la adsorción, el contenido en m.o. del suelo y la formación de oxígeno singlete (Kostantinou y col., 2001) y la humedad del suelo (Getzin, 1970; Burkhard y Guth, 1979; Romero y col., 1998).

Teniendo en cuenta que la fotólisis ocurre en una delgada capa de la parte superficial del suelo, se ha estudiado la degradación de metidation en láminas finas de suelo de la capa arable autoclavado, sin enmedar (S) y enmendado con lodo (SL), con TDTMA (SS) y con una mezcla de ambos enmendantes (SLS), en condiciones ambientales.

Los espectros de absorción para metidation y el surfactante catiónico se muestran en la Figura V-4 y V-5. En ambos casos existe absorción por debajo de los 290 nm, en la zona del UV.



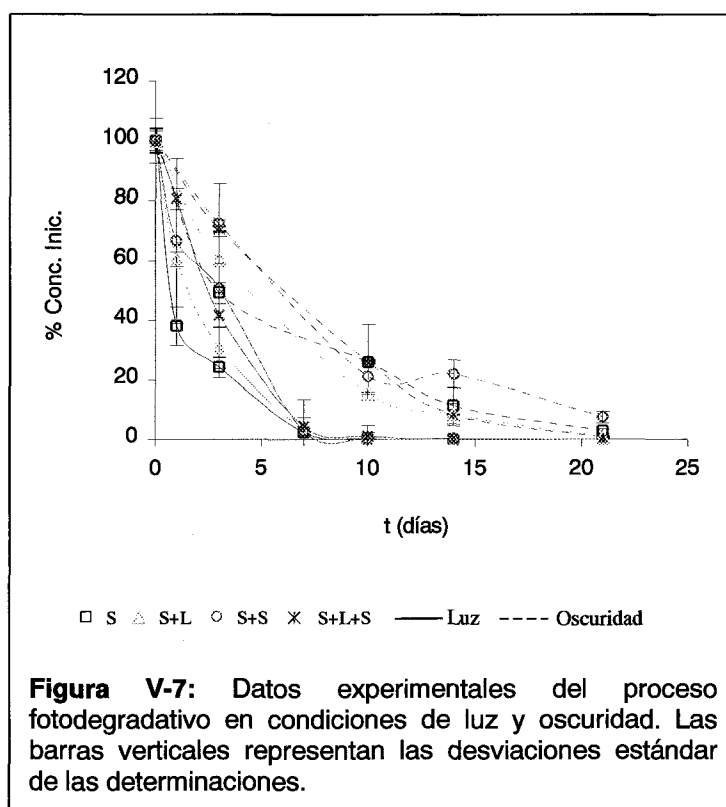
Las medidas realizadas tanto en las placas Petri como en disco de vidrio empleado que se sitúa en la cara inferior a la expuesta, muestran que el material empleado absorbe en la zona del UV (Figura V-6), por lo que los procesos degradativos de tipo directo debidos a esta radiación se verán atenuados por la absorción de la radiación por el material.



**Figura V-6:** Espectro de absorción de las placas Petri y del disco de vidrio.

Como se puede observar, ninguno de los dos compuestos (metidation y TDTMA) absorbe por encima de los 290 nm, lo que indicaría que no sufrirían procesos fotodegradativos de tipo directo. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en algunas ocasiones el espectro de absorción de la especie adsorbida es muy distinto del que se obtiene de la sustancia en solución (Kostantinou y col., 2001). Además, la adsorción de un compuesto a determinados materiales como las arcillas aumenta la superposición del espectro de adsorción del compuesto con el de la luz visible, y por tanto la fotólisis puede ser mayor de la esperada (Katagi, 1990). Estos hechos estarían de acuerdo con los resultados obtenidos en nuestros ensayos.

En la Figura V-7 se muestran los datos experimentales de fotodegradación de metidation por irradiación con luz natural, y en oscuridad.



**Figura V-7:** Datos experimentales del proceso fotodegradativo en condiciones de luz y oscuridad. Las barras verticales representan las desviaciones estándar de las determinaciones.

La degradación de metidation es en ambos casos rápida, y mayor en las muestras expuestas a la luz. Las diferencias entre las muestras expuestas a la luz y las mantenidas en oscuridad se pueden atribuir a procesos exclusivamente de tipo fotodegradativo, ya que tanto el suelo como el lodo utilizado se encontraban autoclavados. La fotodegradación de metidation en suelo (Smith y col., 1978; Burkhard y Guth, 1979) y de la molécula en sí (Dejonkheere y Kips, 1974) ha sido observada por otros autores.

La rápida degradación en las muestras de suelo mantenidas en condiciones de oscuridad se puede atribuir a las elevadas temperaturas en las que se llevó a cabo el ensayo, que pueden favorecer el proceso fotodegradativo y otros procesos, como la hidrólisis del compuesto en el suelo (Buskhard y Guth, 1979 ;Wolfe y col., 1990).

Las diferencias en la fotodegradación de metidation en las muestras de suelo enmendado (SL, SS, SLS) o sin enmendar (S), tanto en condiciones de luz como de oscuridad, son en general pequeñas si se tiene en cuenta las altas variaciones que se obtuvieron en las determinaciones. Tanto en las muestras expuestas a la luz como las mantenidas en condiciones de oscuridad la degradación parece seguir el siguiente orden S>SL>SLS>SS.

Estas pequeñas diferencias pueden atribuirse a fenómenos de tipo adsorptivo (Romero y col., 1998) y a la presencia de los enmendantes. En la Tabla ----- se expone el porcentaje de C.O. que se aporta al suelo cuando se añaden los enmendantes, y se relaciona datos experimentales de los estudios de adsorción con cantidades similares de los enmendantes.

**Tabla V-1:** Comparación del aporte de C.O. que produce la adición de los enmendantes en los estudios de fotodegradación y en los ensayos de adsorción.

Fotodegradación			Ensayos de adsorción			
	%C.O.			%C.O.		Kf / %Ads
	Lodo	TDMA		Lodo	TDMA	
<b>S</b>	-	-	<b>S</b>	-	-	2,7 / 29 ± 3
<b>SL (4%L)</b>	9,2 X10 <sup>-1</sup>	-	<b>SL (4%L)</b>	9,2 x10 <sup>-1</sup>	-	4,1 / 45 ± 3
<b>SS (0.3 mg g<sup>-1</sup>)</b>	-	1,8 x 10 <sup>-2</sup>	<b>SS (1 cmc)</b>	-	2,4 x 10 <sup>-2</sup>	2,6 / 33 ± 3
<b>SLS (4%L + 0.3 mg g<sup>-1</sup>)</b>	9,2 X10 <sup>-1</sup>	1,8 x 10 <sup>-2</sup>		-	-	-

Teniendo en cuenta estos resultados, la mayor adsorción del plaguicida se produciría en las muestras de suelo enmendadas con lodo, seguida de la enmienda con surfactante, y la menor adsorción se produciría en suelo sin enmendar.

Según los resultados obtenidos en las isotermas de adsorción, en la muestra de suelo sin enmendar se produciría la menor adsorción del plaguicida, y por tanto existiría una mayor la fracción de moléculas sin adsorber susceptibles de ser fotodegradada en el suelo.

La enmienda con el surfactante catiónico puede aumentar la adsorción del insectida al suelo y por tanto disminuir su fotodegradación. En otros estudios de tipo fotodegradativo

se ha visto que la presencia de surfactantes (aniónicos y no iónicos) puede influir en el proceso, especialmente cuando la concentración de éstos es superior a la cmc y se encuentran formando micelas (Chu y Jafvert, 1994). Larson y col. (2000), estudian la degradación de varios compuestos nitrogenados en presencia de tres tipos de surfactantes (aniónicos, catiónicos y no iónicos) y en solución acuosa. En este estudio es el surfactante de tipo catiónico cetil trimetil amonio bromuro (CTAB), el que aumenta la degradación de los compuestos nitrogenados. Aunque en nuestro caso los resultados obtenidos apuntan hacia un papel totalmente distinto del surfactante, que reduciría la fotodegradación del insecticida, este hecho se podría relacionar con un aumento en el plaguicida adsorbido que daría lugar a una fotodegradación menor del compuesto.

La presencia de lodo, puede producir un efecto antagónico, ya que al mismo tiempo que aumentaría la adsorción del insecticida, puede actuar como fotosensibilizador (Takahashi y col., 1985b; Zepp, 1998; Konstantinou y col., 2001) y aumentar la degradación del compuesto no adsorbido. Este hecho explicaría que la degradación en suelo enmendado con lodo la degradación sea menor que en suelo enmendado con TDTMA, a pesar de producir una mayor adsorción del insecticida. En el caso de la muestra de suelo enmendada con lodo y TDTMA, aunque no tenemos datos experimentales en las mismas condiciones, parece producirse un efecto similar que el explicado anteriormente: un ligero aumento de la adsorción del insecticida y una degradación menor que en el suelo sin enmendar por la presencia de lodo.

Sin embargo, las escasas diferencias en los resultados obtenidos y la alta variabilidad de los mismos, impiden extraer una conclusión clara. Los resultados encontrados por otros autores, parecen confirmar las escasas diferencias en el proceso degradativo que supone la adición de los enmendantes por cambios en la adsorción del insecticida. Burkhard y Guth (1979) en el estudio de la fotodegradación de metidation en suelos húmedos concluyen que la hidrólisis es el principal proceso degradativo, y que se ve retardada ligeramente por fenómenos de tipo adsorptivo. Smith y col. (1978) no encuentran una relación entre el contenido en C.O. del suelo y la fotodegradación de metidation en seis tipos distintos de suelo.

En la Tabla V-2 se muestran los resultados del ajuste de los datos al modelo exponencial del primer orden. Se eligió este modelo porque los resultados experimentales no parecen seguir el perfil de un modelo bifásico, y en los ensayos de incubación se obtuvo un buen ajuste con este modelo en los suelos esterilizados. En general, los parámetros del ajuste son muy similares en todos los casos, lo que apoyaría la hipótesis del poco efecto de los enmendantes.

Tabla V-2: Ajuste de los datos experimentales al modelo lineal

Modelo	S	SS	SL	SLS	
	LUZ				
	$t_{1/2}$ (días)	1,7	1,6	1,8	1,8
	$k \times 10^1$ (días <sup>-1</sup> )	3,9 ± 0,3	4,3 ± 0,3	3,8 ± 0,3	3,9 ± 0,3
	$R^2$	0,8869	0,8611	0,8960	0,8898
	OSCURIDAD				
	$t_{1/2}$ (días)	4,1	5,8	2,6	3,0
	$k \times 10^1$ (días <sup>-1</sup> )	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,3 ± 0,1
	$R^2$	0,9244	0,9401	0,8531	0,9532

$$C = C_0 * e^{-kt}$$

Los valores de los parámetros para las muestras mantenidas en condiciones de oscuridad, se pueden comparar con los que se obtuvieron en los ensayos de incubación en la muestra de suelo estéril ( $k = 0.054$  y  $t_{1/2} = 12,8$  días). Se observa como el proceso fotodegradativo es mucho más rápido (entre tres y cuatro veces mayor), y los  $t_{1/2}$  son menores en todos los casos. Este hecho confirma el efecto de la temperatura en el proceso, aumentando la degradación del compuesto.

### 3.2 Identificación de los fotoproductos

Estudios de fotodegradación utilizando luz natural (Smith y col., 1978; Mikami y col., 1984) o luz artificial (Burkhard y Guth, 1979; Allmaier y Schmid, 1985) han revelado que los plaguicidas OPs se degradan principalmente mediante procesos de fotólisis dando lugar a la ruptura del éster y/ o a la oxidación del enlace P=S (Goodman, 1988; Atkinson, 1989; Katagi, 1990). La oxidación de metidation, conduce a la formación de metidation oxón o GS 13007, y este compuesto ha sido identificado en el estudio de la degradación de metidation en capas de suelo seco (Smith y col., 1978).

En los ensayos realizados por Burkhard y Guth (1979) con metidation, encuentran que la fotodegradación en suelo de este insecticida es igual en suelo húmedos que en suelos secos, siendo el 5-metoxi-3H-(1,3,4)-tiazol-2-ona (GS 12956) el principal producto formado. Éste es también el principal producto formado en los estudios de fotodegradación de soluciones acuosas. Dejonkheere y Kips (1974), demuestran en su trabajo que GS 13007 y GS 12956, se encuentran entre los productos de degradación de metidation.

Estos resultados nos llevaron a intentar identificar en las muestras de suelo extraídas los compuestos GS 12956 y metidation oxon como posibles fotoproductos. Metidation oxon como posible primer fotoproducto tras la oxidación de metidation, y GS 12956 como producto final del proceso fotodegradativo.

Bajo las condiciones analíticas descritas anteriormente se lograron separar los cuatro productos (metidation, metidation oxon, GS 12956 y bromofos, utilizado como P.I.) de una



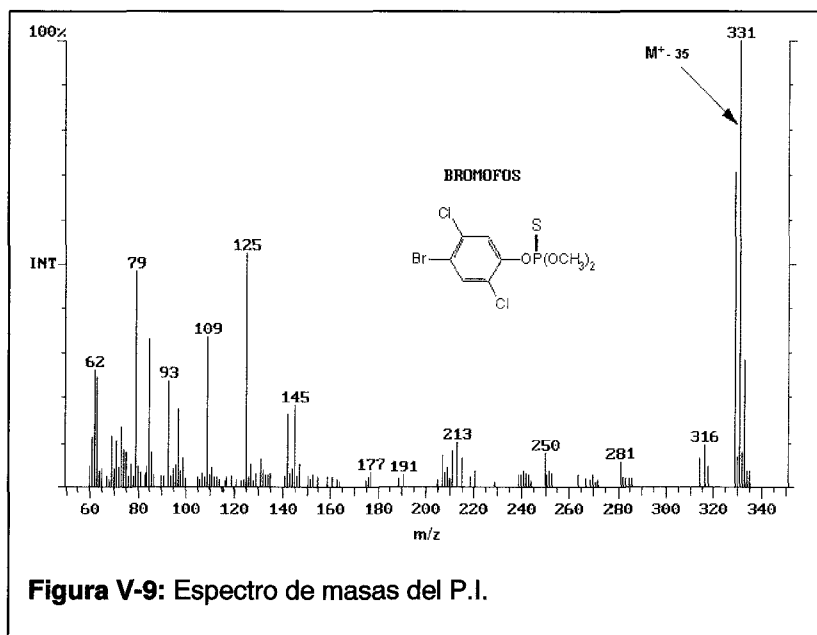
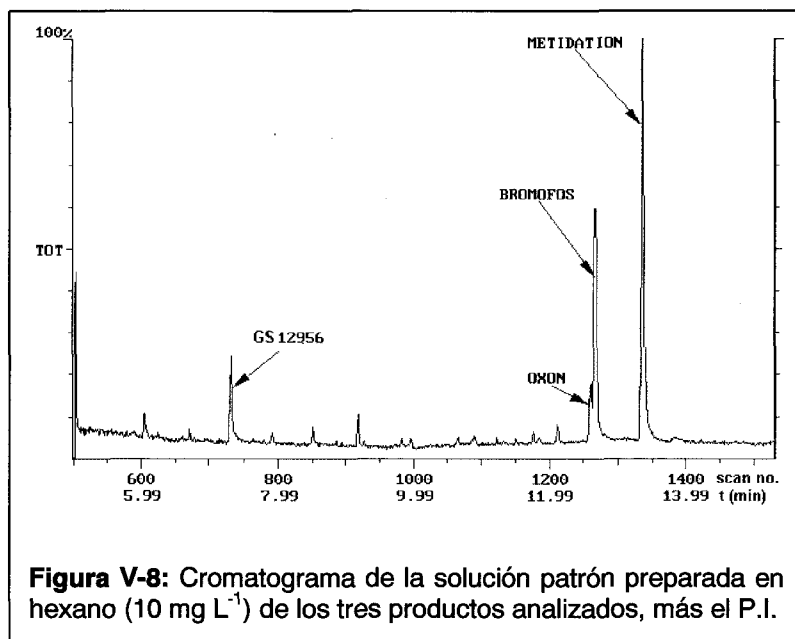
solución patrón a  $10 \text{ mg L}^{-1}$  en cada uno de los compuestos y preparada en hexano (Figura V-8). Tras la obtención de los espectros individuales de cada uno de los productos con soluciones patrón preparadas en hexano ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Figuras V-9, 10, 11 y 12), se identificaron los productos usando el fragmento más significativo en cada caso:  $m/z = 145$  para metidation y metidation oxon, 132 para GS 12956 y 331 para bromofos, respectivamente (Figura V-13).

Para la confirmación de la eficacia del método analítico utilizado en la extracción de los productos anteriormente mencionados, se extrajeron dos muestras de suelo adicionadas con metidation ( $10 \mu\text{g g}^{-1}$ ), GS 13007 y GS 12956. Una de las muestras de suelo además fue enmendada con lodo, para comprobar su efecto en la identificación de los compuestos. Como el método de extracción con acetona de suelo húmedo precisa de la posterior extracción del concentrado con el método de extracción por Mw de soluciones acuosas concentradas, también se comprobó la eficacia de este método en la extracción de una solución acuosa ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ) que contenía los tres productos. Los cromatogramas (Figuras V-14 y 15), muestran que en ambos casos nuestro método es capaz de extraer los tres productos, aunque en el caso de metidation oxón la sensibilidad del método es muy pequeña. Burkhard y Guth (1979) utilizan también acetona en la extracción de suelo para la identificación de fotoproductos de metidation.

Una vez confirmada la validez del procedimiento analítico, los extractos de suelo fueron analizados por GC-MS. En todas las muestras se identificó la presencia de metidation ( $m/z = 145$ ,  $t_R = 13,36 \text{ min}$ ), pero en ningún caso se encontraron los fotoproductos GS 13007 o GS 12956. En las Figuras V-16, 17, 18 y 19 se muestran los cromatogramas de dos muestras de suelo (S y SS), extraídas a intervalos de tiempo distintos desde el comienzo de la experiencia. Se observa que la cantidad de metidation en la muestra de suelo sin enmendar (S) es menor que en la muestra de suelo enmendada con el surfactante (SS), a los 7 días, pero en ningún caso se confirmó la presencia de los productos anteriormente mencionados.

Smith y col. (1978), detectan la presencia de metidation oxon en la degradación de metidation en suelo seco irradiado con luz solar, pero en este caso la cantidad de metidation adicionada al suelo usada fue 70 veces superior a la empleada en nuestro estudio ( $700 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y las experiencias se realizaron en presencia de ozono.

Sin embargo Burkhard y Guth (1979), si detectaron la presencia de GS 12956 aplicando metidation al suelo en una concentración idéntica a la empleada en este ensayo ( $10 \mu\text{g g}^{-1}$ ), y en similares condiciones, ya que utilizaron una lámpara de xenon (espectro parecido al de la luz solar), y un dispositivo que eliminaba la incidencia de radiación UV sobre la muestra.



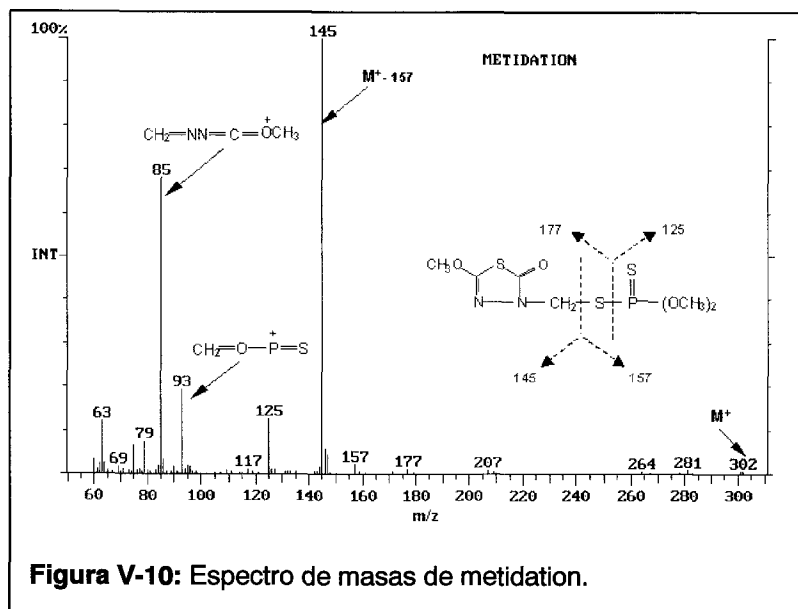


Figura V-10: Espectro de masas de metidation.

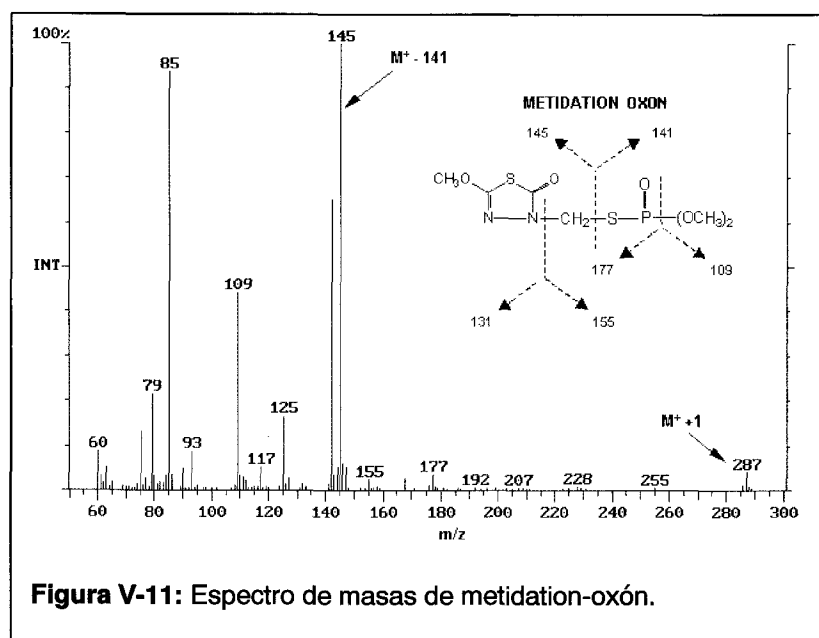
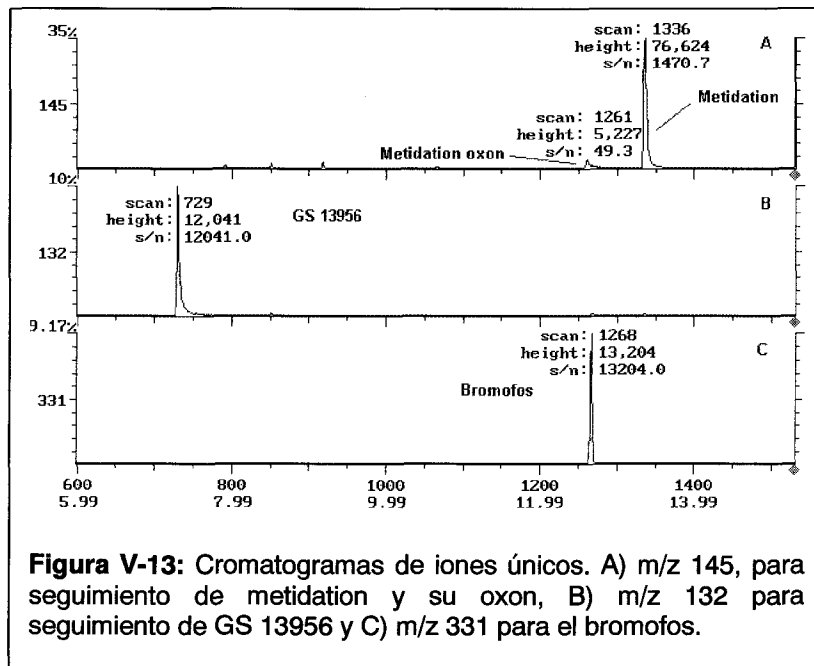
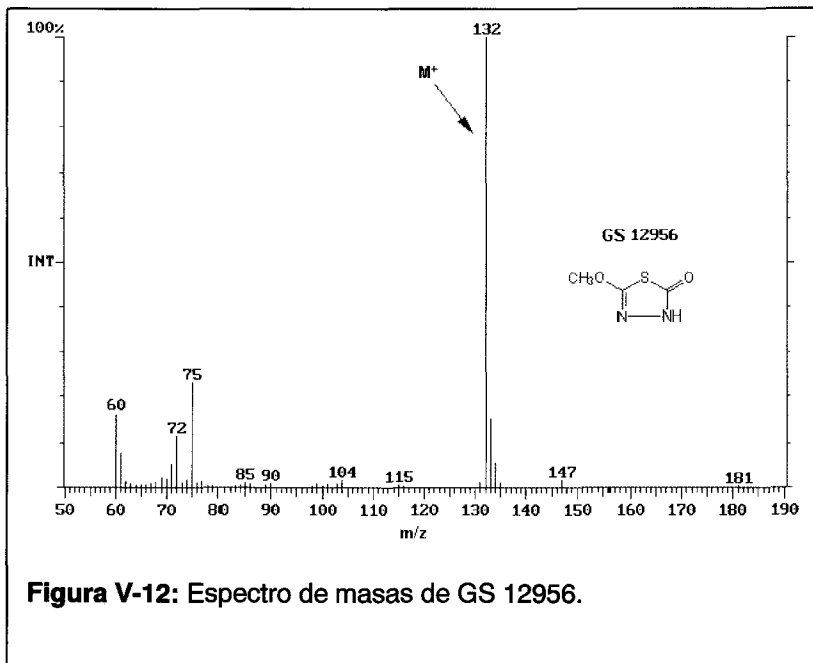
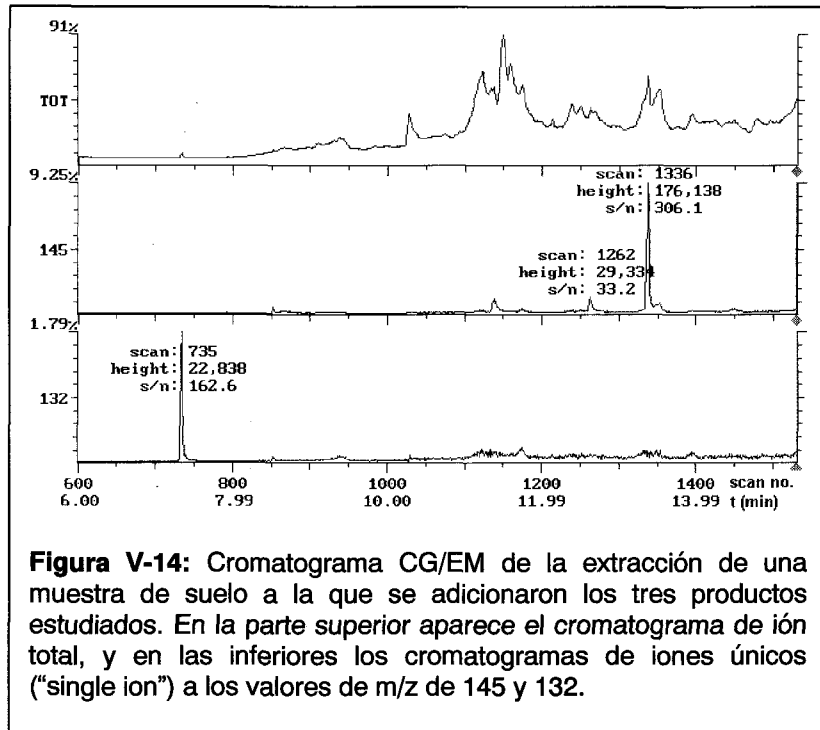
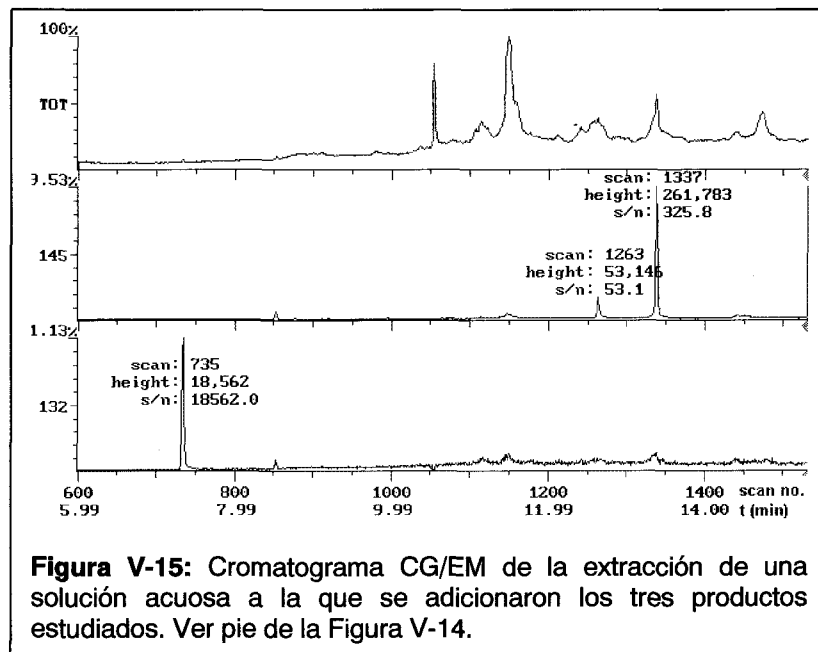


Figura V-11: Espectro de masas de metidation-oxón.

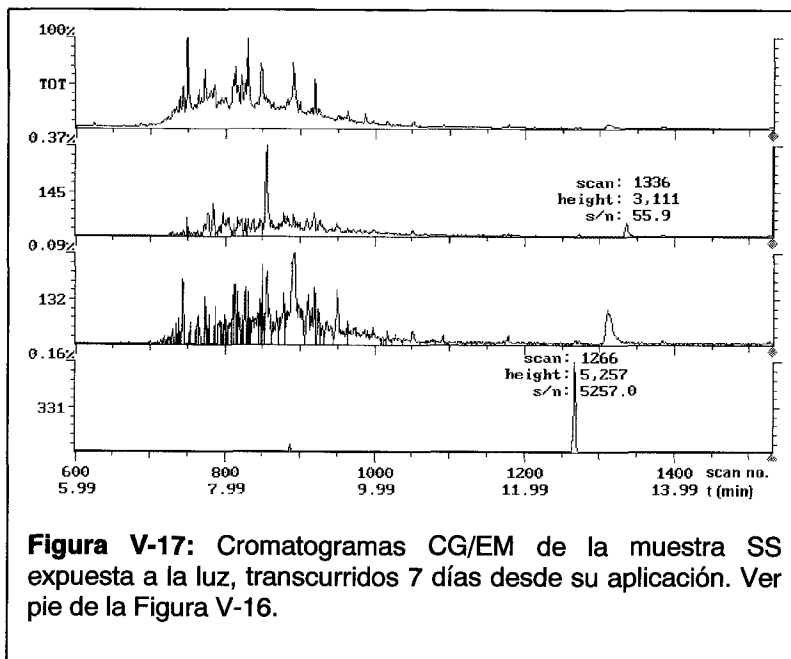
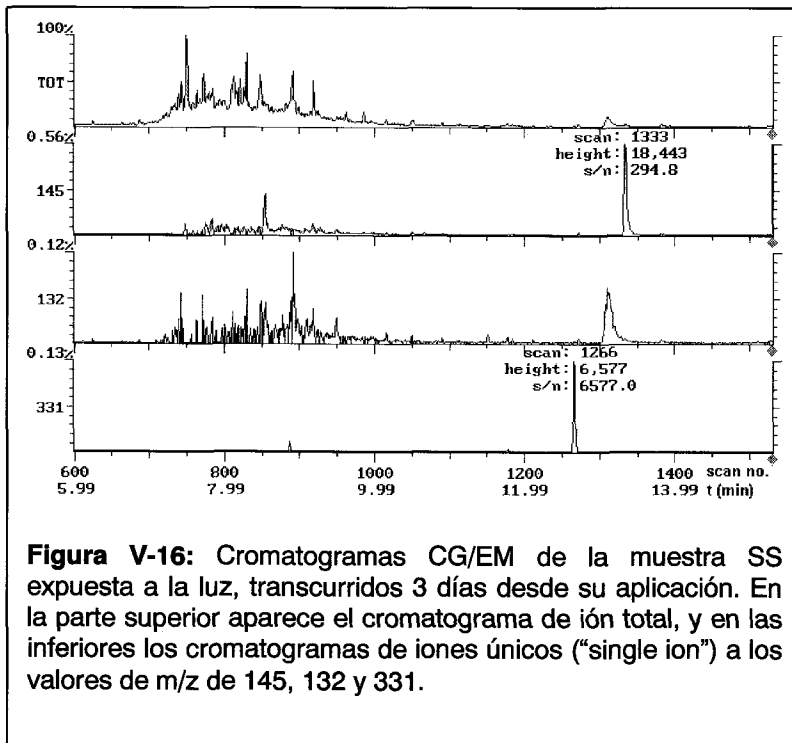


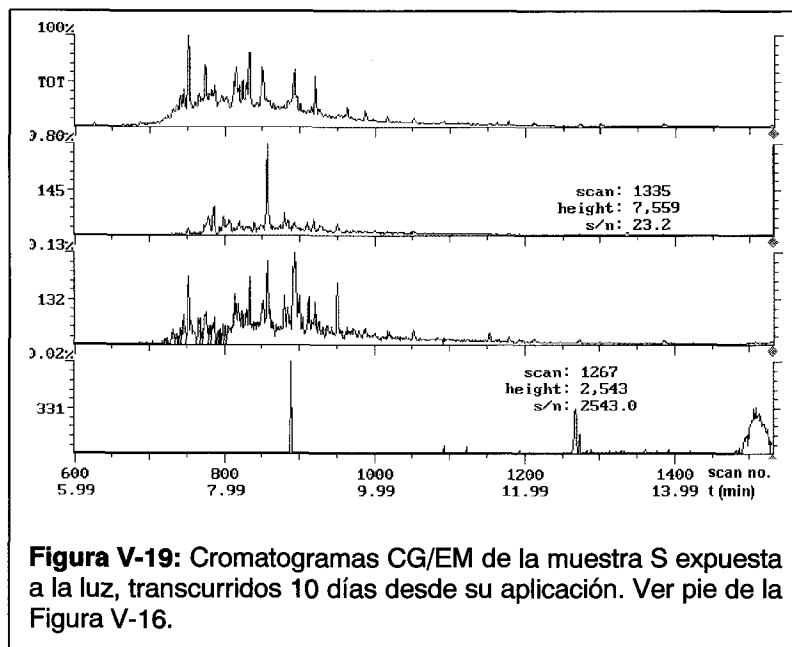
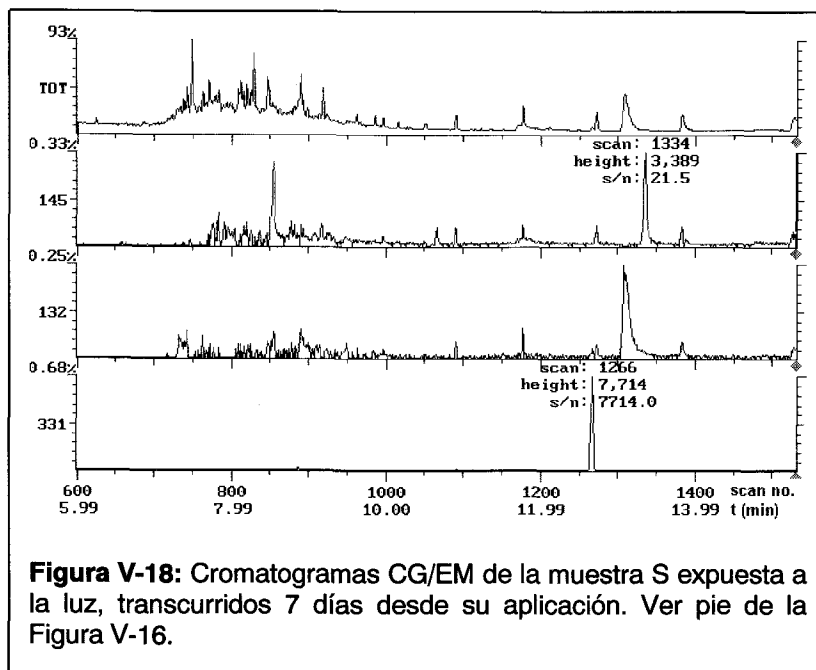


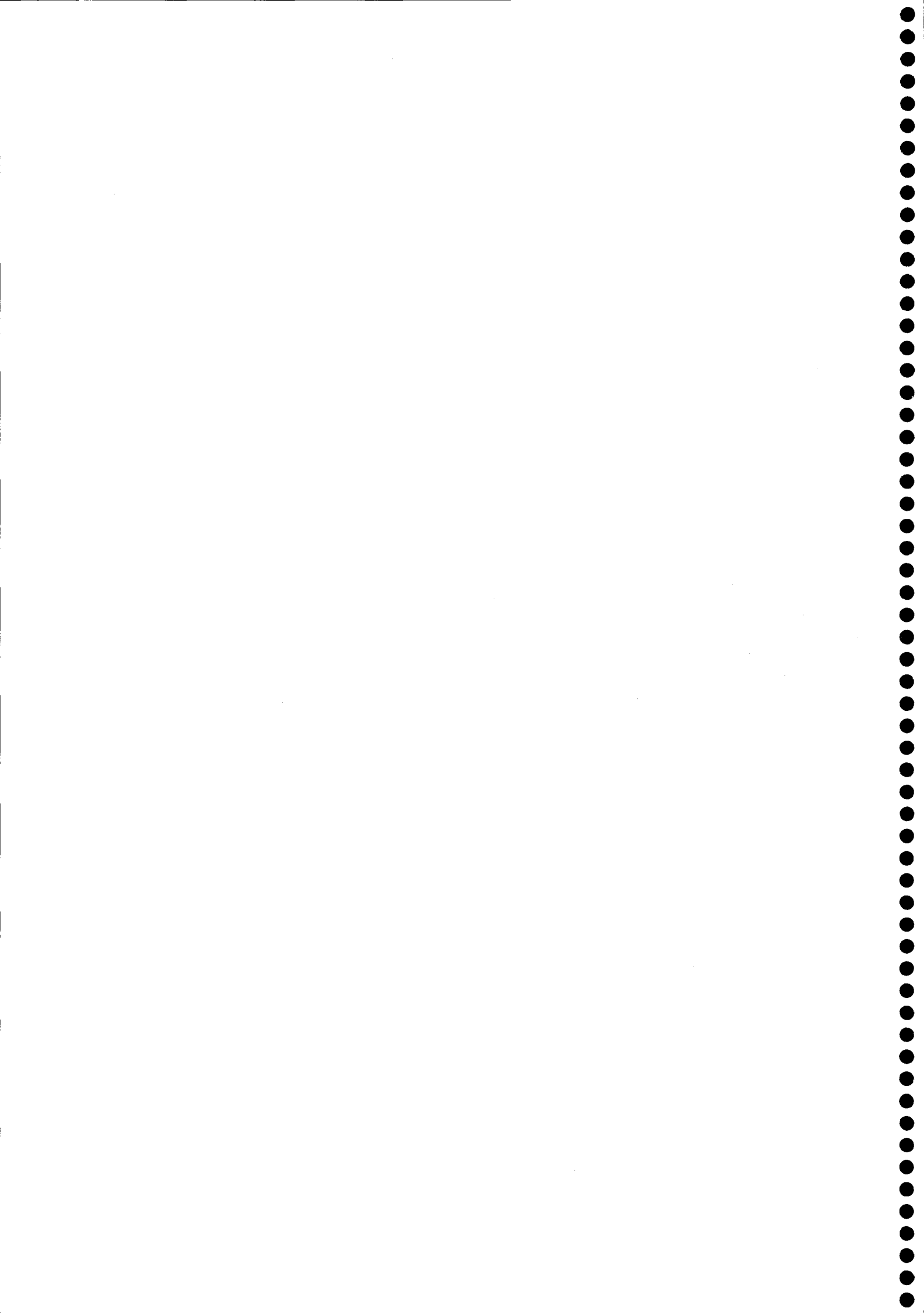
**Figura V-14:** Cromatograma CG/EM de la extracción de una muestra de suelo a la que se adicionaron los tres productos estudiados. En la parte superior aparece el cromatograma de ión total, y en las inferiores los cromatogramas de iones únicos ("single ion") a los valores de m/z de 145 y 132.



**Figura V-15:** Cromatograma CG/EM de la extracción de una solución acuosa a la que se adicionaron los tres productos estudiados. Ver pie de la Figura V-14.





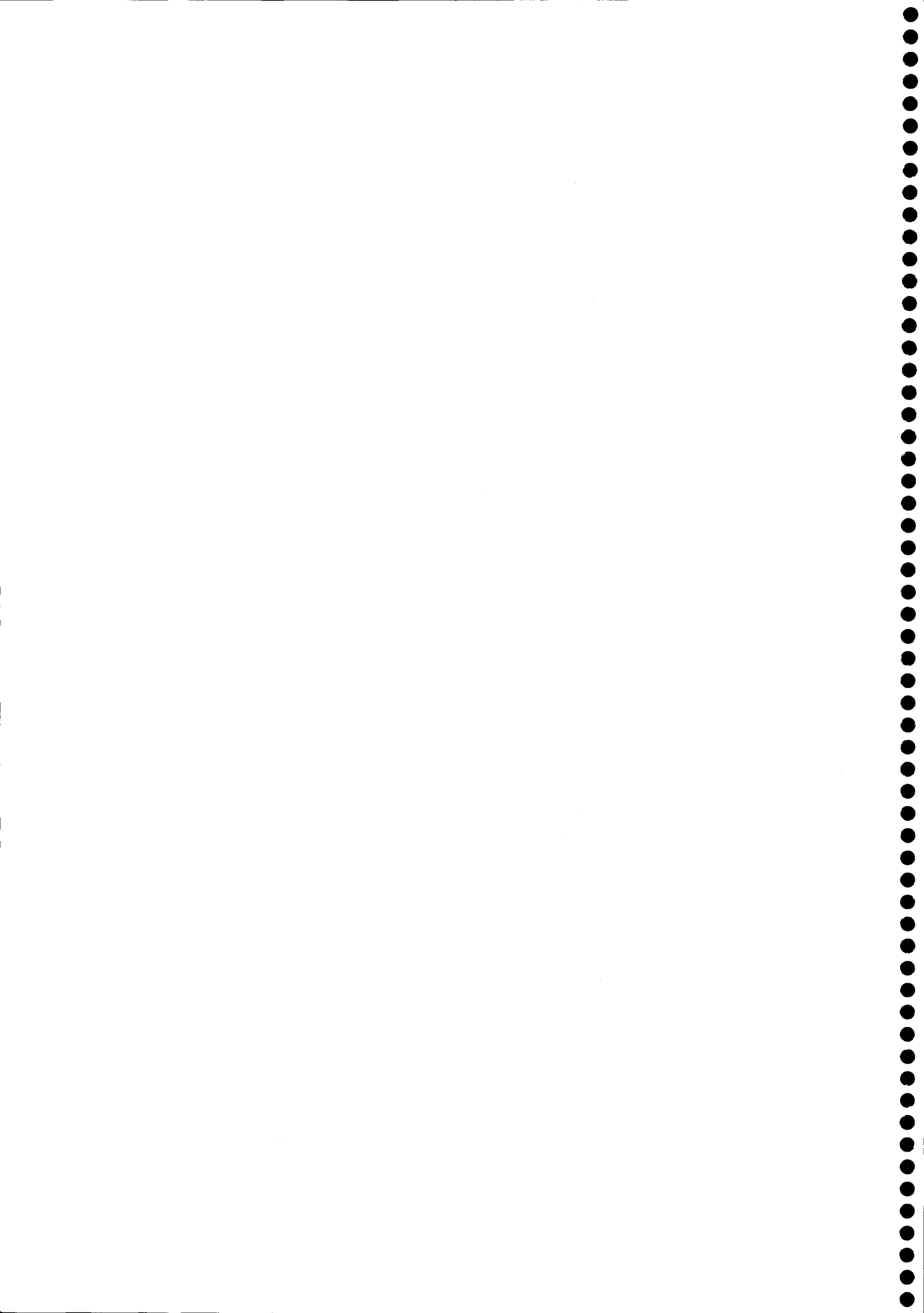






# **Capítulo VI:**

## **Lixiviación**



# 1 Introducción

Dado que actualmente no existe el plaguicida ideal, es necesario conocer los parámetros que rigen la dinámica de un plaguicida en el suelo, con el fin de evitar la contaminación de suelos y aguas. De la movilidad de un plaguicida en el suelo dependerá la posterior contaminación de las aguas subterráneas, y ésta está inversamente relacionada con su coeficiente de adsorción (Liu y col., 1995). En los estudios de movilidad es frecuente el uso de columnas del suelo intacto (Locke y col., 1994; Matocha y Hossner, 1999) o empaquetadas (Smith y col., 1992; Sánchez-Camazano y col., 1997; Socías-Viciano y col., 1999).

La utilización de un tipo u otro de columnas presenta una serie de ventajas e inconvenientes. Los estudios en columnas empaquetadas son útiles para caracterizar la fracción del compuesto que se mueve principalmente a través de la matriz del suelo, son fáciles de preparar, homogéneas, reproducibles y poco costosas (Kookana y col., 1992). Teóricamente se postula que los plaguicidas pueden quedarse atrapados en los microporos del suelo, y de esta forma se protege el plaguicida de fenómenos tales como lixiviación y degradación microbiológica. En los estudios de laboratorio con columnas empaquetadas estos fenómenos se suprimirían (Honeycutt y Schabacker, 1994). Uno de los principales desventajas del uso de estas columnas es que no se mantienen intactas las características del suelo en condiciones naturales (Locke y col., 1994) y que no describen los fenómenos de flujo preferencial que tienen lugar en condiciones de campo (Li y Ghodrati, 1994).

En nuestro ensayos se han empleado columnas de suelo empaquetadas, ya que el motivo era estudiar las modificaciones en el transporte de metidation que se pudieran producir por la introducción de una enmienda con lodo, con el surfactante catiónico TDTMA, o con una mezcla de ambos.

## 2 Material y métodos

### 2.1 Material empleado

El material empleado para los experimentos de lixiviación fue el siguiente:

Arena de cuarzo lavada (HCl 1 N) y cribada con tamices de 2, 0,63 y 0,2 mm.

Autoclave.

Bomba peristáltica.

Cilindro de metacrilato de 5,2 cm de diámetro interno (d.i.) y 15 cm de longitud.

Electrodo selectivo de Cl<sup>-</sup> (Crison modelo 15 213 3000), acoplado a un milivoltímetro.

Gasas de algodón.

Lodo de depuradora.

Simuladores de lluvia (gomas y agujas hipodérmicas).

Solución de CaCl<sub>2</sub>.



Solución de metidation en acetona.

Suelo (< 2 mm) de tres profundidades 0-25 cm, 50-75 cm y 100-110 cm.

TDTMA (Surfactante catiónico).

Timerosal.

## 2.2 Preparación de las columnas

La preparación de las columnas de suelo se realizó en todos los casos siguiendo el mismo procedimiento, con el fin de obtener un empaquetamiento lo más uniforme posible.

En el fondo del cilindro de metacrilato (provisto de un disco agujereado del mismo material para permitir el paso de la muestra acuosa) se colocó una gasa de algodón de 5,1 cm de diámetro y un filtro de arena, para permitir el paso de los lixiviados. El filtro de arena estaba constituido por una capa de 25 g de arena gruesa situada en el fondo, seguida de una capa de arena intermedia (19 g) y una de arena fina (11 g). A continuación se puso otra gasa y una capa de suelo de aproximadamente 140 g y 5 cm de altura. La colocación de cada una de las capas se realizó muy lentamente y con una leve compactación.

Finalmente, se colocaron otras dos gasas y una capa de arena gruesa (20 g, 1 cm), para mantener la integridad del suelo, reducir la evaporación y mejorar la distribución del agua y del plaguicida.

En total se prepararon 10 columnas: cinco con suelo de la capa arable, dos con suelo de capa intermedia, dos con suelo de la capa profunda y una con el material (arenas y gasas).

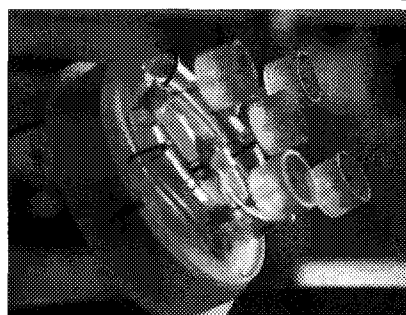
Con el suelo de la capa superficial se prepararon dos columnas sin enmendar, una de ellas con suelo tamizado únicamente (S), y la otra con el mismo esterilizado con timerosal (St). La esterilización se llevó a cabo sumergiendo la columna hasta saturación (aproximadamente 24 h) en una solución del bactericida al 2 %. Tres columnas de suelo de la capa arable fueron enmendadas, una de ellas con lodo (SL), otra con el surfactante catiónico TDTMA (SS) y la última con ambos enmendantes (SLS). La enmienda con lodo se llevó a cabo mezclando la mitad de la cantidad total de suelo (70 g) con el biosólido al 4 %, y colocándolo en la parte superior de la misma, imitando la forma de aplicación en las prácticas agrícolas y utilizando una dosis similar a la utilizada en las mismas (Bellin y col., 1990; Fresquez y col., 1990). Para la enmienda con el surfactante se sumergieron las columnas hasta saturación (72 h) en una solución (10 L) del mismo a 10 cmc. La enmienda conjunta se llevó a cabo realizando primero la enmienda con lodo de la forma anteriormente descrita, y a continuación sumergiendo la columna en la solución de TDTMA hasta saturación.

Las otras cuatro columnas fueron: dos con suelo de la capa intermedia (SI y SIa), una de ellas con suelo autoclavado (SIa), dos columnas con suelo de la capa profunda (SP y SPa), una de ellas con suelo autoclavado (SPa). Estas columnas se montaron posteriormente, tras observar una reducción en la recuperación al esterizar el suelo con timerosal.

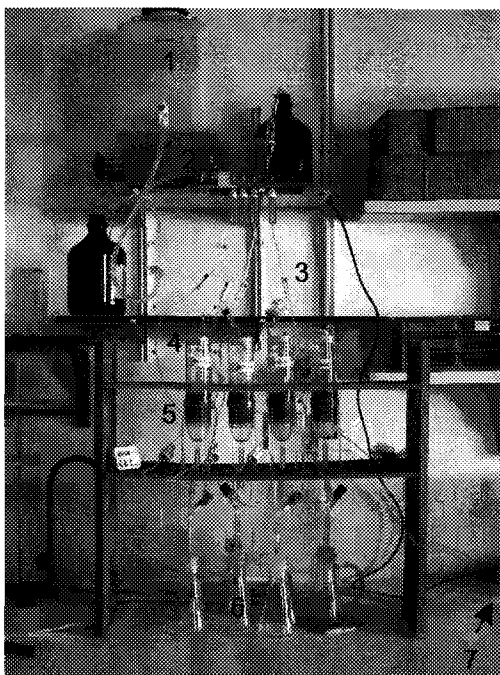
Por último, para comprobar que el material empleado no retenía al insecticida, se preparó una columna sin suelo (A), pero con el resto del material (arenas y gasas).

Una vez preparadas las columnas fueron introducidas en agua (excepto SS y SLS, que se sumergieron en la solución de surfactante), y saturadas por capilaridad durante 72 h, permitiéndose tras ese período un drenaje de las mismas para eliminar el exceso de solución acuosa. De este modo, también se consigue retirar el aire de las mismas.

La irrigación de las columnas se realizó con un simulador de lluvia (Figura VI-1) colocado a unos 5 cm por encima de la última capa de arena. El irrigador estaba constituido por cinco agujas hipodérmicas (0,33 x 12,7 mm), insertadas radialmente en un tubo de goma. De esta forma se consigue una lluvia artificial con gotas pequeñas, distribuidas de forma uniforme.



**Figura VI-1:** Simulador de lluvia.



**Figura VI-2:** Montaje de los experimentos de lixiviación. 1 depósito agua, 2 bomba peristáltica, 3 goteros, 4 simuladores de lluvia, 5 columnas, 6 matraces kitasatos, 7 tubo de conexión a la bomba de vacío.

Los simuladores de lluvia estaban conectados a una bomba peristáltica de flujo variable (Figura VI-2) que era alimentada con agua destilada desde un depósito colocado en la parte superior. La velocidad de irrigación se reguló con unos goteros, obteniéndose una velocidad de lixiviación de  $34 \pm 2 \text{ mL h}^{-1}$  (excepto en la columna de las arenas). La lluvia artificial se aplicó 8 h al día durante dos días. Para asegurar la recogida de los lixiviados e impedir que las columnas se encharcasen se les aplicó un vacío de 5 mm de Hg. Los lixiviados eran recogidos en matraces kitasatos conectados a las columnas.

## 2.3 Aplicación del insecticida y del trazador

La adición de metidation se realizó distribuyendo uniformemente con una pipeta graduada 2 mL de una solución del insecticida a  $1 \text{ g L}^{-1}$ , preparada en acetona, sobre cada una de las columnas. Esta aplicación corresponde a unas diez veces la dosis utilizada en campo ( $1 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

Para conocer el movimiento del agua a través de la columna, y el coeficiente de dispersión ( $D_{\text{dis}}$ ) se aplicaron de la forma más uniforme posible 2 mL de  $\text{CaCl}_2$  0,1 M, sobre cada una de las columnas. La concentración de  $\text{Cl}^-$  en los eluatos se determinó por valoración con  $\text{AgNO}_3$  0,1 M y electrodo selectivo de  $\text{Cl}^-$  acoplado a un milivoltímetro (Romero y col., 1996).

Finalmente, se añadieron 2 mL de agua para lavar la capa de arena y favorecer la incorporación al suelo del insecticida y el trazador. La aplicación de ambos se llevó a cabo aproximadamente 15 h antes de comenzar el experimento de lixiviación. Se pretendía por un lado conceder un tiempo para se evaporase la acetona, y por el otro, que el plaguicida se adsorbiese sobre el suelo.

## 2.4 Recogida y análisis de las muestras

Los lixiviados fueron recogidos a intervalos de tiempo de 20 minutos durante las tres primeras horas, para obtener las curvas de movilidad del trazador. Transcurrido este tiempo se recogieron las fracciones cada hora, 8 horas al día durante dos días, y se desmontaron el tercer día, excepto la columna A que fue desmontada el primer día. Esta última columna se desmontó, ya que al no existir retención del plaguicida en la misma se lixivió toda la cantidad aplicada en el primer día.

Tras dejar las columnas drenar durante un tiempo, el suelo fue desplazado de su interior, y dividido en dos partes (superior e inferior). De cada parte (previamente pesada) se extrajeron por duplicado muestras de 25 g. La humedad de las muestras fue determinada por desecación en estufa a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta pesada constante, encontrándose en todos los casos entre el 35–40 %. La extracción se realizó con una mezcla de HT (1:1), siguiendo el procedimiento empleado en el apartado 3.2 del Capítulo II. Los porcentajes de recuperación aplicados fueron distintos en cada caso, dependiendo de la matriz de la muestra extraída (Tabla II-18).

Los lixiviados se determinaron utilizando el método de extracción por Mw para soluciones acuosas concentradas descrito anteriormente (apartado II-3.2).

## 2.5 Ensayos de estabilidad y/o adsorción al material

Para comprobar que el metidation no se adsorbía sobre los materiales empleados en las columnas, se sumergieron 3 discos de malla de plástico (P), 6 de gasa de algodón (A) y 3 de metacrilato (M) del mismo material empleado en la fabricación de las columnas, en 50 mL de sendas soluciones acuosas preparadas a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . Las soluciones se introdujeron durante aproximadamente 12 h en la cámara termostaticada a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , junto

con una solución control (C). Transcurrido ese tiempo 1 mL de cada una de las muestras se extrajo por el método de extracción de soluciones acuosas concentradas (apartado II-3.2).

También se estudió la estabilidad de metidation en una solución acuosa preparada a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , y mantenida en las mismas condiciones en las que se prepararon las columnas de suelo (temperatura ambiente, tres días), en presencia de luz y en oscuridad.

## 2.6 Aplicación del modelo de lixiviación

El transporte de los solutos a través de las columnas de suelo se simula por aplicación del modelo PESCOL basado en el descrito por Boesten y van der Linden (1991) para estudios de lixiviación de herbicidas en campo (PESTLA). Su aplicación implica una serie de consideraciones tales como un desplazamiento unidireccional en vertical, un contenido en agua constante y un flujo uniforme, un equilibrio de desorción instantáneo y un marcador que no se adsorba ni se transforme.

Estas consideraciones se ajustan a nuestras condiciones experimentales, y por tanto el modelo es apropiado para explicar la lixiviación en las distintas condiciones experimentales estudiadas.

Los parámetros necesarios para su aplicación vienen dados por las constantes de adsorción ( $K_f$  y  $1/n$ ) obtenidas de forma teórica a partir de datos de adsorción experimentales, para cada tipo de suelo estudiado en los ensayos de adsorción. Las constantes de degradación utilizadas corresponden al ajuste de los datos de los ensayos de degradación a la ecuación exponencial de primer orden. El coeficiente de dispersión ( $D_{dis}$ ) se calcula por ajuste del modelo PESCOL a los datos experimentales del trazador. Otros parámetros utilizados aparecen resumidos en la Tabla VI-1.

## 3 Resultados y discusión

En este capítulo se analizarán resultados experimentales, de la movilidad de ión cloruro (utilizado como trazador) y de metidation en columnas de suelo sin enmendar (S, SI y SP) y en columnas de suelo de la capa superficial enmendadas con lodo y/ o surfactante (SL, SS y SLS). Los resultados experimentales se compararán con los teóricos, obtenidos de la simulación del comportamiento del trazador y del plaguicida con el modelo PESCOL.

### 3.1 Características de las columnas

En la Tabla VI-1 se muestran las principales características de las columnas de suelo estudiadas.

El volumen de poro ( $V_0$ ) es la cantidad máxima de agua que la columna es capaz de retener, y se determina por diferencia de peso entre las columnas saturadas de agua y la columna seca (Sánchez-Camazano y col., 1997; Brooks y col., 1998). Las diferencias en los valores de  $V_0$  entre las columnas de suelo enmendado y sin enmendar no son debidas

a la presencia de los enmendantes, sino a pequeñas diferencias en la cantidad de suelo utilizada en cada una de ellas.

La fracción de agua en la columna ( $\theta$ ), se calcula dividiendo el volumen total de agua recogida en los lixiviados, entre el volumen que ocupa el suelo en la columna. El flujo de agua ( $q$ ), se calcula dividiendo el volumen total de agua recogido en los lixiviados entre el área de la columna y el tiempo de elución. La irrigación se calcula dividiendo el volumen de agua lixiviado entre el área de la columna.

**Tabla VI-1:** Características de las columnas empleadas en los experimentos de lixiviación.

Columna de Suelo	S	SS	SL	SLS	St	A	SI	SIa	SP	SPa
Longitud, L (cm)	5	5	5	5	5	2	5	5	5	5
Área (cm <sup>2</sup> )	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9	22,9
Volumen de Poro, V <sub>o</sub> (cm <sup>3</sup> )	71,0	69,0	72,9	71,8	66,5	14,7	68,7	63,0	66,1	62,2
Densidad, $\rho$ (g cm <sup>-3</sup> )	1,2	1,2	1,3	1,3	1,2	0,5	1,2	1,2	1,2	1,2
Fracción de agua en la columna, $\theta$ (cm <sup>3</sup> cm <sup>-3</sup> )	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,1	0,6	0,6	0,6	0,5
Flujo de agua, $q$ (cm <sup>3</sup> cm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> )	1,4	1,4	1,3	1,3	1,8	2,5	1,3	1,5	1,4	1,5
Irrigación para Cl (cm <sup>3</sup> cm <sup>-2</sup> )	6,4	6,0	5,6	6,2	10,7	12,4	5,6	5,8	5,6	5,9
Irrigación total, V <sub>o</sub> (cm <sup>3</sup> cm <sup>-2</sup> )	22,9	24,3	21,6	22,0	22,0	12,4	16,1	17,4	16,3	17,7

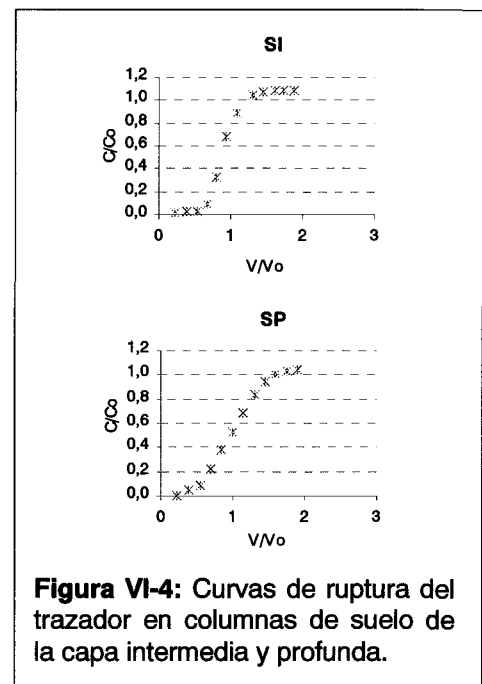
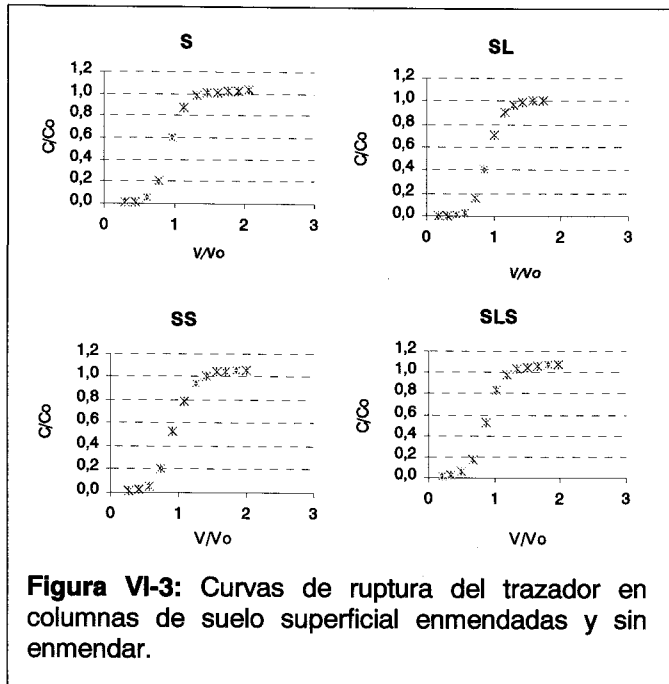
### 3.2 Lixiviación del trazador

Los trazadores son añadidos al suelo para describir el movimiento del fluido portador a través del mismo. Algunos de los iones más usados como trazadores son el ión bromuro (Jaynes, 1991), el ión cloruro y agua tritiada (Gamerdinger y col., 1990), este último por su similitud con el agua. Las características que debe cumplir un trazador son fundamentalmente dos: no modificar las propiedades del fluido transportador (esto se consigue añadiendo pequeñas cantidades del mismo), y tener un comportamiento similar a éste (Biggar y Nielsen, 1962).

En las Figuras VI-3 y VI-4, se representan las curvas de ruptura (CR) del ión cloruro (Cl<sup>-</sup>) en las columnas de suelo de la capa superficial sin enmendar (S) y enmendado (SL, SS y SLS), y con suelo de las capas intermedia y profunda (SI y SP). La CR representa la relación entre las concentraciones acumuladas de un soluto medidas en el efluente y la concentración inicial aplicada ( $C/C_0$ ), frente a la relación entre el volumen de efluente y el volumen de poro de cada columna ( $V/V_0$ ).

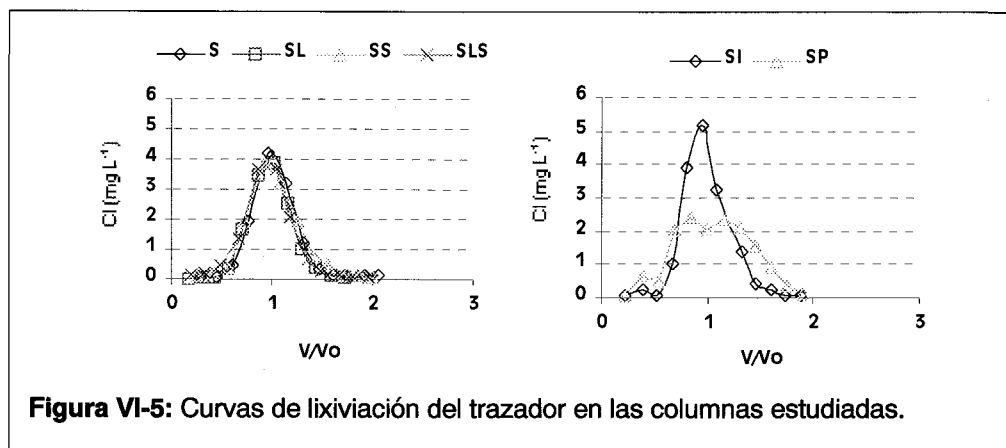
El movimiento del trazador dependerá de las características del material poroso, y de las interacciones de tipo físico y químico del trazador con el medio, que influirán en la forma de la curva de ruptura y en la velocidad de lixiviación (Nielsen y Biggar, 1962). Normalmente el proceso que determina en estos casos la forma de la curva es de tipo difusivo (Biggar y Nielsen, 1962; Core y col., 1963).





En las CR el punto inicial de ruptura se define como el  $V_0$  al cual la concentración del soluto en los lixiviados alcanza el valor de  $C = 0,05 C_0$  (Biswas y col., 1991). Los puntos iniciales de ruptura de las curvas en todos los casos se obtuvieron entre  $0,4$  y  $0,5 V_0$ , observándose que la cantidad total  $Cl^-$  ha eluido una vez pasados  $2 V_0$ . La máxima concentración del trazador se obtiene una vez pasado  $1 V_0$ , lo que generalmente ocurre con los iones inertes (Biggar y Nielsen, 1962). En todos los casos se obtienen unas recuperaciones próximas al 100%, con pequeñas variaciones que pueden atribuirse a errores de tipo analítico. Las CR presentan una forma sigmoideal, pero cuando se ha eluido  $1 V_0$  no pasan por  $C/C_0 = 0,5$ , sino que se encuentran ligeramente desplazadas a la izquierda. Esto indica que una pequeña fracción de  $V_0$  no contribuye al movimiento del trazador (Nielsen y Biggar, 1991).

En los gráficos de la Figura VI-5 se comparan las concentraciones del trazador en los lixiviados (curvas de lixiviación), en las distintas columnas estudiadas.



La simetría en la forma de las curvas para las columnas S, SL, SS y SLS, nos indica que no existe flujo preferencial, y que la adición de los enmendantes no modificó el flujo en las columnas, siendo éste similar en todas ellas.

Sin embargo, en el gráfico que compara los valores obtenidos en las columnas de las capas intermedia y profunda (Figura VI-5), se puede observar que el flujo no fue idéntico entre las columnas, y la existencia de asimetría en la forma de las curvas. La falta de simetría en la curva del trazador se asocia generalmente con procesos de flujo preferencial a través de los macroporos del suelo (O'Dell y col., 1992; Matocha y Hossner, 1999). Pero en nuestro caso al tratarse de columnas empaquetadas no lo podemos achacar a este hecho, y lo atribuimos a errores en la preparación del ensayo, ya que en las columnas SP y SI el suelo sufrió una leve compactación al aplicar el vacío en sentido contrario por error. Esta compactación puede ser la responsable de un movimiento difusivo de  $\text{Cl}^-$  más lento, que explicaría el achatamiento de la curva SP. Kiuchi y col. (1994) obtienen curvas más achatadas que las obtenidas en condiciones normales en el estudio del comportamiento del ión  $\text{Cl}^-$ , cuando compactan capas de suelo.

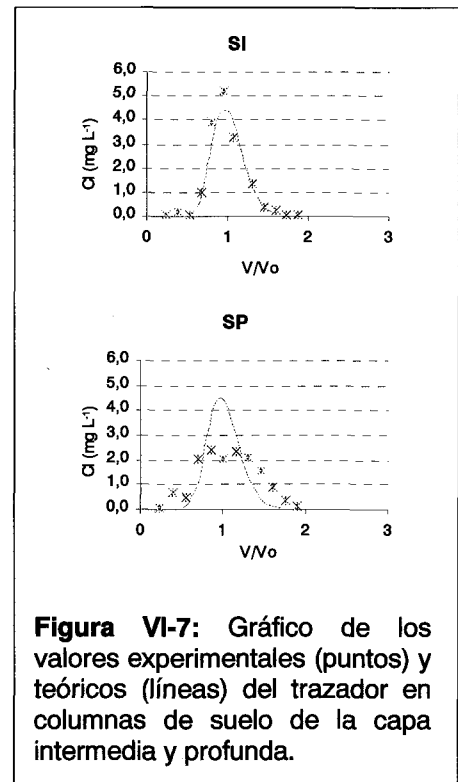
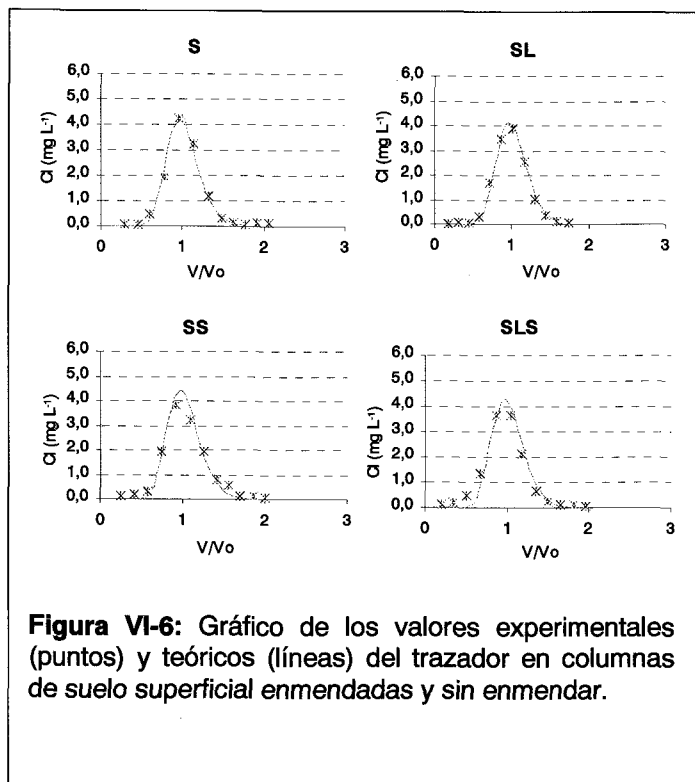
Williams y col. (1999) a partir de la ecuación (1), calculan el tiempo de tránsito del ión cloruro ( $t_{\text{Cl}}$ ), teniendo en cuenta la longitud (L), la fracción de agua ( $\theta$ ) y el flujo de agua (q) en las columnas:

$$t_{\text{Cl}} = L \cdot \theta / q \quad (1)$$

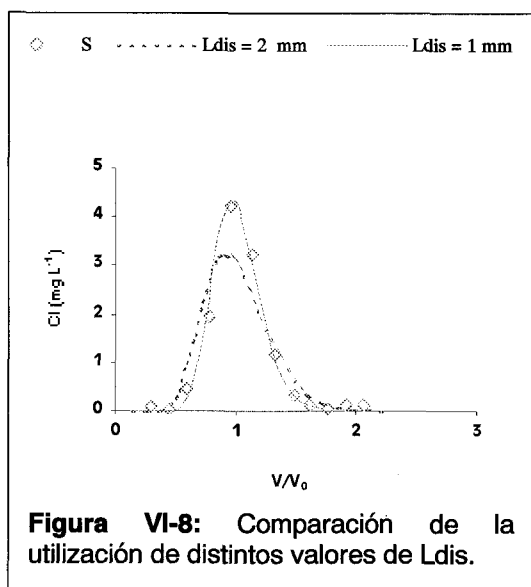
A partir de  $t_{\text{Cl}}$  y, teniendo en cuenta que la velocidad de lixiviación fue de  $34 \text{ mL h}^{-1}$ , se puede calcular un  $V_0$  teórico medio para todas las columnas excepto para la de las arenas de  $69 \pm 5 \text{ mL}$ , mientras que experimentalmente se obtuvo un valor medio de  $68 \pm 4 \text{ mL}$ . Esto indica que aproximadamente el 99 % del contenido en agua de la columna se usa para el desplazamiento del trazador, y por tanto no existe flujo preferencial (Williams y col., 1999).

En las Figuras VI-6 y VI-7, se comparan los valores experimentales de concentración del trazador en los lixiviados de las columnas estudiadas, con la curva teórica obtenida de la simulación con el modelo PESCOL. El valor del parámetro dispersión empleado en todos los casos fue  $1,0 \text{ mm}$ , por ser éste con el que se consigue un mejor ajuste del modelo a los datos experimentales.

En el gráfico de la Figura VI-6, se observa que el modelo provee un buen ajuste entre los datos experimentales y teóricos, para el suelo de la capa superficial sin enmendar y enmendado (S, SL, SS y SLS). Para estas columnas, este hecho indica que el flujo de agua en las mencionadas columnas era uniforme.



En el gráfico de la Figura VI-7, se puede comprobar que el ajuste de los datos experimentales no es tan bueno en las columnas preparadas con suelo de la capa intermedia y profunda. Algunos autores atribuyen esta diferencias a fenómenos de exclusión iónica (Dyson y White, 1987; Shing y Kanwar, 1991; Matallo y col., 1999), pero en nuestro caso puede ser una confirmación más de la existencia de errores en el proceso de preparación del experimento, debido al buen ajuste obtenido en los casos anteriores.

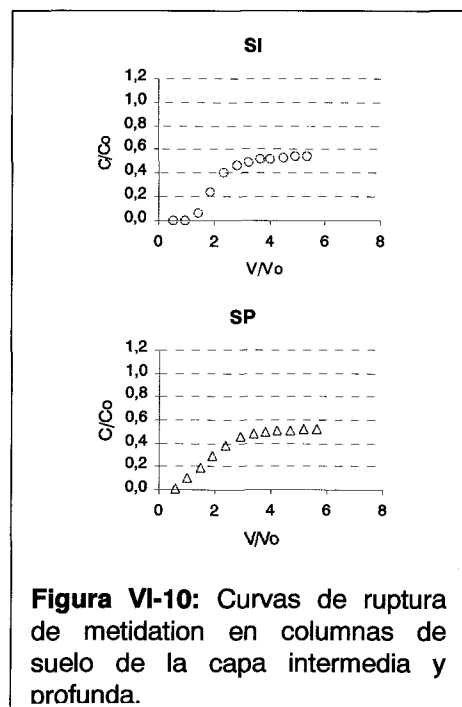
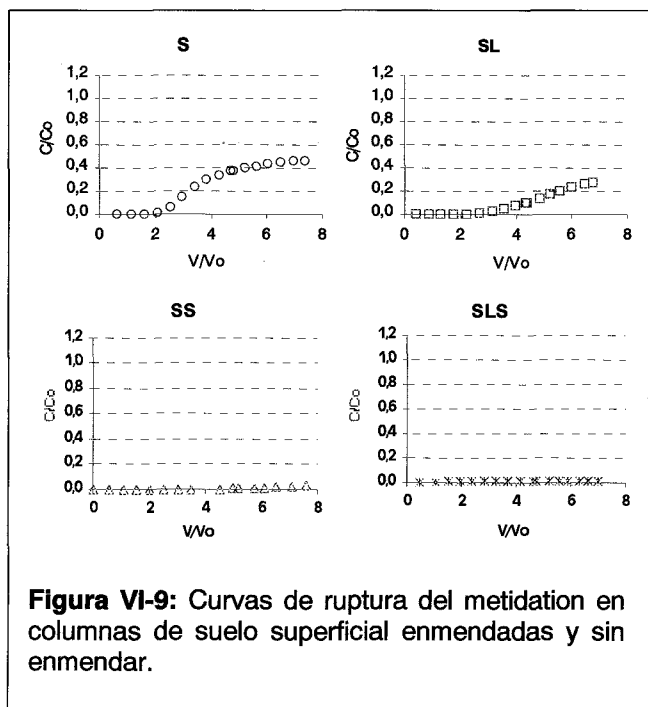


El valor del parámetro de dispersión utilizado se relaciona con las pequeñas dimensiones de la columna utilizada, y está de acuerdo con otros valores encontrados en la bibliografía para columnas de similares dimensiones y para el tipo de suelo en estudio (Boesten, 1986). La importancia de la elección de este parámetro queda reflejada en el la Figura VI-8 en la que se observa como un aumento del valor del parámetro conduce a un peor ajuste del modelo a los resultados y a una mayor dispersión de la curva.

### 3.3 Lixiviación de metidation. Efecto de los enmendantes.

Como se ha indicado anteriormente, la movilidad de un plaguicida en el suelo es inversamente proporcional a su coeficiente de adsorción (Liu y col, 1995). A su vez, la adsorción de los plaguicidas está íntimamente ligada al contenido en C.O. de éstos (Hutson y Roberts, 1990), existiendo una correlación positiva entre éste y la adsorción (González-Pradas y col., 1992 y 1994). Las principales diferencias entre las experiencias en batch y las realizadas en columnas se pueden atribuir al hecho de que estas últimas ocurren en condiciones de no equilibrio. Éste es debido a un menor tiempo de contacto entre el plaguicida y el suelo, que viene determinado por la elevada velocidad de lixiviación empleada ( $34 \text{ mL h}^{-1}$ ). La razón de la aplicación de esta velocidad de lixiviación se debió fundamentalmente a la inestabilidad del insecticida en estudio. El objetivo era desplazar los suficientes  $V_0$  y poder obtener las CR y los factores de retardo (R) ocasionados por la adición de los enmendantes.

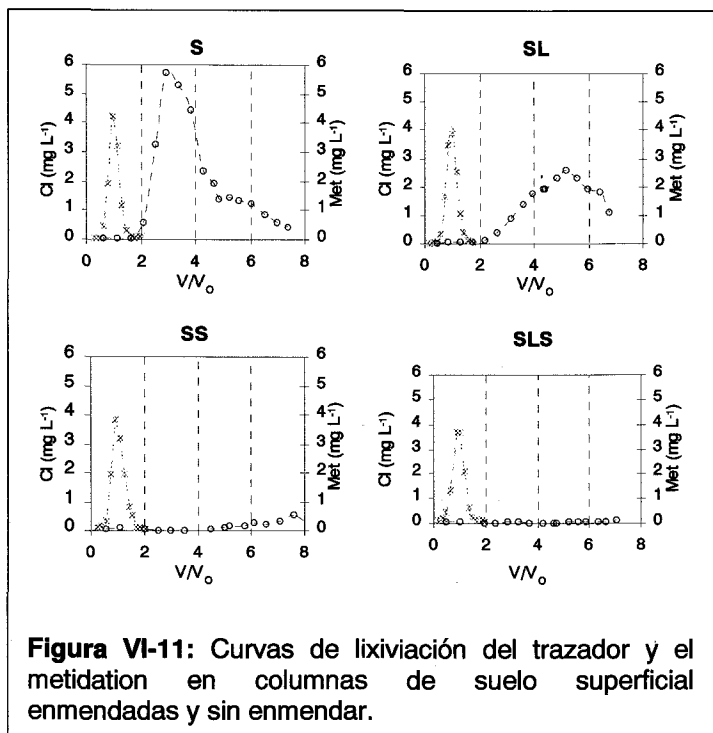
La Figura VI-9 representa las CR para el insecticida en suelo de la capa superficial sin enmendar (S) y enmendado con lodo (SL), surfactante (SS) y una mezcla de ambos (SLS). En la Figura VI-10 se representan las curvas acumuladas para las columnas de suelo de la capa intermedia (SI) y profunda (SP).



Para las columnas SI y SP, el punto inicial de ruptura se obtiene aproximadamente a 1,2 y 0,8  $V_0$ , valores superiores a los obtenidos para el trazador. Para las columnas S, y SL este valor se obtiene más tarde (2,5 y 3,6  $V_0$ , respectivamente). En las columnas SS y SLS este valor no se ha calculado, porque la concentración en los lixiviados fue tan pequeña que no se obtuvieron las correspondientes CR. El retardo inicial se puede relacionar con un aumento de la retención del plaguicida al suelo.

Como puede observarse, la cantidad total de metidation que lixivias ( $C/C_0$ ) se encuentra alrededor del 50 % de la aplicada para las columnas S, SL y SP, del 30 % para la columna SL, y es prácticamente nula en las columnas SS y SLS. Este hecho indica que la presencia de los enmendantes disminuye la lixiviación del insecticida (SL) o la impide totalmente (SS y SLS), debido probablemente a un aumento de la adsorción del insecticida sobre el suelo a pesar de la rápida lixiviación realizada.

En la Figura VI-11 se representan las concentraciones del trazador y el metidation en los lixiviados de las columnas S, SL, SS y SLS. De acuerdo con el comportamiento del trazador no se observa la existencia de flujo preferencial para el metidation.



En la curva de lixiviación para el metidation en suelo de la capa superficial (S) se observa que existe una fracción de metidation que eluye rápidamente al inicio de la lixiviación, y una vez alcanzado el máximo, la elución es más lenta. Por esta razón, la curva muestra una cola al final de la curva de elución. Esta asimetría puede ser debida a la existencia de procesos de no equilibrio (Garber y col., 1995; Gamerdinger y col., 1990; Matocha y Hossner, 1999; Abu-Zreig y col., 2000).

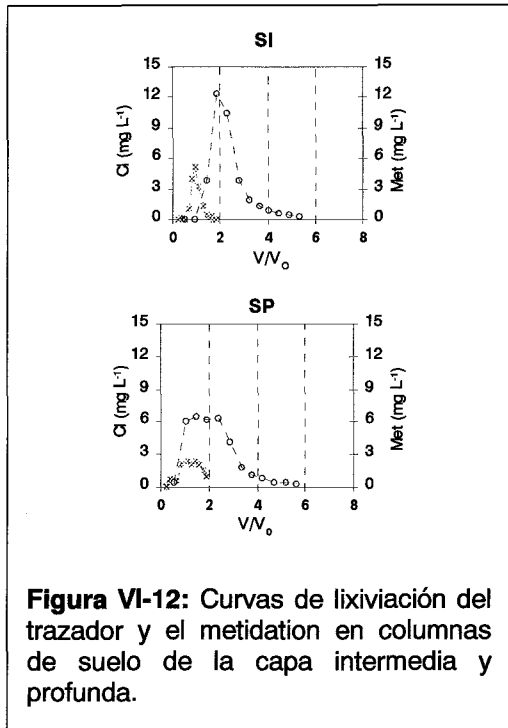
Estos procesos de no equilibrio se atribuyen a la elevada velocidad de flujo de agua aplicada para lixiviar el compuesto. En la curva SL, desde el inicio de la elución el desplazamiento de metidation es menor y más lento, resultando una curva más ancha que la anterior.

La máxima concentración de insecticida se obtiene a  $2 V_0$  a la derecha de la curva del trazador para S, y más tarde para SL ( $4 V_0$ ). Este desplazamiento de las curvas de lixiviación se puede relacionar con la existencia de procesos de adsorción entre la molécula de insecticida y el suelo (Gaber y col., 1995; Liu y col., 1995). Asimismo, la presencia de lodo en la parte superficial de la columna SL, hace que el contenido en C.O. del suelo sea mayor, y por tanto que la adsorción del plaguicida aumente y la cantidad disponible para lixiviar sea menor.

En el caso de las columnas SS y SLS, no se han podido obtener las correspondientes curvas debido a que la cantidad encontrada en los lixiviados ha sido muy pequeña, poniendo de manifiesto el importante efecto del surfactante.

En la Figura VI-12 se representan las curvas de lixiviación para el suelo de la capa intermedia (SI) y profunda (SP). Se observa que la máxima concentración del insecticida se obtiene a un valor más bajo que para la columna de suelo de la capa superficial. Este hecho se relaciona con el menor contenido en C.O. del suelo de estas profundidades.

La presencia de colas en estos picos y la falta de simetría, se relaciona también con los fenómenos de no equilibrio (Gamerdinger y col., 1990; Matocha y Hossner, 1999; Abu-Zreig y col., 2000), por las características en las que se llevó a cabo el experimento. Pero el achatamiento de la curva SP, unido a la falta de simetría en las curvas del trazador puede poner de nuevo de manifiesto la existencia de errores por la compactación del suelo durante el montaje del experimento.



**Figura VI-12:** Curvas de lixiviación del trazador y el metidation en columnas de suelo de la capa intermedia y profunda.

Sin tener en cuenta la dispersión de la molécula, suponiendo además que  $K_f \approx K_d$  y considerando los valores experimentales obtenidos en los ensayos de adsorción, con la adición de TDTMA a 10 cmc y lodo al 4%, se ha calculado el desplazamiento teórico ( $Z_e$ ) de metidation en las columnas (Tabla VI-3). Este valor se obtiene teniendo en cuenta la irrigación total ( $V_e$ ),  $\theta$ ,  $\rho$  y el valor experimental de  $K_d$  (ecuación 3) (Romero y col., 1996).

$$Z_e = V_e / (\theta + \rho * K_d) \quad (3)$$

Los valores de  $Z_e$  nos indican que salvo para las columnas enmendadas con el surfactante, el plaguicida será desplazado fuera de éstas, ya que los valores de  $Z_e$  superan la longitud de la columna.

**Tabla VI-2:** Parámetros teóricos calculados para las columnas.

	S	SL	SS	SLS	SI	SP
Transporte teórico, $Z_e$ , (cm)	5,9	8,1	0,4	0,2	9,8	4,2
Factor de retardo, $R$	3,1	5,7	-	-	2,0	1,8
Constante de adsorción teórica de la columna, $K_d$	2,0	4,0	-	-	1,2	1,0

La movilidad de metidation puede predecirse a partir de los factores de retardo obtenidos en los experimentos de lixiviación. El factor de retardo ( $R$ ), se define como el número de volúmenes de poro a los que se recoge el 50 % del plaguicida lixiviado (Johnson y Farmer, 1993). Este valor experimental se obtiene de la división del  $V_0$  al que lixivía el 50 % del total lixiviado, entre el valor al que lo hace el trazador (Tabla VI-3). Para las columnas SS y SLS este valor no se puede calcular, al no obtenerse las correspondientes curvas de lixiviación (Sánchez-Camazano y col., -----). En el resto de los casos puede comprobarse como el retardo es mayor en la columna de suelo superficial que en el caso de las realizadas con suelo de la capa intermedia y profunda, hecho que cabría esperar debido al menor contenido en c.o. de estos suelos (Tabla II-5). Por otro lado, el valor de  $R$  en la columna enmendada con lodo se encuentra más de  $2 V_0$  a la derecha de la columna de suelo superficial, lo que nos indica el efecto de la enmienda en esta columna.

Teniendo en cuenta los valores de  $R$ ,  $\theta$  y  $\rho$  y la ecuación (2), se puede calcular un valor teórico de la constante de adsorción para cada columna ( $K_d$ ) (Brusseau y col., 1990):

$$R = (\theta + \rho * K_d) \quad (2)$$

Los valores teóricos de  $K_d$  que se obtienen para S y SL (Tabla VI-3), son similares a los obtenidos en las isotermas de adsorción (2,7 y 4,09, respectivamente), y no se pueden obtener para las columnas enmendadas (SS y SLS) al no tener un valor experimental de  $R$ . En el caso de las columnas SI y SP, no existe mucha concordancia entre los valores experimentales y teóricos.

En la Tabla VI-4 recoge el balance de masas para metidation en las columnas control (A, St, Sla, SPa), de suelo sin enmendar (S, SI, SP) y enmendado (SS, SL, SLS).

Tabla VI-3: Balance de masas para cada una de las columnas.

COLUMNA	SUELO			LIXIVIADOS	TOTAL Recup.
	Mitad Superior	Mitad Inferior	Total Suelo		
Controles	%	%	%	%	%
A	-	-	-	78	78
St	10	5	15	38	52
Sl <sub>a</sub>	3	2	5	37	42
SP <sub>a</sub>	1	2	3	56	59
Suelo sin enmendar y enmendado	%	%	%	%	%
S	7	6	13	47	60
SI	2	4	7	54	61
SP	1	1	2	53	55
SL	12	7	19	28	47
SS	7	16	23	4	27
SLS	11	17	28	2	30

Como se puede observar, los valores de recuperación obtenidos se encuentran entre un máximo del 78 % para la columnas de las arenas (A), y un mínimo del 27-30 %, para las columnas enmendadas con TDTMA (SS y SLS)

El valor de recuperación obtenido en la columna A, compuesta únicamente por el material, y en la que no existen fenómenos de adsorción ni de tipo degradativo, nos indica que o bien el método de extracción con Soxhlet no consigue extraer todo el plaguicida, o que existen pérdidas de plaguicida debido a otro tipo de fenómenos (hidrolíticos, fotodegradativos o microbiológicos). Para intentar averiguar a qué eran debidas estas pérdidas se realizaron unos ensayos sobre la estabilidad y adsorción del compuesto en las condiciones de realización de la experiencia.

La existencia de hidrólisis o fotodegradación se descartó al comprobar que las recuperaciones obtenidas en la extracción de soluciones acuosas del insecticida, mantenidas en iguales condiciones que las columnas, en condiciones de luz y oscuridad, eran similares y cercanas al 100% (99±5 y 97±3, respectivamente).

La experiencia llevada a cabo sobre la adsorción de metidation en la malla de algodón y el componente de metacrilato (usados en el montaje de las columnas) dio como resultado un porcentaje de adsorción muy bajo (6% y 6,5 %, respectivamente). Por el contrario, la malla de plástico presentó una elevada adsorción de insecticida (96%), pero ésta no fue usada en el montaje de las columnas.

En el resto de las columnas de suelo, la recuperación fue menor que la encontrada en la columna de arena. En estos casos la pérdida de plaguicida la achacamos bien a pequeñas pérdidas por volatilización (aunque el compuesto no es muy volátil) o la existencia de una mayor degradación en las altas condiciones de humedad en las que se llevó a cabo el experimento (40 %, aproximadamente). El  $t_{1/2}$  del insecticida en



condiciones de menor humedad y temperatura (15 °C, 20 % de humedad) era de aproximadamente 7 días. Tanto el grado de humedad (García-Varcárcel y Tadeo, 1999; Dakhel y col., 2001), como la temperatura (Wolfe y col., 1990), aumentan la degradación de los plaguicidas en el suelo, siendo ésta mayor cuanto mayor es la humedad. Además la degradación los plaguicidas en condiciones de no equilibrio, como puede ser una experiencia de lixiviación, es mayor que un ensayo de degradación (Comfort y col., 1992; Guo y Wagenet, 1999) debido a una mayor actividad microbiológica por un incremento en el aporte de oxígeno (Angle y col., 1992; Pivetz y col., 1996).

El que pudiese existir degradación de tipo microbiológico, y que ésta fuese la responsable de la degradación del insecticida nos llevó a realizar la esterilización de suelo de la capa superficial con timerosal (St), y las de la capa intermedia y profunda mediante autoclavado (S<sub>Ia</sub> y SP<sub>a</sub>). La obtención de valores similares o incluso más bajos de recuperación en estas columnas comparadas con las mismas sin esterilizar (S, SI y SP), nos permite concluir que la degradación de tipo microbiológico tampoco es el principal fenómeno en la pérdida del compuesto. Pero sin embargo, la degradación de los plaguicidas OPs parece estar favorecida por presencia de arcillas (Getzin, 1970; Sánchez-Camazano y Sánchez-Martín, 1983), y como ya se ha mencionado anteriormente los procesos de tipo químico pueden jugar un importante papel en la degradación de metidation, y verse favorecidos en condiciones de mayor humedad y temperatura. Otro hecho a tener en cuenta es que el insecticida se encuentre retenido en el suelo en una forma tal que el método de extracción empleado no sea capaz de extraerlo.

La recuperación total de metidation varía entre el 60 % para el suelo sin enmendar, y el 27-30 % de suelo enmendado con lodo y/o surfactante (Tabla VI-3). En el suelo sin enmendar (S, SI y SP), no existen diferencias en los valores obtenidos para las tres profundidades estudiadas. Si se puede observar, que la cantidad de plaguicida retenido en el suelo es mayor en la columna con suelo de la capa arable, que en las de las capas intermedia y profunda. Este hecho se puede relacionar con una mayor adsorción del insecticida al suelo debido al mayor contenido en C.O. de la capa superficial con respecto a las otras profundidades (Hutson y Roberts, 1990; González-Pradas y col., 1992 y 1994).

La presencia de los enmendantes disminuye en todos los casos el porcentaje total de metidation recuperado. Esta disminución en la recuperación ha sido observada por otros autores en el estudio de la movilidad en columnas de suelos enmendados, y parece estar relacionada con la adición de m.o. exógena (Guo y Wagenet, 1999), surfactantes (Sánchez-Camazano y col., 2000) y el tipo de suelo (Matallo y col., 1999).

Resultados de otros estudios sobre la movilidad de plaguicidas débilmente solubles en cromatografía en capa fina de suelo, muestran la efectividad del TDTMA para retener a este tipo de compuestos (Sánchez-Camazano y col., 1995 y 1996). En estos estudios cuando el surfactante catiónico se usa solamente en el agua de irrigación la movilidad es similar a la existente en el suelo natural, y sólo cuando el surfactante se mezcla con el suelo y es adsorbido por éste, la inmovilización del plaguicida es significativa. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en nuestras experiencias, ya que la

saturación de la columnas de suelo enmendadas con el surfactante catiónico en soluciones del mismo permitió la completa adsorción de éste. Otro hecho a tener en cuenta es que los resultados obtenidos aumentan la adsorción de plaguicidas hidrófobos, pero no son efectivos con cualquier grado de hifrofobocidad. Los ensayos de Sánchez-Camazano y col. (1995 y 1996) han dado resultados positivos con plaguicidas cuyas solubilidades se encontraban entre 30 y 500 mg L<sup>-1</sup>, rango en el que se encuentra la solubilidad de metidation. El aumento de la retención de plaguicidas por la adición de m.o. exógena en ensayos de lixiviación ha sido observado por varios autores (Guo y col., 1993; Guo y Wagenet, 1999; Socías-Viciano y col., 1999, Sánchez-Camazano y col., 2000a y 2000b).

Si se tienen en cuenta los porcentajes de metidation encontrados en el suelo, se puede observar como la enmienda del suelo aumenta la retención de metidation (SL 19%, SS 23%, SLS 28%) con respecto al suelo sin enmendar (S 13%). Los resultados obtenidos se pueden relacionar con el aumento de la adsorción que supuso la adición de los enmendantes en los estudios de adsorción (S<SL<<SS<SLS).

Para comprobar este efecto, se ha relacionado el aporte de C.O. que supone la adición de los enmendantes, con el que supuso en la enmienda realizada en las isothermas de adsorción (Tabla VI-4).

**Tabla VI-4:** Comparación del aporte de C.O. que produce la adición de los enmendantes en los estudios de lixiviación y en los ensayos de adsorción.

	Lixiviación		Ensayos de Adsorción			
	%C.O.		%C.O.		Kf / %Ads	
	Lodo	TDTMA	Lodo	TDTMA		
<b>S</b>	-	-	<b>S</b>	-	2,7 / 29	
<b>SL (4%L)</b>	9,2 X10 <sup>-1</sup>	-	<b>SL (4%L)</b>	9,2 x10 <sup>-1</sup>	4,1 / 45	
<b>SS (V<sub>0</sub>)</b>	-	3,0 x 10 <sup>-2</sup>	<b>SS (1 cmc)</b>	2,4 x 10 <sup>-2</sup>	2,6 / 33	
			<b>SS (10 cmc)</b>	2,4 x 10 <sup>-1</sup>	44,8 / 92	
<b>SLS (2%L + V<sub>0</sub>)</b>	9,2 X10 <sup>-1</sup>	3,0 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	-	
			<b>SLS (2%L +10 cmc)</b>	4,6 x10 <sup>-1</sup>	2,4 x 10 <sup>-1</sup>	85 / 95

Con respecto al valor calculado para el surfactante, hay que destacar que se ha realizado teniendo en cuenta la cantidad de surfactante existente en los respectivos V<sub>0</sub> de cada una de las columnas. Este valor es comparable al que existía en las experiencias en batch cuando se utilizó el surfactante a 1 cmc. Según los resultados obtenidos, la retención ha sido mayor que en la columna enmendada únicamente con lodo, por lo que la adsorción debe ser mayor que la esperada para el contenido en C.O. debido al TDTMA calculado. Para explicar este hecho se postulan varias hipótesis:

- 1) Que esta cantidad sea mayor que la calculada, ya que el tiempo que se mantuvieron sumergidas (72 h) y la cantidad de surfactante existente en la solución (10 L a 10 cmc) era lo suficientemente alta para que pudieran producirse

fenómenos de tipo físico-químico (difusión, convección) que aumentaran la cantidad de surfactante retenido en las columnas.

- 2) Que esta cantidad de surfactante se encuentre entre un valor intermedio de la cantidad que produce un ligero efecto (1 cmc) y la que produce efecto mucho más destacado (10 cmc), y sea suficiente para producir una mayor retención del insecticida.

En cuanto a las cantidades encontradas de plaguicida en las capas superior e inferior de las columnas de suelo enmendado, la presencia de lodo en la capa superficial hace que la cantidad de insecticida sea mayor en esta capa, y mayor que en la columna enmendada únicamente con el surfactante (SS). En la enmienda con TDTMA, el insecticida se distribuye entre las dos capas, siendo mayor la cantidad presente en la capa inferior. Que la mayor cantidad del insecticida se haya encontrado en la capa inferior de suelo puede estar relacionado con el hecho de que el surfactante se introdujo en las columnas por capilaridad, y esto pudo producir una mayor retención del surfactante en la parte inferior de la columna y que el plaguicida sea más retenido en esta capa. Un resultado similar obtienen Sánchez-Camazano y col. (2000 J.Agric. Food Chem.) cuando la enmienda con lodo y TDTMA la realizan en la parte superior de las columnas, y es en estas capas donde se produce la mayor retención del plaguicida.

En cuanto a los valores de metidation encontrados en los lixiviados (Figuras 13 y 14), las mayores cantidades del compuesto se obtuvieron en las columnas de suelo sin enmendar (S, SI, y SP), y los menores en las columnas enmendadas (SL, SS y SLS). Este hecho confirma la retención del insecticida al suelo, y la importancia de la enmienda para impedir la lixiviación del compuesto. En las enmiendas realizadas, destaca el importante papel que juega el surfactante, ya que cuando éste se emplea se obtienen unos valores muy bajos de plaguicida en los lixiviados (Figuras VI-13 y 14).

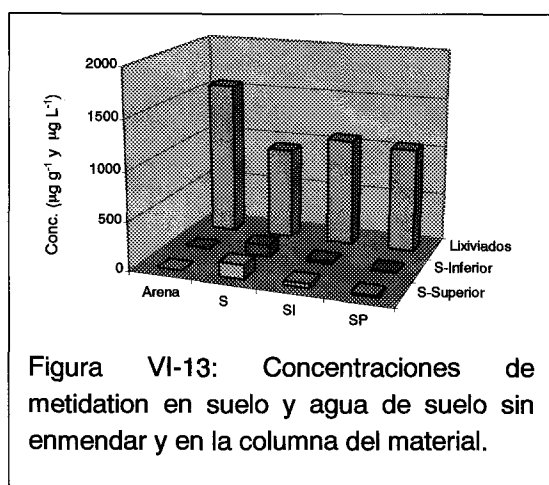


Figura VI-13: Concentraciones de metidation en suelo y agua de suelo sin enmendar y en la columna del material.

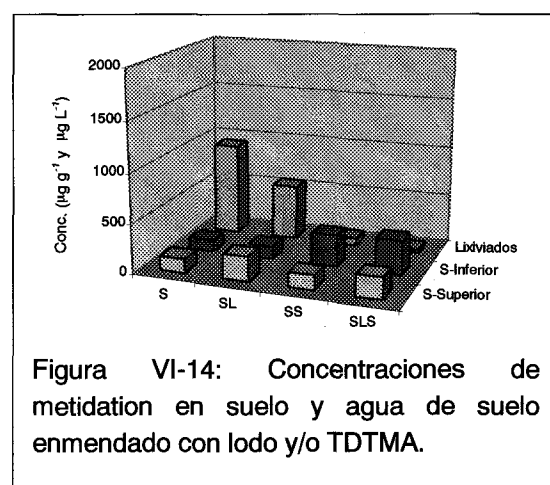
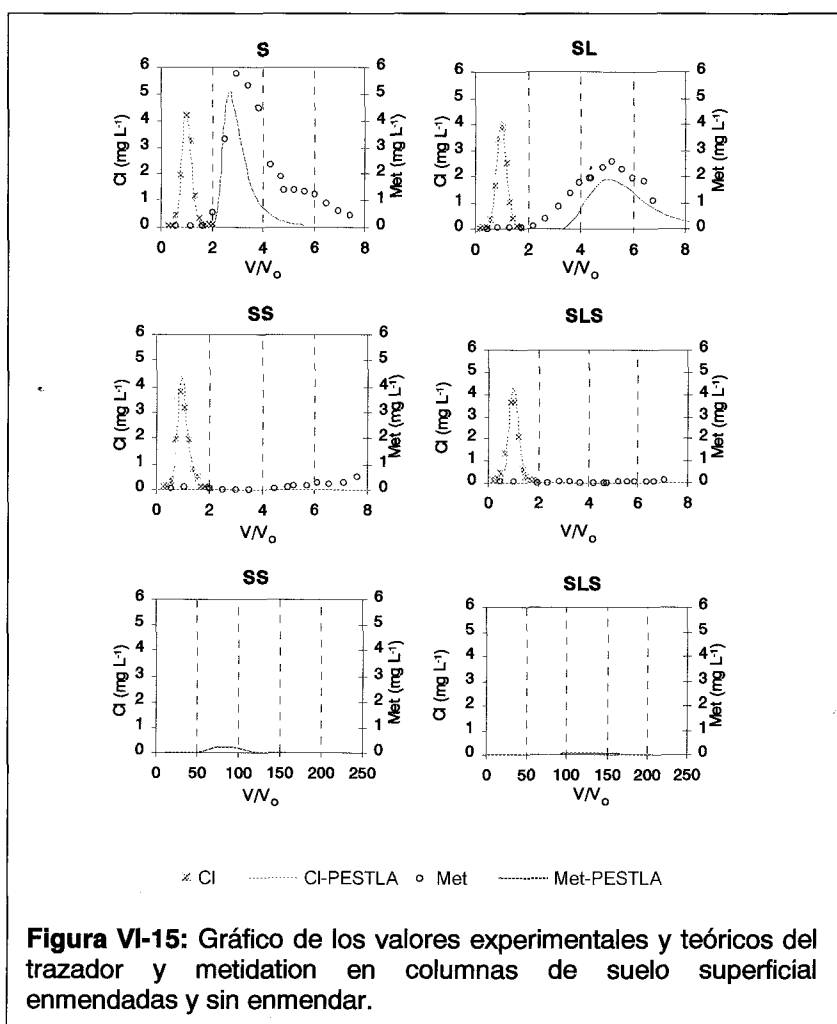


Figura VI-14: Concentraciones de metidation en suelo y agua de suelo enmendado con lodo y/o TDTMA.

### 3.4 Modelización del transporte con el modelo PESCOL

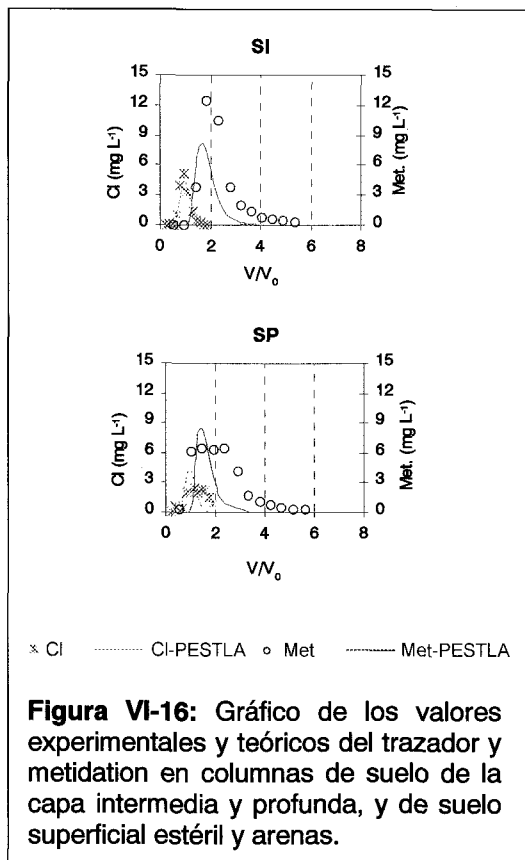
En la Figura VI-15 se muestran las curvas de lixiviación experimentales en suelo de la capa superficial enmendado y sin enmendar para el trazador y el insecticida, junto con las curvas teóricas del ajuste con el modelo PESCOL. Como valor del parámetro de dispersión se ha utilizado el calculado para el trazador previamente, y en todo los casos fue 1,0 mm. Para los valores de las constantes de adsorción, se han utilizado los calculados previamente en los ensayos de adsorción para la enmienda con TDTMA a 10 cmc y la de lodo al 4%. La constante de degradación utilizada ha sido la obtenida del ajuste de los datos experimentales de los ensayos de incubación al modelo lineal de primer orden. Aunque en nuestro caso no existe un buen ajuste a este modelo, su uso se aconseja en la aplicación de modelos matemáticos que predicen la movilidad de los plaguicidas en suelo (Beulke y Brown, 2001).



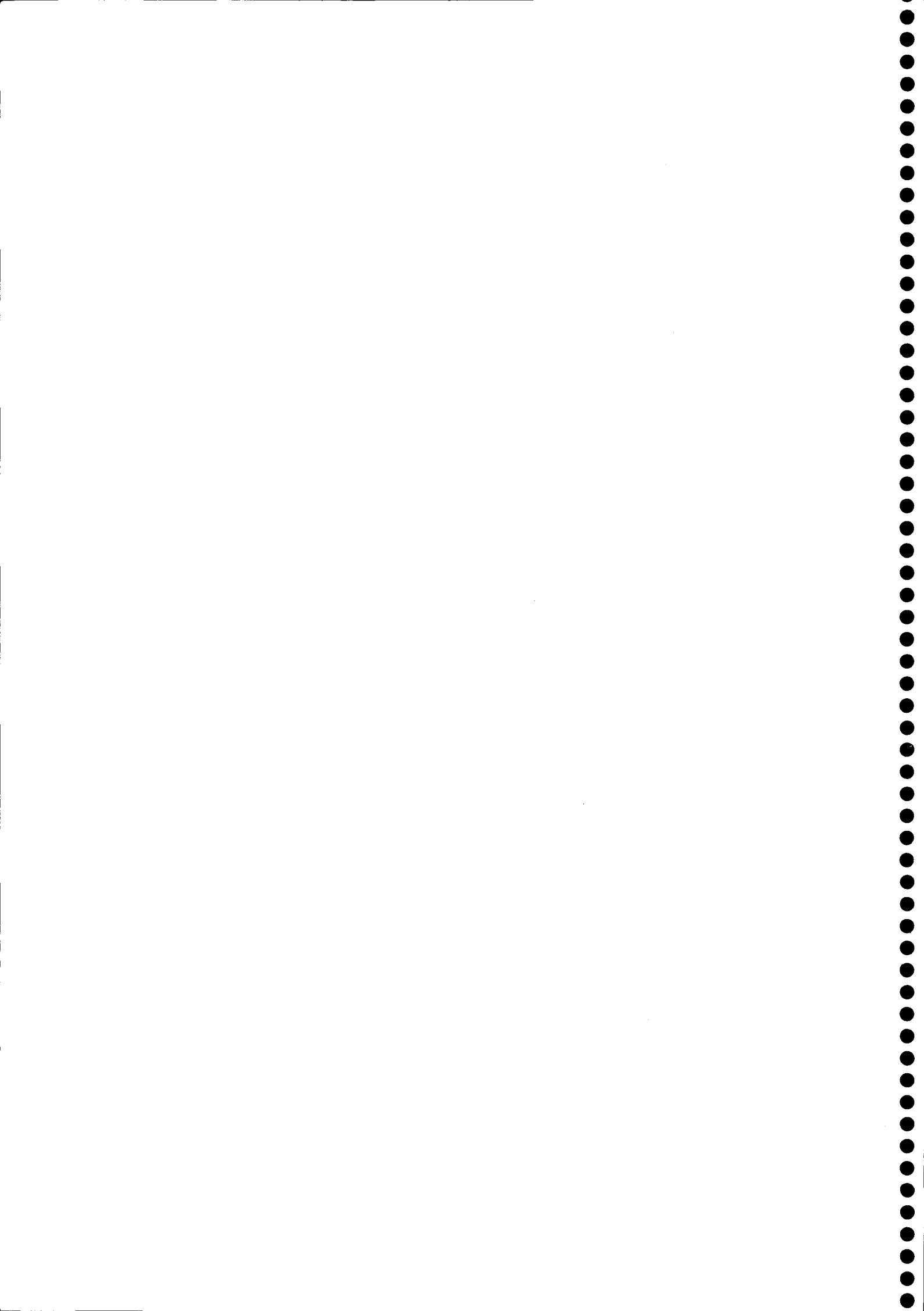
El ajuste de los datos experimentales a los teóricos para las columnas S y SL es en general bueno, y las pequeñas diferencias existentes se pueden atribuir a fenómenos de exclusión iónica (Singh y Kanwar, 1991; Matocha y Hossner, 1999), y a diferencias en los procesos adsortivos en las isothermas y en las experiencias en columnas (O'Dell y col.,

1992) debido a procesos de no equilibrio. Guy y Lagacherie (2001) destacan que las constantes de degradación y adsorción son los parámetros más sensibles en la modelización del comportamiento de los plaguicidas en suelo. El modelo predice una alta retención de metidation en las columnas SL y SLS, hecho que concuerda con los datos experimentales

Las predicciones del modelo para estos dos casos, apuntan hacia que la máxima concentración de metidation se obtendría entre 50-100 VP para el caso de la columna SL, y entre 100-150 VP para SLS, pero con unos valores muy pequeños. Estas predicciones del modelo están de acuerdo con los datos experimentales obtenidos anteriormente.



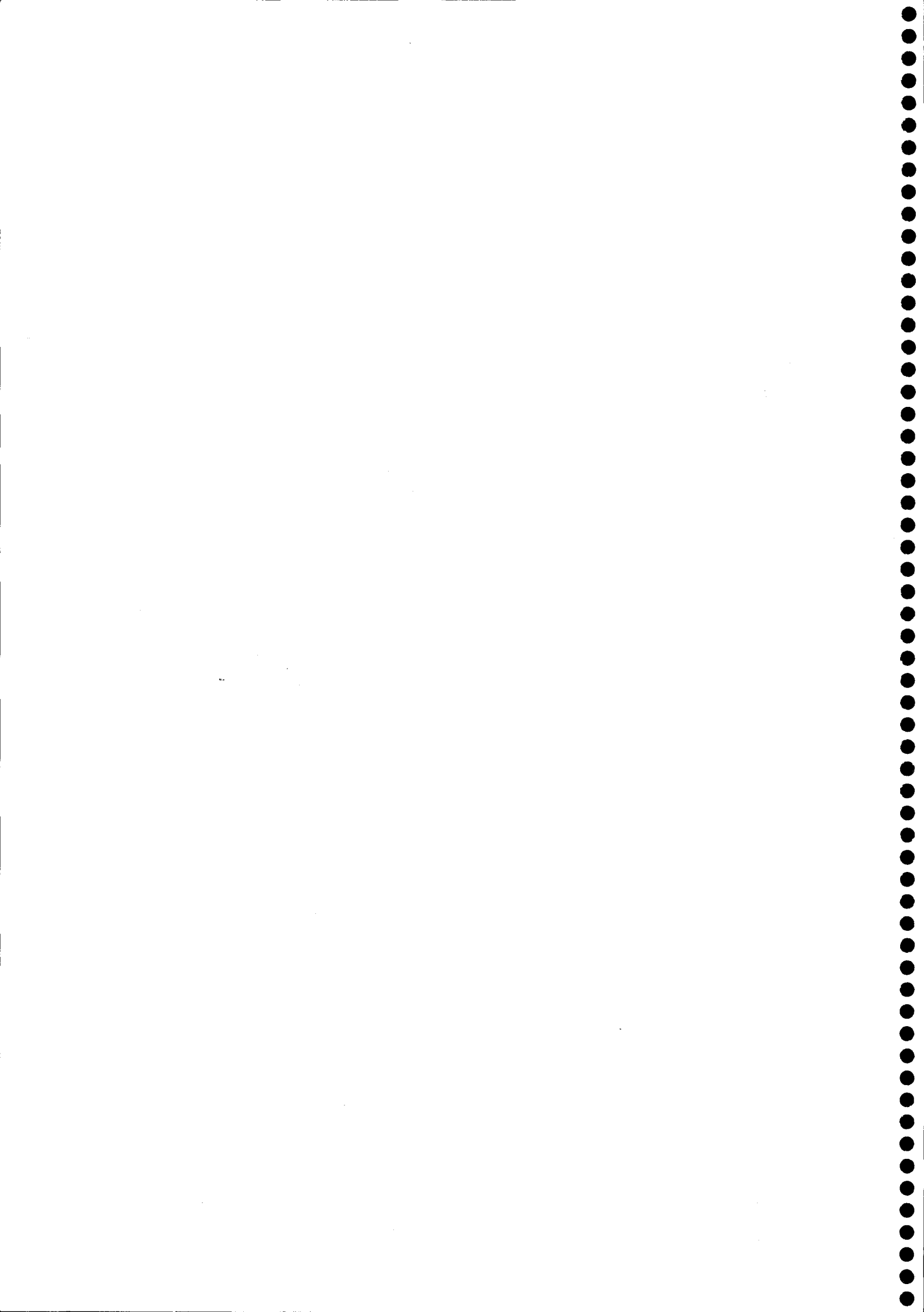
En la Figura VI-16 se representa el ajuste de los datos experimentales en las columnas de suelo de la capa intermedia y profunda. En este caso, al igual que ocurría con el trazador, no se obtiene un buen ajuste de los datos. Este hecho puede ser debido como varios autores apuntan, a la sensibilidad de los parámetros que tienen en cuenta la degradación y adsorción del insecticida en el suelo (Beulke y Brown, 2001; Guy y Lagacherie, 2001), pero teniendo en cuenta los resultados obtenidos con el trazador, pueden confirmar la existencia de errores en el proceso de empaquetado de las columnas.





# **Capítulo VII:**

## **Ensayos de campo**





# 1 Introducción

La presencia de plaguicidas en las aguas subterráneas constituye un serio problema medioambiental y sanitario, sobre todo si éstas son destinadas al consumo humano (Goodrich y col., 1991). Para prevenirlo, en los últimos años se ha postulado la incorporación de enmendantes orgánicos y químicos al suelo con el fin de favorecer la adsorción y degradación de estos compuestos en la capa arable. La mayoría de los estudios se han realizado en laboratorio, utilizando turbas o estiércoles como enmendantes orgánicos (Barriuso y col., 1997; Matallo y col., 1998) y surfactantes como enmendantes químicos (Wargner y col., 1994; Iglesias-Jiménez y col., 1996; Werkheisser y Anderson, 1996).

Sin embargo existe poca información de lo que ocurre en campo y más escasa si se trata del empleo de enmendantes orgánicos no tradicionales como los lodos urbanos generados en EDAR (Bellin y col., 1990; Guo y col., 1993). Estos estudios de campo son necesarios, ya que plaguicidas bastantes inmóviles en ensayos de laboratorio pueden presentar una elevada lixiviación en condiciones de campo (Jury y col., 1986). Debido a este hecho, el número de ensayos de campo realizados ha experimentado un aumento progresivo desde la década de los 70, siendo en los 90 cuando la cantidad de estas experiencias ha experimentado el mayor incremento (Flury y col., 1995). La existencia de flujo preferencial en condiciones de campo (Traub-Eberhard y col., 1995) es una de las principales razones de porqué los estudios de laboratorio están limitados para describir el proceso de transporte en campo, y porqué es necesaria la realización de ensayos de campo (Honeycutt y Schabacker, 1994; Flury y col., 1995; Flury, 1996).

En nuestro caso, tras los resultados obtenidos en los ensayos de laboratorio, se estudió el efecto de la adición de lodos de depuradora y del surfactante catiónico TDTMA, sobre la movilidad de metidation en campo. El propósito era modificar el comportamiento del plaguicida para reducir su persistencia y lixiviación, disminuyendo así el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas. Para ello se realizó un ensayo de campo en cuatro parcelas situadas en la Vega de Granada, en el término municipal de Cúllar Vega. Se analizó el agua de la zona no saturada (ZNS) por medio de hidrocaptos cerámicos de succión y muestras de suelo tomadas a distintas profundidades, para estudiar la posible lixiviación del insecticida hacia las aguas subterráneas.

Finalmente se aplicó un modelo matemático, con el que se simuló el comportamiento del plaguicida en estudio bajo las condiciones ensayadas, y se compararon los resultados experimentales con los predichos por el modelo.

## 2 Material y métodos

### MATERIAL

Barrena manual (40 mm d.i.), para la toma de muestras de suelo a distintas profundidades.

Bomba de aire (para recogida de las muestras acuosas).

Botes de vidrio (para la recogida de muestras acuosas).

Gomas de silicona (recogida de muestra y aplicación de vacío).

Hidrocaptorecerámicos de succión.

Lodo de depuradora, seco y molido.

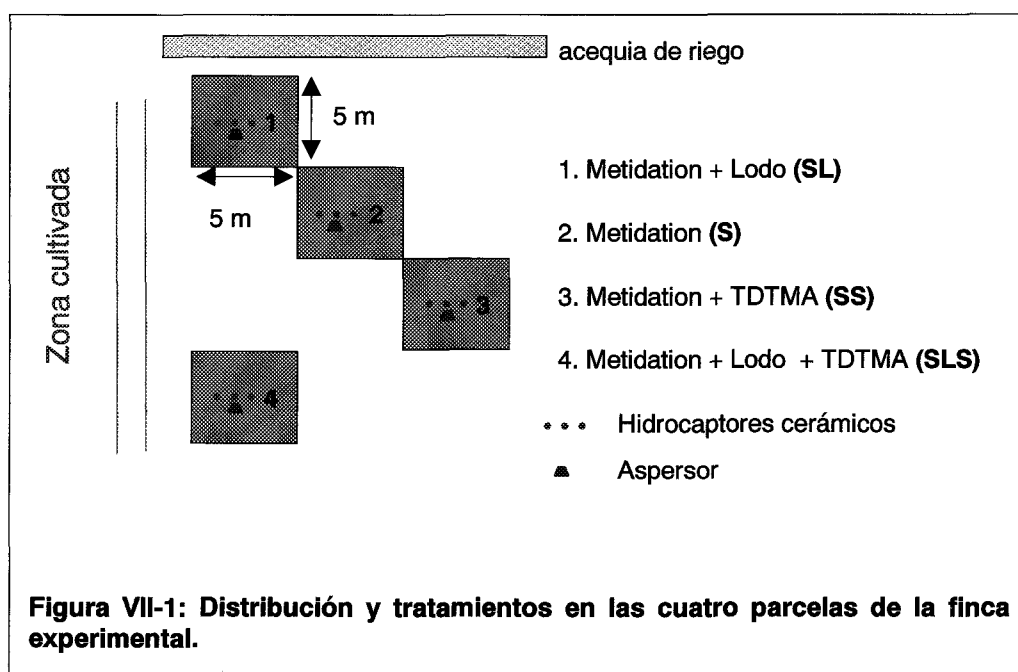
Mochila de tratamiento.

Supracid 40WP, 40 % de ingrediente activo (Novartis, Munchwilen, Suiza).

TDTMA.

### 2.1 Parcela experimental

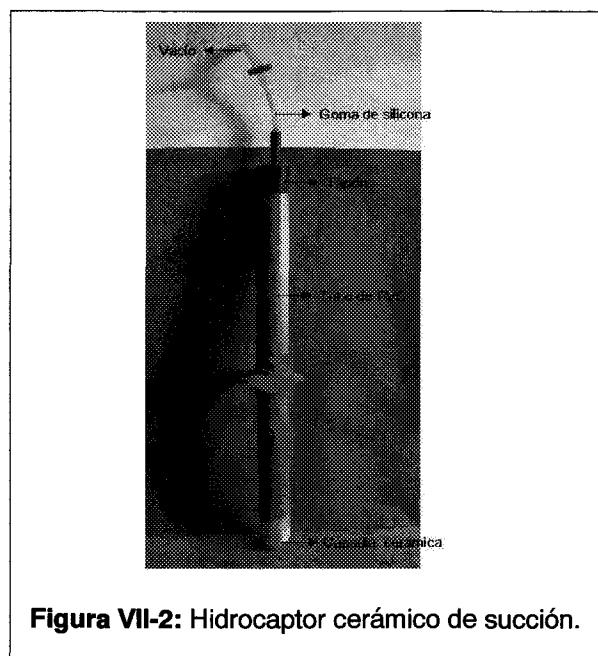
El estudio se llevó a cabo en una finca de la Vega de Granada, en las cercanías de la localidad de Belicena. Como paso previo se delimitaron con muros de tierra de 40 cm de altura, cuatro parcelas experimentales independientes entre sí, de 5 x 5 m, a las que se les dio una labor superficial antes de aplicar el plaguicida en cada uno de los tratamientos con el objetivo de nivelar su superficie.



En la finca se instalaron un total de 12 hidrocaptos cerámicos de succión, tres en cada parcela, localizados a 25, 75 y 100 cm de profundidad aproximadamente, con una separación entre ellos de unos 40 cm (Figura VII-1).

El método estándar de instalación empleado fue el descrito por Webster y col. (1993). Consistió en hacer un agujero en el suelo a la profundidad deseada, de un diámetro ligeramente superior al de la cápsula. La tierra sobrante se retiró con cuidado se colocó la cápsula en su interior, y se selló con una papilla de suelo de la capa superficial tamizado (< 2mm) y mezclado con agua, con objeto de evitar la existencia de flujo preferencial en sus alrededores. Los hidrocaptos se mantuvieron en el suelo durante aproximadamente tres años (periodo en el que se realizaron las experiencias de campo).

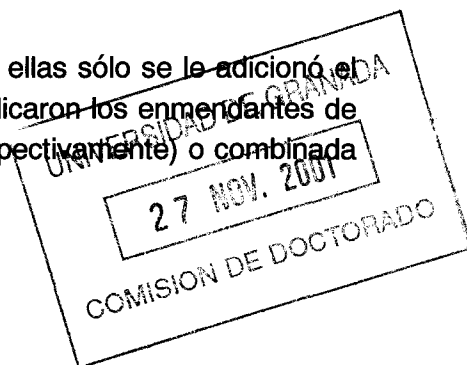
En cada uno de los hidrocaptos se podían distinguir dos partes: una cápsula inferior cerámica y un cilindro de PVC. La cápsula cerámica, encargada de coleccionar los lixiviados, tiene una longitud de unos 8 cm, 4,3 cm de d.i. y un espesor de 0,5 cm. La parte superior consiste en un tubo cilíndrico de igual diámetro y longitud variable, y fijado a la cerámica con pegamento para situar la cápsula a distintas profundidades en el perfil del suelo (Figura VII-2).



**Figura VII-2:** Hidrocaptor cerámico de succión.

## 2.2 Tratamiento con metidation, adición de los enmendantes.

De las cuatro parcelas mencionadas anteriormente a una de ellas sólo se le adicionó el insecticida y fue utilizada como control (S). En el resto se aplicaron los enmendantes de forma individual (SS y SL, enmiendas con TDTMA y lodo respectivamente) o combinada (SLS). (Figura VII-1).



Se llevaron a cabo tres tratamientos con el plaguicida mediante mochila, uno en 1998, otro en 1999 y el último en el año 2000.

El plaguicida metidation de la formulación en polvos mojables al 40% (Supracid 40WP), se aplicó a una concentración de las habitualmente empleadas en uso agrícola ( $1,2 \text{ kg ha}^{-1}$ , de Liñan, 2000) en cada uno de los tres tratamientos. Las parcelas con surfactante recibieron 12 g de TDTMA en el caldo con el metidation en el primer tratamiento, y 120 g en el segundo y tercer tratamientos, lo que suponía una concentración del surfactante de 10 y 100 veces la cmc, respectivamente, en el caldo de aplicación.

En las parcelas enmendadas con lodo, éste se mezcló con la capa superficial del suelo un día antes del primer tratamiento a una dosis de  $120 \text{ kg/parcela}$  ( $45 \text{ t ha}^{-1}$ ), cantidad que está dentro de los aportes habituales en manejos agrícolas (Bellin y col., 1990; Fresquez y col., 1990). Antes del segundo y tercer tratamiento se aplicó una cantidad similar, lo que supuso una enmienda del 3, 6 y 9% respectivamente, si se consideran por un lado los 10 primeros centímetros del suelo y por otro que no hubo prácticamente pérdidas entre los tratamientos, dado que no se cultivó la parcela y por lo tanto no se consumió la m.o.

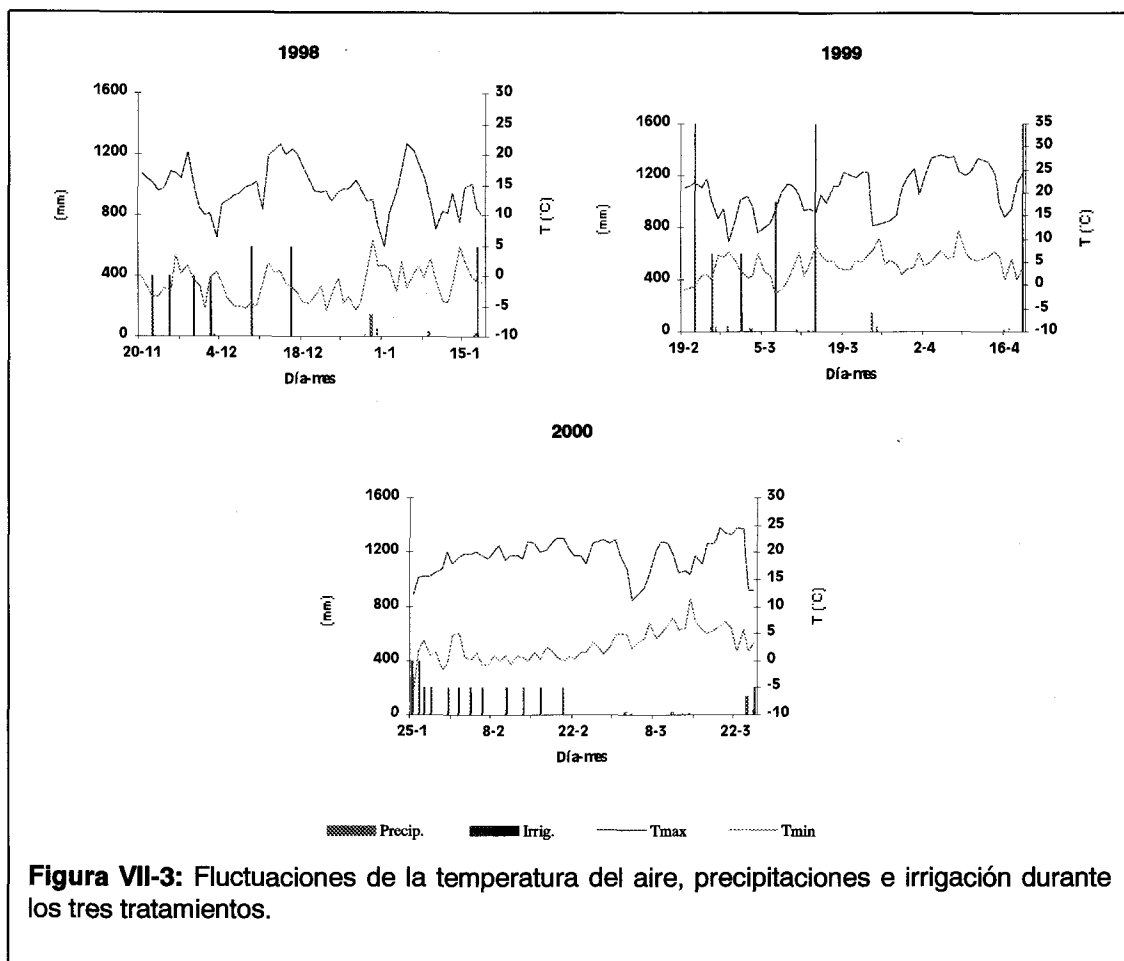
### 2.3 Irrigación aplicada y condiciones metereológicas

El agua de irrigación fue aplicada por aspersion (Figura VII-1) y procedía del sondeo de la finca, encontrándose el nivel freático en el momento de los tratamientos a unos 15 m de profundidad. Dada la proximidad del sondeo a la parcela, se confirmó la ausencia del insecticida en estudio en la misma, antes de proceder a su utilización.

La irrigación de las parcelas comenzó transcurridas 24 horas de la aplicación del insecticida en todos los tratamientos. Previamente a la aplicación del insecticida (24h) se aportó una dotación de riego de 100 mm en 1998; y de 190 mm en 1999 y el 2000, con el fin de saturar la parcela para la recogida de muestras acuosas inmediatamente después de la aplicación del insecticida. El total de agua de irrigación aplicada varió entre los tres tratamientos: 380 mm en el primer año (riego bajo), 900 mm en el año 1999 (riego intenso), y 470 mm en el tercero (riego moderado).

La irrigación previa tiene una gran importancia sobre los COH, ya que en suelos secos pueden producirse fenómenos de flujo preferencial en grietas y canales que impidan una interacción entre la solución y el suelo. White y col. (1986) observan este efecto con los herbicidas bromacilo y napropamida, en ensayos en columnas de suelo intactas.

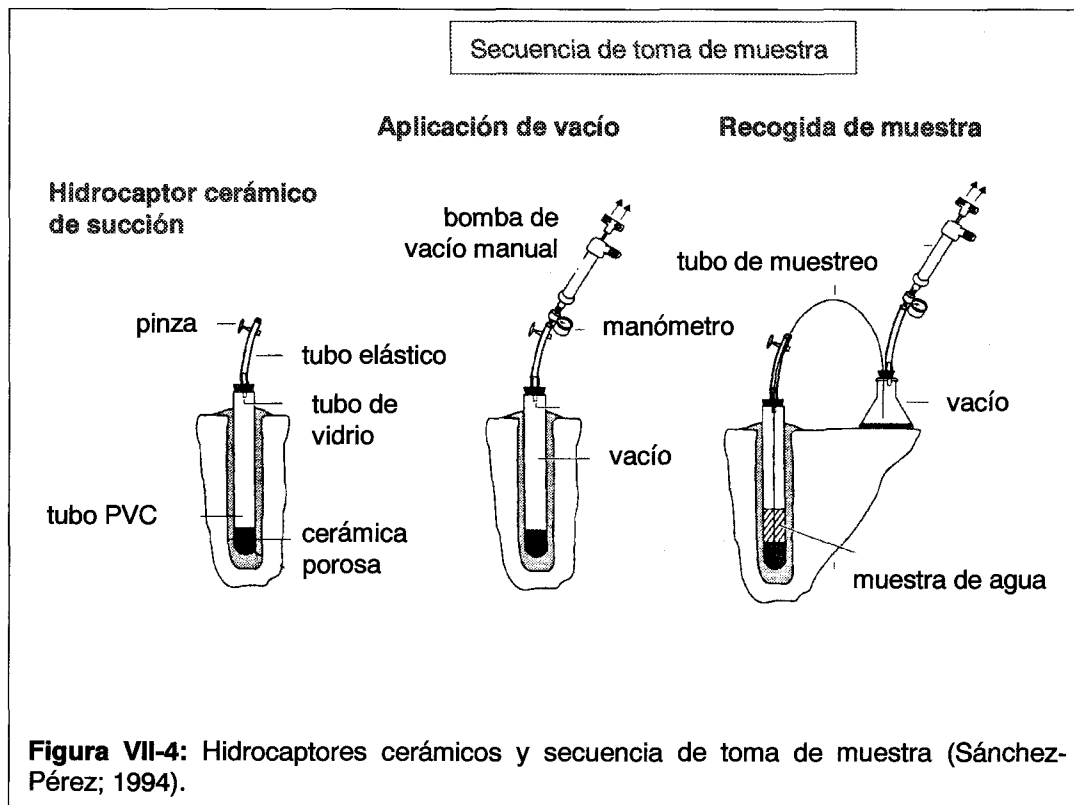
Las precipitaciones durante los periodos de muestreo fueron mínimas en comparación con el agua aportada por irrigación en los tres años, y las temperaturas oscilaron entre un valor mínimo de  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y un máximo de unos  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura VII-3). Los valores más bajos se obtuvieron durante el año 1998, mientras que en los años 1999 y 2000 se alcanzaron valores más altos de temperaturas máximas y mínimas.



**Figura VII-3:** Fluctuaciones de la temperatura del aire, precipitaciones e irrigación durante los tres tratamientos.

## 2.4 Toma de muestra

Para la toma de muestras acuosas se aplicó en cada uno de los hidrocaptores una presión de vacío baja (60 cbar), para reducir la variabilidad en los resultados (Bottcher y col., 1984) y tomar un volumen de muestra suficiente para el análisis por SPE (El Mabrouki y col., 1999), (Figura VII-4). Tras aplicar el vacío, entre un mínimo de 24 h y un máximo de 6 días, se obtuvieron las muestras acuosas, siguiendo el calendario mostrado en la Tabla VII-1, considerando el día 0 el del tratamiento.



Una vez recogidas, se trasladaron al laboratorio donde se mantuvieron refrigeradas (4°C) hasta su análisis (máximo, 24 h).

Las muestras de suelo se tomaron con ayuda de una barrena manual cilíndrica de 40 mm de diámetro, a las profundidades comprendidas entre 0-25, 50-75 y 100-110 cm, excepto durante el año 1998 en el que la toma de muestra de suelo superficial se realizó con una pequeña pala. Excepto en este último caso, los taladros realizados se rellenaron con una papilla de suelo (libre de plaguicida) tamizado en criba de 2 mm, a fin de impedir la existencia de flujos preferenciales dentro de las parcelas. Las muestras de la capa superficial se tomaron por duplicado, mientras que de las capas intermedia y profunda se tomó una única muestra en cada caso, debido a la dificultad del muestreo a esas profundidades.

Las muestras se guardaron en bolsas de plástico refrigeradas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , caso de no ser extraídas de inmediato, y su humedad se determinó secando una alícuota en estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  hasta pesada constante.

**Tabla VII-1:** Calendario de recogida de muestras de los años 1998, 1999 y 2000.

Tratamiento : 20 de Noviembre de 1998								
Toma de agua	Días desde el tratamiento							
	3	6	10	13	20	27	60	
25 cm	X	X		X	X	X	X	
75 cm			X	X	X	X	X	
100 cm			X	X	X	X	X	
Toma de suelo								
0-25 cm		X		X	X	X	X	
50-75 cm					X		X	
100-110 cm					X		X	
Tratamiento: 19 de Febrero de 1999								
Toma de agua	Días desde el tratamiento							
	0	3	6	11	17	24	60	
25 cm		X	X	X	X	X	X	
75 cm			X	X	X	X	X	
100 cm			X	X	X	X	X	
Toma de suelo								
0-25 cm	X	X	X	X	X	X	X	
50-75 cm			X		X	X	X	
100-110 cm			X		X	X	X	
Tratamiento: 25 de Enero del 2000								
Toma de agua	Días desde el tratamiento							
	0	1	3	7	10	14	21	28
25 cm		X	X	X	X	X	X	X
75 cm				X	X	X	X	X
100 cm					X	X	X	X
Toma de suelo								
0-25 cm	X	X	X	X	X	X	X	X
50-75 cm						X		X
100-110 cm						X		X

## 2.5 Métodos de análisis

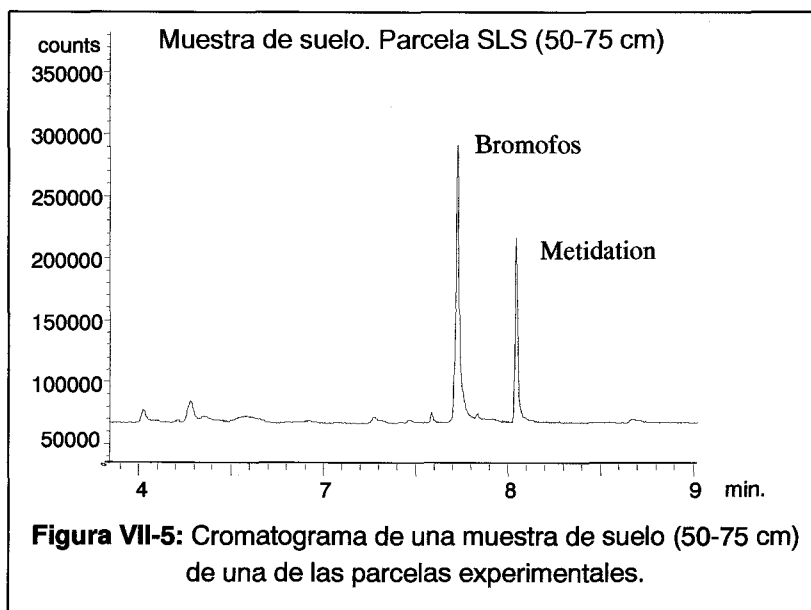
Antes del análisis de las muestras acuosas se confirmó en el laboratorio que soluciones acuosas de metidation no sufrían variaciones en su concentración por adsorción sobre el hidrocaptor, incluso a los bajos niveles de concentración previstos ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Las muestras de agua, se concentraron mediante cartuchos de extracción en fase sólida C18 según el procedimiento descrito en el apartado II.3.1.

Si el volumen de agua recogido en los tomamuestras era superior a 200 mL, se procesó este volumen de agua, y tras su concentración se disolvió en 200  $\mu\text{L}$  de hexano, a los que se añadieron 25  $\mu\text{L}$  de una solución de bromofós a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  como P.I. Cuando el volumen de muestra disponible fue inferior, la muestra se procesó del mismo modo, pero se llevó a un volumen menor de hexano, añadiendo una cantidad proporcional de P.I. Aunque el

metidation en agua o retenido en el cartucho es estable a 4 y  $-18^{\circ}\text{C}$  durante periodos de almacenamiento prolongados (de la Colina, 1996 y de la Colina y col., 1997), todas las muestras de agua se analizaron en un periodo no superior a 24 h.

Para cada muestra de suelo (tras ser homogeneizada), se pesaron por duplicado unos 25 g de suelo y se extrajeron en Soxhlet con una mezcla H:T (1:1) durante 2 h para los tratamientos realizados en 1998 y 1999, y con acetona (6h) en los del año 2000, según lo descrito en el apartado II.5.1. En la Figura VII-5 se muestra el cromatograma obtenido tras el análisis de una muestra de suelo. Como se observa, a pesar de la mayor complejidad de la matriz, el cromatograma muestra una línea de base limpia, dada la especificidad del detector empleado.



## 2.6 Aplicación del modelo FOCUSPELMO

La modelización del comportamiento del insecticida metidation durante los tres años que duró la experiencia de campo, se llevó a cabo con el modelo matemático FOCUSPELMO 1.1.1.

Los datos necesarios para la utilización del modelo son:

- Datos climatológicos: precipitación diaria, temperatura media diaria, humedad relativa del aire a las 2.00 pm.
- Parámetros del suelo: densidad real del suelo, contenido en carbono orgánico, constantes de degradación, y descripción de la textura del suelo.
- Parámetros del plaguicida:  $K_{oc}$ ,  $K_d$  o  $K_f$ ; exponente de Freundlich ( $1/n$ ), tiempo de vida media, temperatura durante el estudio de degradación, dosis de aplicación del plaguicida, y la profundidad de la aplicación.



Los datos climatológicos empleados fueron obtenidos a través del Instituto Nacional de Meteorología del Ministerio de Medio Ambiente. Los datos fueron tomados por una estación meteorológica situada en el aeropuerto de Granada, cuya localización es muy próxima a la de la parcela experimental.

Las características del suelo empleadas fueron las del suelo de la parcela según análisis hechos con anterioridad y que se reflejaron en la Tabla II-5. La enmienda con lodo se supuso que tuvo lugar (de forma aproximada) en los 10 primeros centímetros, y para la introducción de estos parámetros en el modelo el suelo se dividió en 3 o 4 capas con distinto contenido en C.O. según la enmienda realizada.

En cuanto a los parámetros del plaguicida, se han utilizado los valores de las constantes de adsorción y de degradación de metidation obtenidos en los ensayos de laboratorio.

Las constantes de degradación empleadas, fueron las obtenidas en los ensayos de incubación (S: 0,089, SL: 0,097, SS: 0,099 y SLS: 0,098 días<sup>-1</sup>).

### 3 Resultados y discusión

En este apartado se discutirá la eficacia de los hidrocaptadores en la colección de muestras acuosas, así como los resultados obtenidos en la recolección de muestras acuosas y de suelo. Tanto para la interpretación de los datos obtenidos de las muestras acuosas como de las muestras de suelo, hay que resaltar el hecho de que la concentración de plaguicida aplicado fue muy próxima a la habitual en tratamientos agrícolas (de Liñán, 2001). El propósito era simular un comportamiento natural del insecticida en el suelo y de emular la capacidad de contaminación que posee un tratamiento convencional en la ZNS ensayada.

Para finalizar, se compararán los resultados experimentales obtenidos con los teóricos de la simulación del comportamiento de metidation con el modelo PELMO.

#### 3.1 Rendimiento de los hidrocaptadores

Para conocer la posible lixiviación de una sustancia a través del suelo, se deben tomar muestras de agua. Existen dos formas para extraer agua del suelo (Bottcher y col., 1984): tomar una muestra de suelo y analizar el agua que se encuentre en su interior (métodos directos), o tomar muestras de agua con algún sistema de extracción (cápsulas de succión), de forma que el suelo quede intacto (métodos indirectos).

Del análisis de las muestras de suelo se obtienen resultados más precisos, pero este método presenta la desventaja de que el muestreo no puede realizarse de forma continua, ya que se pueden alterar las propiedades del suelo (Bottcher y col., 1984; Deschauer, 1995).

El método de extracción de agua de suelo, propuesto por primera vez por Briggs y McCall (1904), presenta la ventaja que es barato, fácil, no altera las propiedades del suelo y se

puede realizar de forma repetitiva (Grossman y Udluft, 1991). Las principales desventajas son que el suelo debe estar saturado para poder coleccionar la muestra, y que la muestra tomada puede no ser representativa del agua que se mueve por gravedad, debido a que su movimiento es demasiado rápido (Shaffer y col., 1979). También puede cambiar el flujo natural de agua a través del suelo alrededor de la cápsula y, como consecuencia, que la muestra que se recoja no sea representativa de la profundidad a la que fue tomada (van der Ploeg y Beese, 1977).

Las cápsulas más utilizadas son las cerámicas, aunque también existen cápsulas de óxido de aluminio, nylon, PVC, teflón (Grossmann y col., 1987, Litaor, 1988) y otros materiales (Beler y col., 1992; Jones y Edwards, 1993; Wessel-Bothe y col., 2000).

Aunque la mayoría de los trabajos realizados con cápsulas cerámicas se han utilizado para el estudio del comportamiento de cationes inorgánicos (Bottcher y col., 1984; Nagpal 1982; Beier y Hansen, 1992; Lord y Shepherd; 1993), también se han empleado para el estudio del comportamiento de plaguicidas en campo (Adams y Thurman, 1991; Beltran y col., 1995a). De acuerdo con los resultados de la bibliografía, y dado que los volúmenes colectados eran en general altos, se emplearon cápsulas cerámicas para estudiar el comportamiento de metidation en el agua que se mueve en el perfil del suelo.

El rendimiento de los hidrocaptadores cerámicos, está principalmente relacionado con las dotaciones, intensidades y cadencias de riego aplicadas. La Tabla VII-2 expresa la eficacia de los hidrocaptadores en la toma de agua, en relación al calendario de muestreo previsto (Tabla VII-2).

**Tabla VII-2:** Eficacia (%) en la toma de muestras acuosas de las cápsulas a distintas profundidades y durante los tres tratamientos según los calendarios de muestreo previstos.

Profundidad	Parcela S			Parcela SL			Parcela SS			Parcela SLS		
	1998	1999	2000	1998	1999	2000	1998	1999	2000	1998	1999	2000
25 cm	84	100	100	100	100	86	84	100	86	100	100	86
75 cm	80	100	60	100	100	100	40	100	100	80	100	100
100 cm	40	40	50	80	100	75	0	100	75	40	100	100

Una eficacia del 100%, denota que se obtuvieron todas las muestras previstas (Tabla VII-2). Valores inferiores implican que en todas o alguna de las ocasiones no se pudo obtener muestra. Los rendimientos más elevados en el periodo de muestreo (con valores del 100 % en la mayoría de las profundidades) corresponden al tratamiento llevado a cabo en 1999, año en el que se empleó el mayor volumen de irrigación. En los otros tratamientos, los valores varían según el año y la profundidad, no existiendo una tendencia clara en el comportamiento de una misma cápsula a lo largo del tiempo. Sí hay que destacar el hecho de que, en general, la eficacia en el muestreo disminuye con la profundidad, y que las cápsulas de la capa más profunda fueron las que más fallaron en los tres muestreos.

Los fallos de toma detectados se debieron posiblemente a una humedad insuficiente o a problemas en los hidrocaptadores, generalmente ocasionados por despegues del "encofrado" arcilloso de la cápsula. En la parcela enmendada con lodo (SL), el rendimiento de todos los hidrocaptadores fue muy alto durante los tres años. Una posible explicación sería una disponibilidad de agua por su proximidad a la acequia de riego, ya que no se detectaron diferencias apreciables en las características de suelo de las distintas parcelas utilizadas.

En la Tabla VII-3 se expresa el volumen medio de agua recogido por los hidrocaptadores durante el periodo de muestreo en cada uno de los tratamientos, junto con la desviación estándar de cada una de las medias.

**Tabla VII-3:** Volumen medio de agua recogido en cada una de las cápsulas en cada tratamiento.

Riego aplicado	Profundidad	Parcelas			
		S	SL	SS	SLS
380 mm (1998)	25 cm	279 ± 170	274 ± 74	229 ± 65	117 ± 47
	75 cm	460 ± 114	548 ± 114	147 ± 49	463 ± 40
	100 cm	64 ± 8	420 ± 280	-	80
900 mm (1999)	25 cm	343 ± 67	148 ± 39	228 ± 50	66 ± 17
	75 cm	510 ± 245	751 ± 112	697 ± 230	708 ± 250
	100 cm	44 ± 9	279 ± 240	<b>582 ± 236*</b>	350 ± 97
480 mm (2000)	25 cm	275 ± 104	67 ± 30	178 ± 72	70 ± 69
	75 cm	104 ± 48	352 ± 382	241 ± 40	475 ± 311
	100 cm	46 ± 37	32 ± 12	<b>18 ± 4*</b>	83 ± 36

\*Datos correspondientes a una nueva cápsula instalada antes de comenzar el tratamiento en 1999, debido a que la anterior no colectó agua. Esta cápsula fue la utilizada hasta finalizar el tratamiento del año 2000.

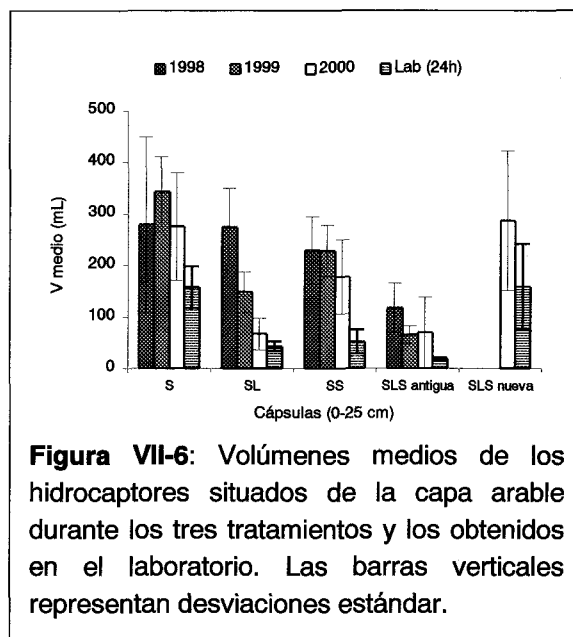
El volumen medio de agua recogido en cada hidrocaptor nunca superó los 850 mL, con un valor medio de unos 280 mL, similar al conseguido en otros trabajos (Sánchez Pérez, 1994; Adams y Thurman, 1991). Las altas desviaciones estándar que se obtienen en el cálculos de estos valores medios, indican la irregularidad de los volúmenes de agua recolectados por las cápsulas a lo largo del periodo de muestreo. En esta tabla se observa cómo los volúmenes de agua recogidos a una misma profundidad y durante el mismo año no son similares, ni parece existir una relación clara de los volúmenes obtenidos con las dotaciones de riego aplicadas. Excepto en la toma de agua de la profundidad intermedia durante el tratamiento del año 1999 que es claramente superior a las otra dos, en la capa superior e inferior los volúmenes obtenidos en el año 2000 son similares o menores a los que se obtuvieron en el año 1998, para el que la irrigación aplicada fue menor.

Tras observar que los volúmenes colectados por las cápsulas disminuyeron a lo largo de los tratamientos, se colocó una nueva cápsula en la capa arable de la parcela SLS, antes de realizar el tratamiento del año 2000. Durante este último tratamiento se recogió agua de todas las cápsulas colocadas al inicio de las experiencias, y de la nueva cápsula

situada en la parcela SLS, de forma que esta parcela se obtuvieron datos por duplicado de los lixiviados de la capa arable.

Una vez finalizadas las experiencias en el campo, todas las cápsulas de la capa arable se extrajeron de las parcelas y se llevaron al laboratorio para comprobar su eficacia. Para ello se desprendió manualmente la tierra adherida a la superficie de las cápsulas cerámicas y se sumergieron en solución acuosa aplicando un vacío similar al utilizado en el campo (60 cbar), durante 24 h.

En la Figura VII-6 se muestran los volúmenes medios de agua recogidos por los hidrocaptadores de capa superficial de las distintas parcelas a lo largo de los tres tratamientos, y en las experiencias llevadas a cabo en el laboratorio. Se puede observar cómo el hidrocaptor de la parcela S es el que recoge los mayores volúmenes, y que éstos son más similares entre los tratamientos. En el resto de los casos, muestran una tendencia a recolectar cada vez un volumen más pequeño, incluso cuando el riego aportado en los últimos años fue superior al primero.



**Figura VII-6:** Volúmenes medios de los hidrocaptadores situados de la capa arable durante los tres tratamientos y los obtenidos en el laboratorio. Las barras verticales representan desviaciones estándar.

En cuanto a los volúmenes colectados en el laboratorio, éstos siguieron la misma tendencia que la observada en el campo, siendo mayores los encontrados en la parcela S y los del nuevo hidrocaptor de la parcela SLS.

Todos estos hechos parecen indicar que las cápsulas sufren un proceso que hemos denominado de “envejecimiento”, cuando se mantienen enterradas durante un periodo de tiempo prolongado en el suelo.

Este proceso, que podría conllevar una obturación de la cerámica y haría que las cápsulas recogieran volúmenes de agua cada vez mas pequeños, se observado mayoritariamente en las situadas en la capa arable. Este hecho los achacamos a la naturaleza carbonatada de la capa arable de los suelos de la Vega (34 %  $\text{CaCO}_3$ ), que pudo dar lugar a depósitos sobre la cerámica, alterando la porosidad del material.

Los resultados están en contradicción con otros autores (Jones y Edwards, 1993), que recomiendan un acondicionamiento de los hidrocaptadores durante unos cuantos años para evitar “bias” (sesgos) en los resultados obtenidos con algunos compuestos de naturaleza iónica, y que una vez instalados pueden ser usados durante años (Lord y Shepherd, 1993).

### 3.2 Efecto de los enmendantes en la lixiviación de metidation

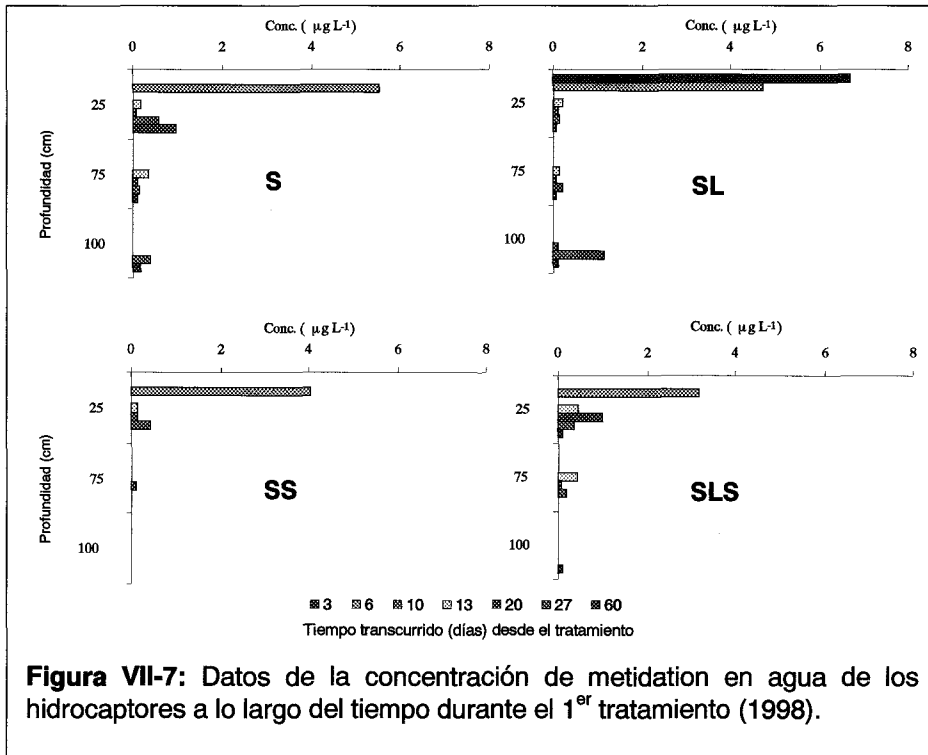
Debido a que la dosis de plaguicida añadida fue similar a la empleada en las prácticas agrícolas, las concentraciones determinadas en las muestras de agua fueron extremadamente bajas (no superiores a  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ , excepto en una muestra). En la mayoría de los casos, toda el agua recogida por la cápsulas fue procesada, y los resultados obtenidos corresponden a una única muestra dada la imposibilidad de repetición. En las Figuras VI-7, 8 y 9 se representan las concentraciones de plaguicida en las muestras acuosas colectadas por los hidrocaptos a las tres profundidades estudiadas y durante los tres tratamientos.

Durante el primer tratamiento (año 1998) la concentración de metidation en los lixiviados de la capa arable no superó los  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ . Los valores encontrados a otras profundidades fueron muy bajos ( $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), con la excepción de una muestra de la parcela SL tomada a día 27 de la cápsula situada a mayor profundidad, que se ha considerado como un hecho aislado.

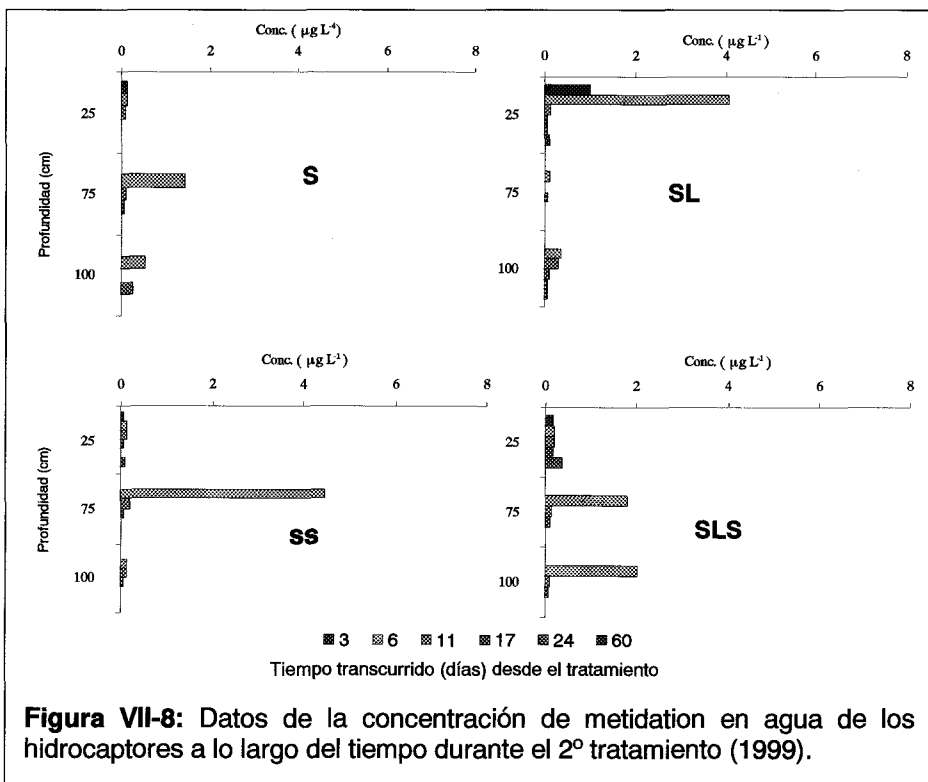
En las muestras tomadas durante el segundo tratamiento, la concentración máxima de plaguicida en los lixiviados de las cápsulas situadas en la capa arable alcanzó  $4 \mu\text{g L}^{-1}$ . Lo que se observa en este tratamiento es una disminución drástica de la concentración de metidation obtenida en los lixiviados de las cápsulas superficiales. Sin embargo se obtienen unos valores más altos que en la experiencia anterior en las capas intermedia y profunda a día 6, lo que se puede relacionar con una movilidad más alta del plaguicida debido al alto volumen de irrigación empleado.

En el tercer tratamiento (año 2000), se confirma la existencia de una reducción de la concentración del insecticida existente en los lixiviados de la capa arable, excepto en la parcela SLS. Como se ha mencionado anteriormente, debido a la falta de eficacia en la recolección de muestra, se introdujo una nueva cápsula en esta parcela, y se determinó la concentración del insecticida en ambas, nueva y vieja, para establecer posibles diferencias. Como puede observarse, las concentraciones determinadas en ambas cápsulas fueron distintas. Las concentraciones encontradas a otras profundidades fueron en general bajas ( $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), existiendo un par de casos en los que la concentración obtenida rondó los  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ , y un caso excepcional en el que la concentración casi alcanzó  $18 \mu\text{g L}^{-1}$ . El transporte de plaguicidas a capas profundas y en un tiempo relativamente corto ( $t = \text{días}$ ) y se ha reseñado con anterioridad para otros compuestos como linuron o monolinuron (Guzzella y col., 2000).

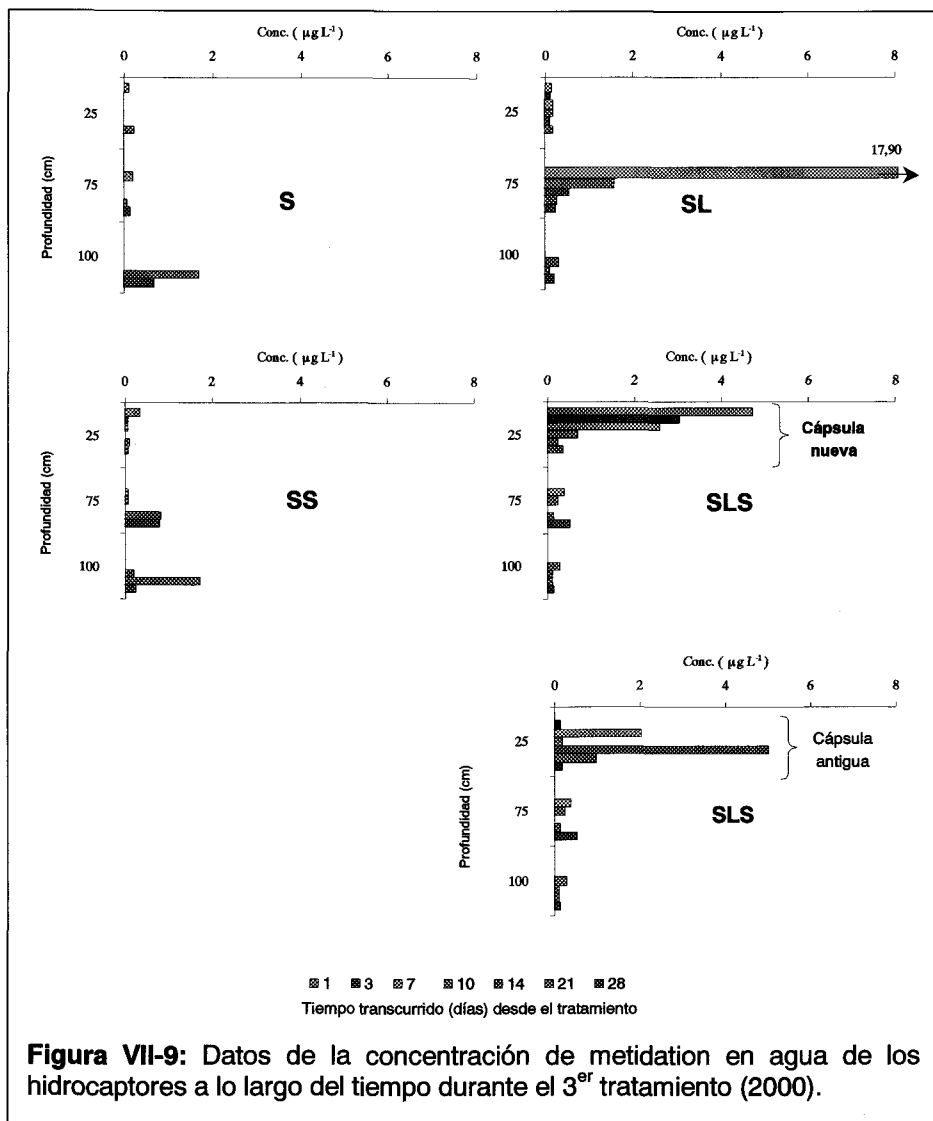
Este mismo fenómeno se ha observado (Beltrán y col., 1995) para metidation y dimetoato en tres ensayos realizados durante un periodo de un año con hidrocaptos cerámicos. En los tres tratamientos los insecticidas se encontraron a 1,5 m de profundidad a una concentración de entre 2 y 200 veces superior a la hallada a 0,5 m. Dado que las características fisicoquímicas del metidation favorecen la retención del plaguicida en el suelo, por lo que se ha catalogado como de movilidad intermedia según el índice GUS (Gustafson, 1989), este fenómeno se ha explicado como de flujo preferencial.



**Figura VII-7:** Datos de la concentración de metidation en agua de los hidrocaptors a lo largo del tiempo durante el 1<sup>er</sup> tratamiento (1998).



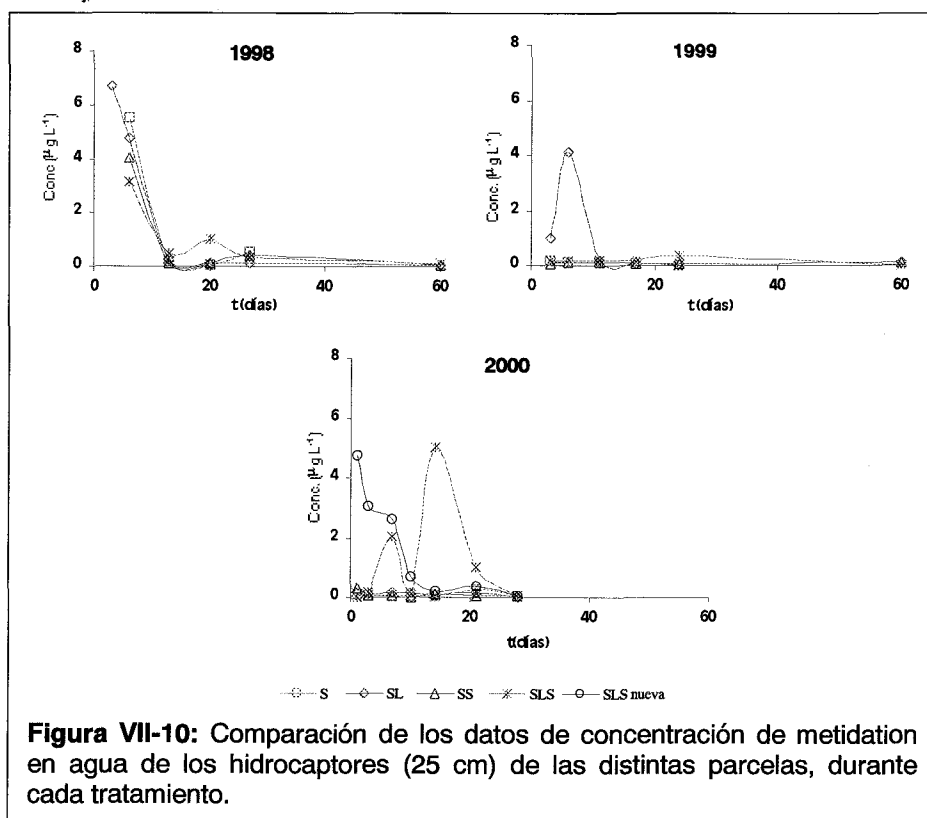
**Figura VII-8:** Datos de la concentración de metidation en agua de los hidrocaptors a lo largo del tiempo durante el 2<sup>o</sup> tratamiento (1999).



Según indica Flury (1994) hay que tener en cuenta que una de las principales causas de la contaminación de acuíferos por plaguicidas es debida a fenómenos de flujo preferencial. La existencia de este tipo procesos depende de las características del suelo, la presencia de grietas o canales realizados por lombrices, y del método de irrigación empleado (Flury y col. 1994). Los sistemas de irrigación por aspersión contribuyen en menor medida a la existencia de fenómenos de este tipo que otros métodos como la irrigación por inundación (Troiano y col., 1994; Flury y col., 1994).

En nuestro caso y debido a que el sistema de irrigación elegido fue por aspersión y a que antes de la aplicación del plaguicida a las parcelas se les dio un labor superficial, se ha reducido la existencia de fenómenos de este tipo (Hall y col., 1989; Isensee y col., 1990; Starr y col., 1990; Steenhuis y col., 1990). Sin embargo la introducción de los hidrocaptos en el suelo puede dar lugar a la formación de grietas alrededor de las cápsulas. Este hecho unido a la elevada irrigación empleada durante 1999 puede ser responsable de fenómenos de flujo preferencial, indicados por la llegada masiva y a tiempos cortos del plaguicida a capas profundas del suelo.

Para poder estudiar las diferencias entre los tratamientos se han realizado los gráficos de la Figura VII-10 donde se comparan los datos de concentración obtenidos por las cápsulas situadas en la capa arable para cada uno de los tratamientos. Los datos a otras profundidades no se han representado porque excepto los obtenidos durante 1999, y alguna otra excepción, fueron muy bajos (Figuras VII-7, 8 y 9).



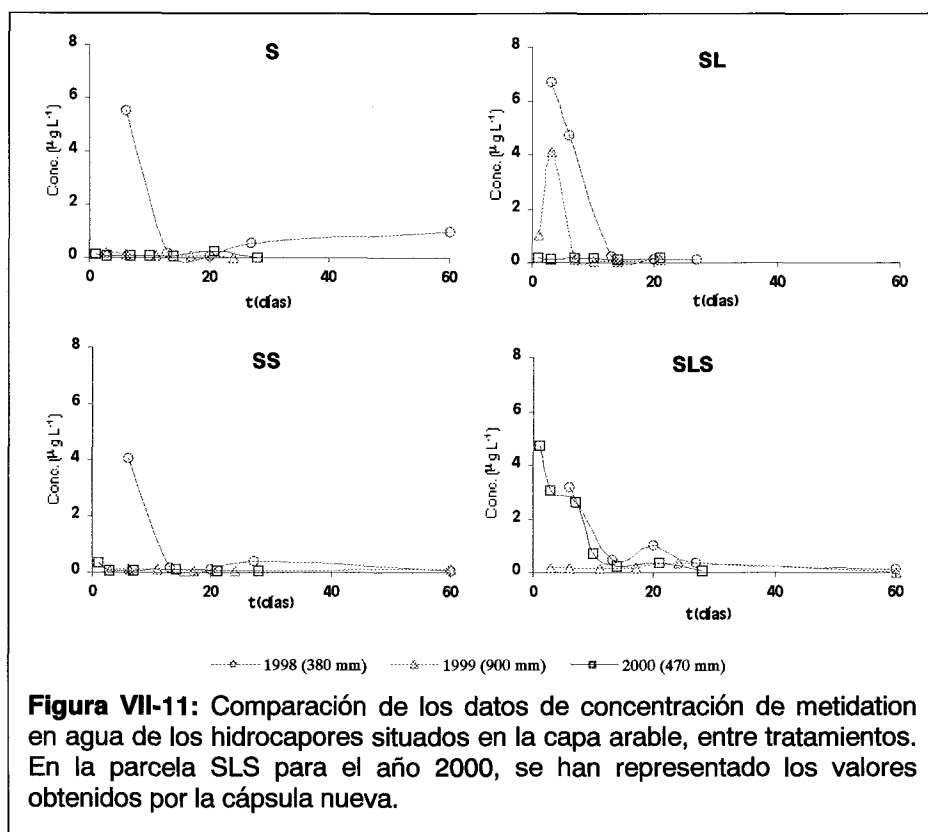


En un mismo año las diferencias de concentración de metidation en las distintas parcelas son muy pequeñas, y la concentración en los lixiviados disminuye rápidamente a lo largo del tiempo. Las mayores diferencias, se obtuvieron en los primeros días del tratamiento llevado a cabo en 1998. En el año 1999, excepto en dos muestras iniciales de la parcela S, las concentraciones encontradas fueron en general bajas, lo que pudo ser debido a la mayor dotación de riego aplicada.

En el año 2000 lo más notable son los distintos valores de concentración encontrados en la cápsula instalada en el año 2000 (nueva) y la que se mantuvo en la parcela los tres años que duró la experiencia, ya que en el resto de las cápsulas los valores fueron similares y muy bajos. No hemos encontrado resultados similares sobre la falta de reproducibilidad de los datos de concentración de plaguicidas cuando se usan cápsulas cerámicas.

Sin embargo, otros autores sí han observado una alta variabilidad espacial cuando se usan cápsulas cerámicas en el análisis de cationes inorgánicos (Böttcher y Strebel, 1988a y b; Scott-Wendt y col., 1988; Wopereis y col., 1988) o plaguicidas (Smith y Parrish, 1993; Beltrán y col., 1995; Guzzela y col., 2000). Esta variabilidad la atribuyen tanto a las características del suelo (Beier y Hansen, 1992), como a diferencias en las características químicas de las propias cápsulas, debida a los procesos de fabricación de las mismas (Hughes y Reynolds, 1990). También se ha atribuido a la existencia de distintos mecanismos de transporte, fenómenos de flujo preferencial o a la heterogeneidad del suelo (Guzzela y col., 2000).

Para comprobar si el incremento de la enmienda produjo algún cambio en las concentraciones encontradas en los lixiviados entre los tres tratamientos, se han representado los resultados obtenidos por una misma cápsula durante los tres años (Figura VII-11).

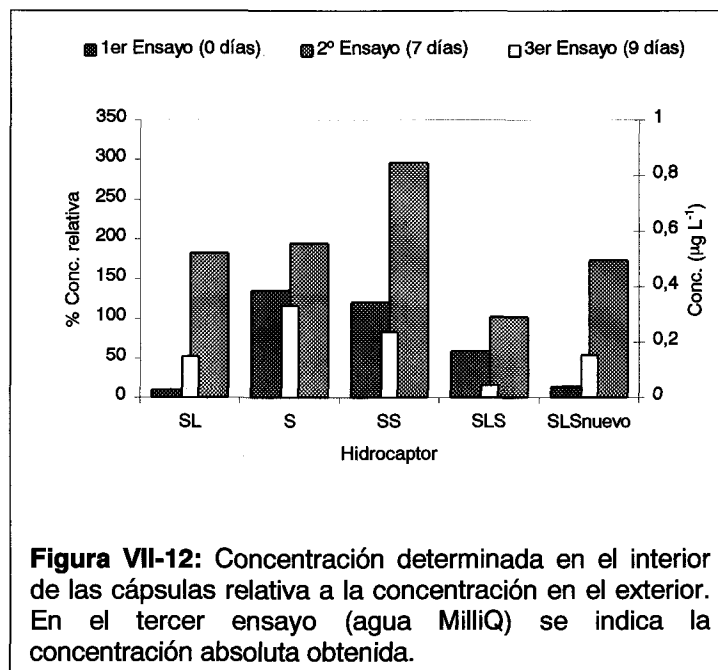


Entre tratamientos es de destacar de nuevo, el hecho de que las concentraciones más elevadas se obtuvieran durante el primer tratamiento (año 1998).

En las parcelas S y SS, no existen diferencias entre el segundo y tercer tratamiento. En la parcela SL, los valores obtenidos en el año 1999 son menores a los obtenidos en 1998, debido probablemente a que el volumen de irrigación aplicado fue mayor. En la gráfica que muestra los valores obtenidos en la parcela SLS, se han representado las concentraciones obtenidas con la cápsula nueva en el año 2000, junto con los valores de la antigua de los años anteriores. Como se puede observar en el gráfico, los valores encontrados en la nueva cápsula son muy similares a los obtenidos por la cápsula antigua en el primer tratamiento.

La disminución de la concentración de metidation entre tratamientos podría explicarse por el aumento de la dotación de riego (en especial en 1999) y por la adición de los enmendantes, en particular como veremos más adelante debido a la adición de lodo. Sin embargo en la parcela control (S) y en la de surfactante (SS), tan solo debería manifestarse el efecto del riego, y los valores de concentración para el año 2000 deberían ser superiores a los encontrados en la parcela SLS, debido a que ésta se enmendó con lodo. La drástica reducción observada en las concentraciones parecen reflejar cómo la eficacia de los hidrocaptos para determinar la concentración del insecticida en los lixiviados disminuye a lo largo del tiempo, y se ve afectada por el proceso de envejecimiento anteriormente mencionado.

Debido a la falta de concordancia entre los resultados obtenidos en la cápsula antigua y nueva de la parcela SLS, todos los hidrocaptos de la capa arable se retiraron en marzo del 2000, y se llevaron al laboratorio. Para comprobar si las cápsulas retenían al plaguicida, y si los resultados obtenidos por las cápsulas en iguales condiciones eran similares, se sumergieron en distintas alícuotas de una misma solución acuosa del plaguicida preparada a  $0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ , repitiendo esta experiencia dos veces (1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> ensayo). Posteriormente cada una de las cápsulas se introdujo por separado en volúmenes similares de agua MilliQ (3<sup>er</sup> ensayo). Para succionar el agua de las soluciones acuosas, se aplicó un vacío similar al utilizado en el campo (60 cbar) durante 24 h en cámara termostatazada a 10 °C. Transcurrido este tiempo se analizó el agua colectada en el interior y el exterior de las cápsulas. En la Figura VII-12 se representan los obtenidos.



En el primer ensayo destaca la falta de reproducibilidad en la medida de la concentración de metidation por las distintas cápsulas, a pesar de que la concentración utilizada en todos los casos la misma. En el segundo ensayo además de la alta variabilidad, las concentraciones encontradas en el interior de las cápsulas fueron superiores a las obtenidas en el caso anterior. Esto refuerza la idea del "efecto de recuerdo", en la determinación de la cantidad de plaguicida, debido probablemente a la retención del plaguicida por la superficie modificada de la cerámica. Para confirmar esta suposición se decidió repetir la experiencia utilizando agua MilliQ (3<sup>er</sup> ensayo). Los resultados que se muestran en la Figura VII-2 confirman la hipótesis propuesta, sin que pueda establecerse ninguna relación con las concentraciones obtenidas en el ensayo anterior.

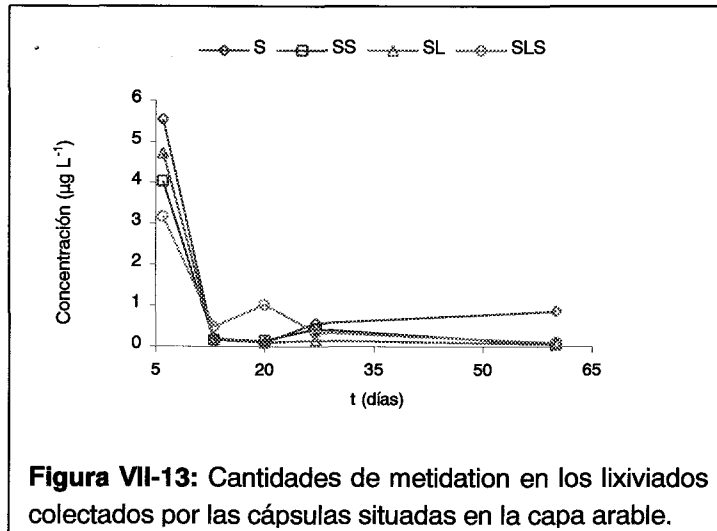
Estos hallazgos pueden estar relacionados con el proceso de envejecimiento de las cápsulas, mencionado anteriormente y no han sido descritos por otros autores. Beltrán y col. (1995) en el estudio de la presencia de metidation en los lixiviados durante un periodo de un año utilizan dos tipos de hidrocaptos cerámicos de succión. En este estudio las cantidades de metidation recogidas durante el 3<sup>er</sup> tratamiento en los hidrocaptos de la capa superficial son 10-20 veces inferiores a los del 1<sup>er</sup> tratamiento, aún cuando la concentración de insecticida aplicado fue la misma. Una reducción similar se observa para dimetoato. Aunque en el trabajo no se señala este hecho, podría tratarse de un efecto similar al observado en nuestros ensayos.

Debido a que en la experiencia inicial con las cápsulas antes de introducirlas en el suelo se vio que las cápsulas no retenían al insecticida, este proceso pudo ser debido al largo periodo que permanecieron enterradas en el suelo, y estar relacionado con las características carbonatadas del suelo. Haberhauer y Gerzabek (2000), postulan que un

largo tiempo de contacto de las cápsulas con el suelo puede alterar la superficie de las mismas y modificar el comportamiento del material poroso en los fenómenos de adsorción.

Aunque algunos autores (Lord y Shepherd, 1993) consideran que una vez se ha instalado la cápsula en el suelo ésta puede ser utilizada durante años, tras los resultados obtenidos hay que poner en duda esta afirmación. Para el análisis de compuestos hidrófobos, como el plaguicida en estudio, sería conveniente reemplazarlas antes de comenzar un nuevo ensayo, debido tanto a la reducción en los volúmenes colectados, como a la falta de reproducibilidad en la determinación de la concentración. Sin embargo la instalación anual también puede producir problemas de flujo preferencial (Grossman y Udluft, 1991; Lord y Shepherd, 1993).

Si consideramos los datos de 1998 como los más fiables, vemos que las mayores diferencias se obtienen pasados 6 días (Figura VII-13). Los valores encontrados transcurridos este tiempo, siguen la misma tendencia encontrada en ensayos de laboratorio mediante isoterma de adsorción, para la enmienda con lodo al 4% y TDTMA a 10 cmc, de forma conjunta o por separado (Tabla III-4). Teniendo estos resultados en cuenta, la parcela tratada sólo con el plaguicida es la que menos metidation retendría, y la concentración en los lixiviados seguiría el orden  $S > SL >> SS > SLS$ , similar a lo obtenido experimentalmente.



Los datos de concentración obtenidos, teniendo en cuenta el aporte de C.O. que suponen los distintos enmendantes, se comparan con el efecto que produjeron estos enmendantes en la proporción más similar de los ensayos de adsorción (Capítulo III). Los porcentajes se han calculado para los primeros 10 cm de suelo (Tabla VII-5).

**Tabla VII-4:** Comparación del aporte de C.O. que produce la adición de los enmendantes en el tratamiento de campo del año 1998 y en los ensayos de adsorción.

Campo (1998)	%C.O.		Ensayos de adsorción		
	Lodo	TDTMA	Lodo	TDTMA	Kf / %Ads
S	-	-	S	-	2,7 / 29 ± 3
SL (3%L)	6,9 X10 <sup>-1</sup>	-	SL (2%L)	4,6 x10 <sup>-1</sup>	2,5 / 36 ± 3
SS (12 mg /parcela)	-	1,9 x 10 <sup>-4</sup>	SS (1 cmc)	2,4 x 10 <sup>-2</sup>	2,6 / 33 ± 3
SLS (3%L + 12 mg /parcela)	6,9 X10 <sup>-1</sup>	1,9 x 10 <sup>-4</sup>	*	-	-

\*Para este caso no se tienen valores experimentales para valores similares de enmienda.

La enmienda realizada durante este tratamiento se puede comparar con los ensayos de adsorción en los que se empleó lodo al 2% y TDTMA a 1 cmc. Para valores similares de una enmienda conjunta no se tienen datos experimentales.

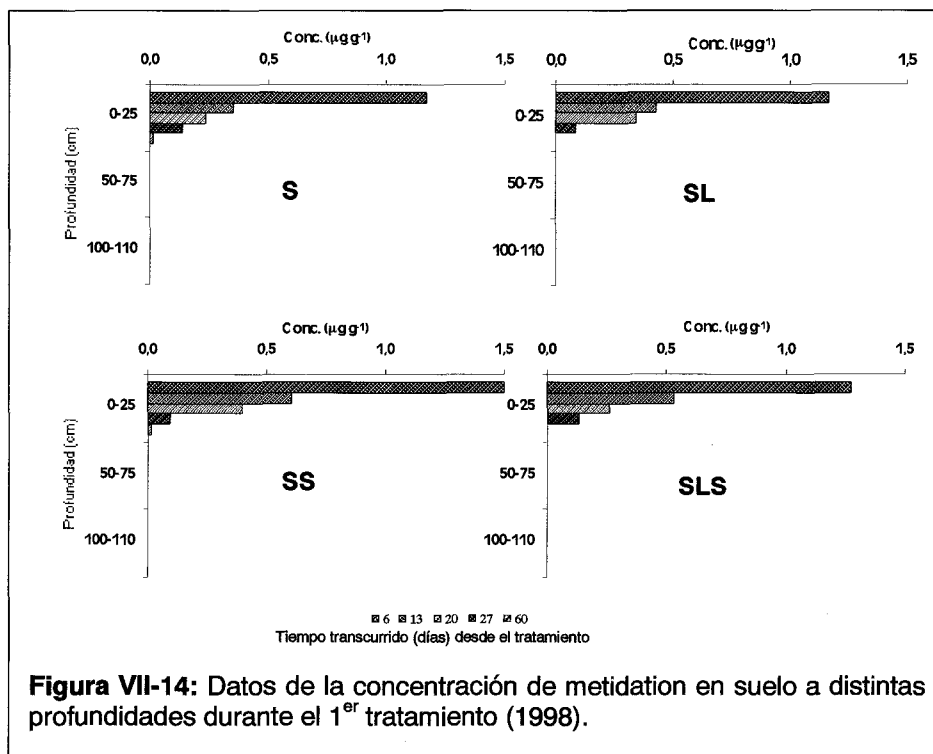
Aunque la cantidad de TDTMA añadida al suelo es más baja que la que produzco un ligero efecto a 1 cmc (2,4 x 10<sup>-2</sup> %), hay que tener en cuenta que ha sido calculada para un espesor de 10 cm, y que será mayor si se considera una capa de suelo más delgada. Si se tiene en cuenta esto, podríamos explicar los resultados obtenidos, y a pesar de no disponer de datos de adsorción para valores de enmienda de TDTMA a 1 cmc y lodo al 2%, es de suponer que se produjo un efecto aditivo y la adsorción se incrementó ligeramente.

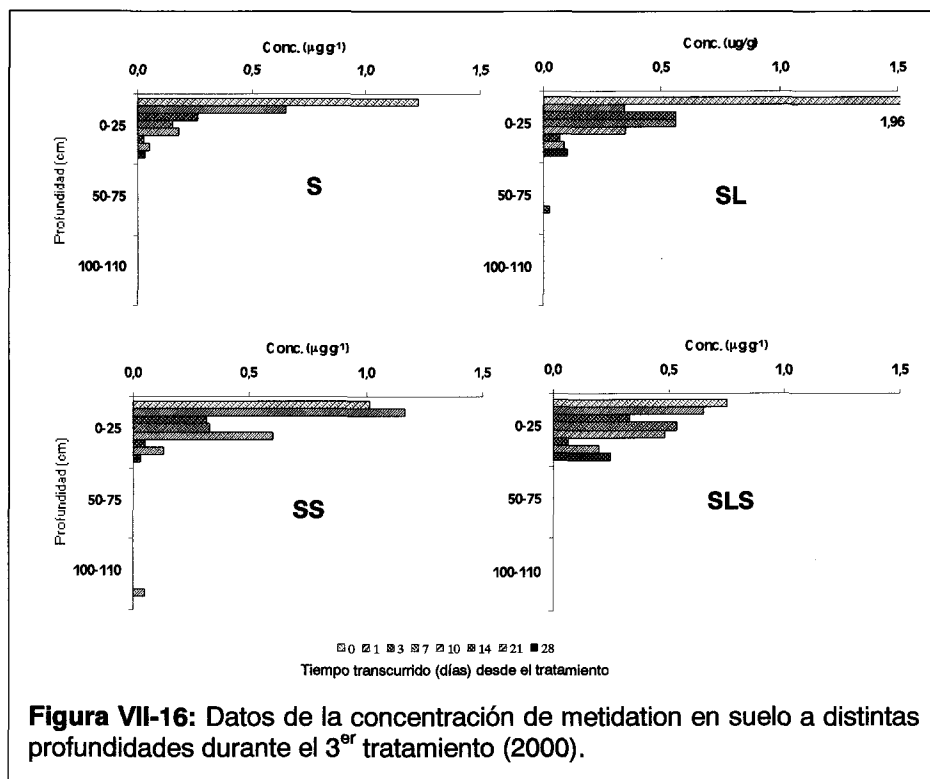
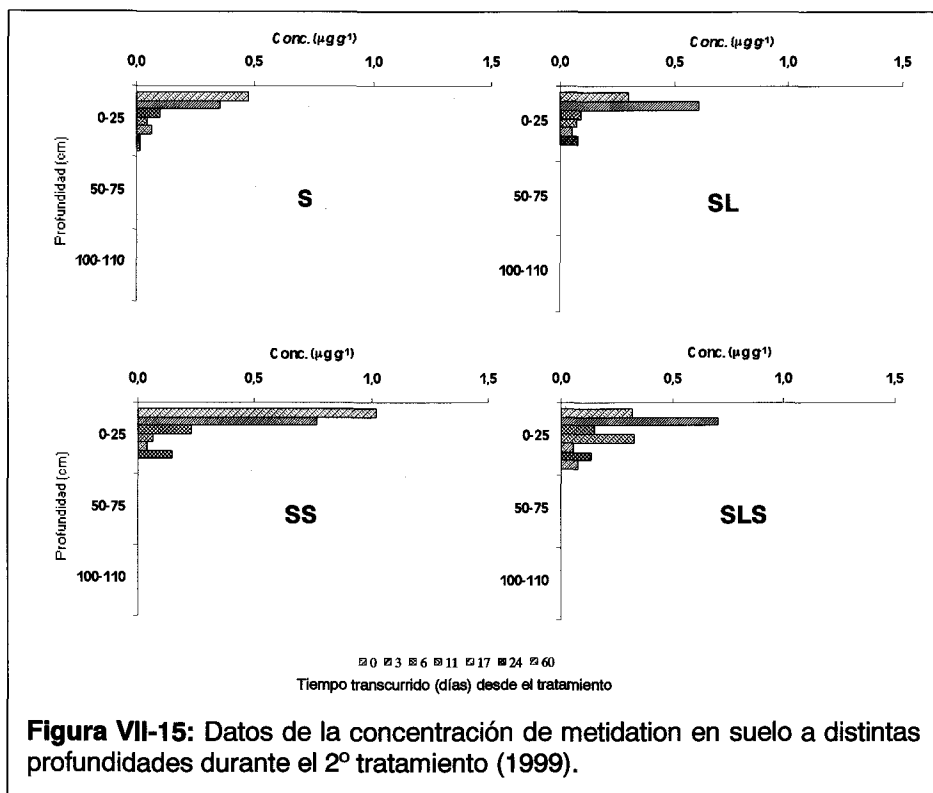
En muestreos posteriores a seis días es difícil de explicar el efecto de los enmendantes para un compuesto con una persistencia en suelo muy corta (entre 6 y 8 días) ya que a los procesos de adsorción y degradación se unen los de lixiviación a capas inferiores y la baja concentración del plaguicida.

### 3.3 Efecto de los enmendantes en la persistencia de metidation en suelo

Debido a que en las concentraciones determinadas los lixiviados han existido sesgos, los resultados de las muestras de suelo pueden aclarar el comportamiento de metidation en estas experiencias.

Los datos de concentración de metidation en suelo a las distintas profundidades ensayadas y durante los tres tratamientos, se muestran en los gráficos de las Figuras VII-14, 15 y 16.



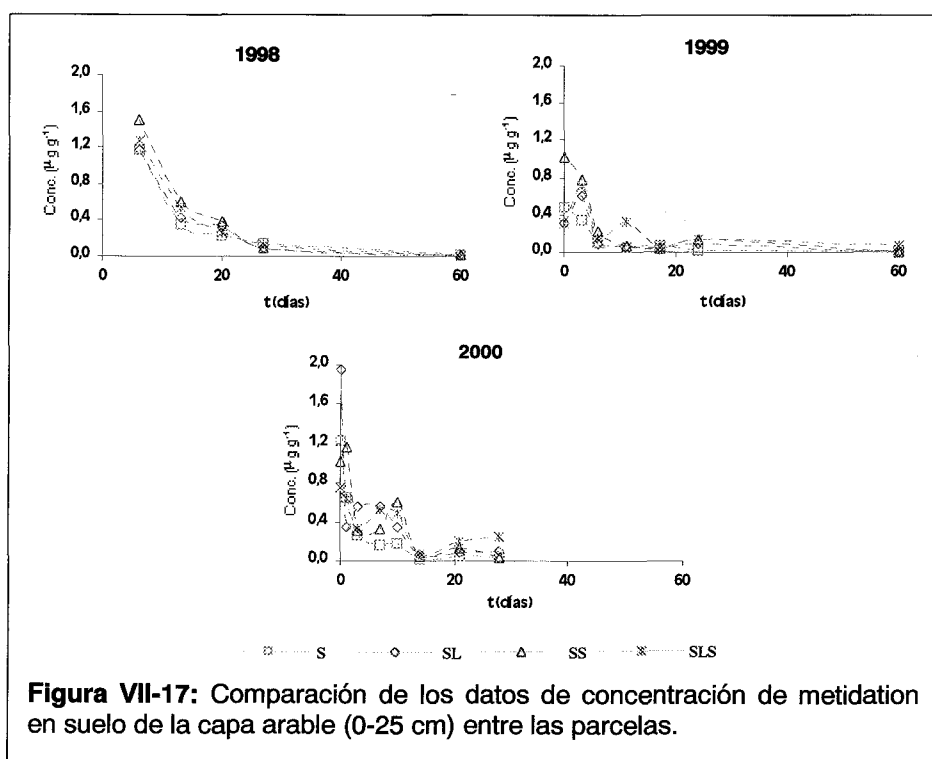


De los valores obtenidos se deduce que la degradación de metidation en el suelo es rápida, siendo las cantidades encontradas muy bajas transcurridos 30 días desde su aplicación. Estos resultados están de acuerdo con lo observado en los ensayos de incubación, y corroboran la hipótesis de que los procesos de tipo frotolítico no son importantes en la degradación de metidation. La más rápida degradación observada en estos ensayos con respecto a los de incubación, pudo deberse a las elevadas temperaturas en la que se realizaron las experiencias, hecho que no estuvo presente en los ensayos de campo.

Otro hecho destacado es que, contrariamente a lo que ocurría en los lixiviados, las cantidades de plaguicida encontradas en la capa intermedia y profunda fueron muy pequeñas ( $0,009 \mu\text{g g}^{-1}$ ) en prácticamente todos los casos.

Los valores de metidation encontrados en suelo también nos ayudan a la interpretación de los resultados obtenidos en los lixiviados. La escasa concentración de metidation en el suelo en la capas intermedia y profunda puede significar que las elevadas concentraciones obtenidas en los lixiviados a esas profundidades sean debidos a procesos de flujo preferencial. Schoen y col. (1999) en el estudio del transporte de atrazina en el suelo también encuentran importantes diferencias en los resultados obtenidos entre las muestras de suelo y las obtenidas en los lixiviados, atribuyendo este hecho a fenómenos del mismo tipo.

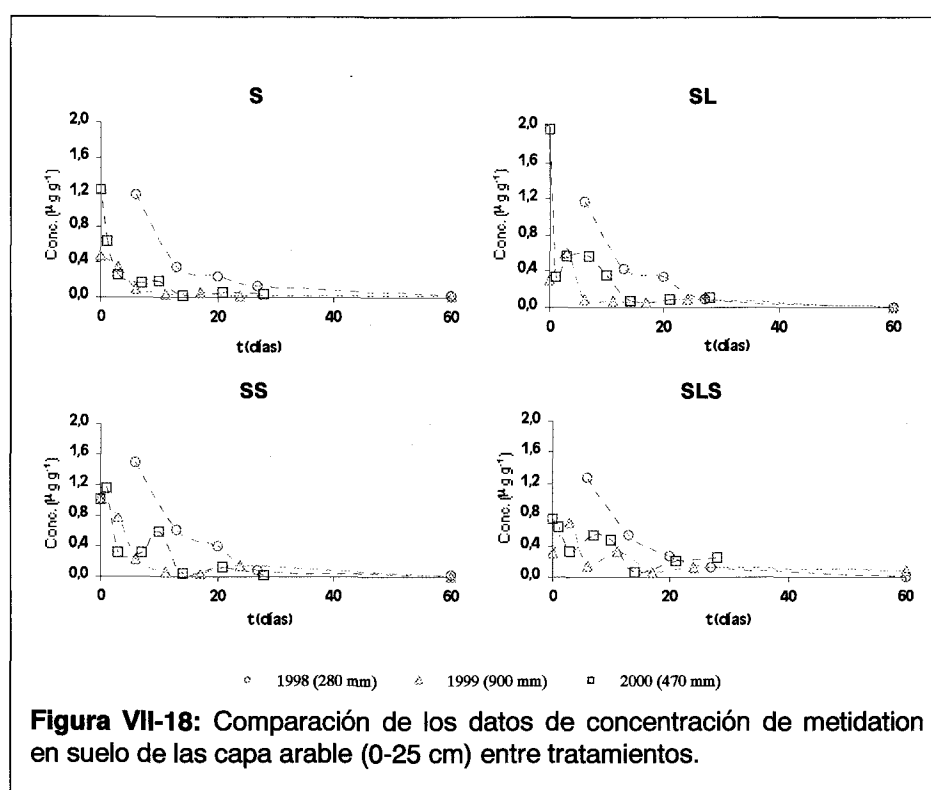
Para comparar si los enmendantes tuvieron algún efecto en la movilidad del plaguicida en la capa arable, se ha realizado el gráfico de la Figura VII-17, en la que se comparan los resultados obtenidos en cada una de las parcelas, y en los distintos tratamientos.





En estos gráficos se observa que las concentraciones de insecticida obtenidas en las distintas parcelas y en un mismo tratamiento, fueron muy similares. Las diferencias en la forma de las curvas que describen los datos experimentales en el año 1998 y las obtenidas de los tratamientos posteriores, pueden ser debidas a que el procedimiento de toma de muestra empleado fue distinto. Con el empleo de la barrena manual se puede tomar una porción de suelo que contenga distintas concentraciones de insecticida, de forma que si el procedimiento de homogeneización no se realiza de forma correcta, dará lugar a resultados muy variables.

Como la enmienda se fue incrementando a lo largo de los tratamientos, se han comparado los resultados de la concentración de metidation obtenidos en la capa arable en cada una de las parcelas durante los tres ensayos realizados (Figura VII-18).



Las diferencias encontradas, se pueden achacar por un lado a los distintos volúmenes de irrigación aplicados, y por el otro a las variaciones en la toma de muestra. El leve efecto de los enmendantes se pone de manifiesto en las escasas diferencias obtenidas en todas las parcelas entre el año 1999 y el 2000, año este último en el se repitió la dosis del año anterior en la enmienda. Si consideramos que, por la naturaleza de los enmendantes éstos no se degradan en el periodo de tiempo considerado, la enmienda sería el doble de la empleada en el año 1999, pero sin embargo el efecto fue muy similar.

Para intentar explicar el efecto de los enmendantes en los ensayos de campo se ha expresado el aporte de C.O. de cada uno de los enmendantes en cada tratamiento, con los resultados obtenidos en las experiencias de adsorción (Tabla VII-5). Estos

porcentajes se han calculado teniendo en cuenta los 10 primeros cm del suelo, y que las cantidades de los enmendantes añadidas fueron aditivas.

Como se observa, la enmienda con TDTMA no alcanzó en ningún caso el valor de C.O. necesario para aumentar de forma efectiva la adsorción del plaguicida (TDTMA a 10 cmc suponía un aporte de C.O. por el surfactante de  $2,4 \times 10^{-1}$  %). Las cantidades añadidas de lodo fueron comparables o superiores a las empleadas en los ensayos de adsorción, por lo que el principal efecto será debido a éste. Sin embargo, el aporte de m.o. debido al lodo no parece aumentar de forma evidente la retención de metidation, según se observa en los resultados obtenidos en campo. Como ya se vio en los ensayos de laboratorio el mayor efecto se produjo con la enmienda del surfactante, aunque para conseguir un efecto similar al del laboratorio sería necesario emplear un cantidad mucho más elevada del mismo (1500 g /parcela).

**Tabla VII-5:** Comparación del aporte de C.O. que produce la adición de los enmendantes en todos los tratamientos de campo y en los ensayos de adsorción.

Ensayos de campo							Ensayos de adsorción			
	% C.O. (1998)		% C.O. (1999)		% C.O. (2000)		% C.O.		Kf / %Ads	
	Lodo	TDTMA	Lodo	TDTMA	Lodo	TDTMA	Lodo	TDTMA		
S	-	-	-	-	-	-	S	-	-	2,7 / 29 ± 3
SL	$6,9 \times 10^{-1}$	-	1,4	-	2,1	-	SL (2%)	$4,6 \times 10^{-1}$	-	2,6 / 36 ± 3
							SL (4%L)	$9,2 \times 10^{-1}$	-	4,1 / 45 ± 3
SS	-	$1,9 \times 10^{-4}$	-	$2,1 \times 10^{-3}$	-	$4,1 \times 10^{-3}$	SS (1cmc)	-	$2,4 \times 10^{-2}$	2,6 / 33 ± 3
SLS	$6,9 \times 10^{-1}$	$1,9 \times 10^{-4}$	1,4	$2,1 \times 10^{-3}$	2,1	$4,1 \times 10^{-3}$	*	-	-	-

\*No hay datos experimentales para una enmienda similar.

En general, dadas las características fisicoquímicas del metidation, es de suponer que éste quedará fuertemente retenido por el suelo lo que coincide con los resultados obtenidos.

### 3.4 Simulación del comportamiento de metidation con el modelo FOCUSPELMO 1.1.1

La simulación del comportamiento del insecticida metidation durante los tres años que duró la experiencia de campo, se llevó a cabo con el modelo matemático FOCUSPELMO 1.1.1 (o PELMO 3.2), basado en el modelo PELMO.

PELMO es un modelo compartimental de simulación del movimiento de sustancias químicas en el suelo mediante "leaching" cromatográfico, en la zona no saturada del suelo, dentro y por debajo de la zona radicular (Cohen y col., 1995). El modelo considera la existencia de movimientos dispersivos y avectivos del soluto (Cohen y col., 1995). PELMO es la adaptación alemana del modelo PRZM (Pesticide Root Zone Model) (Carsel y col., 1984), y fue desarrollado por Klein en el Instituto Fraunhofer (Klein, 1991). Desde la primera versión (PELMO 2.01), se han realizado varias mejoras entre las que se contempla la posibilidad de formación de CO<sub>2</sub> en el proceso de degradación de los metabolitos (PELMO 3.0; Jene, 1998), validación con resultados obtenidos con lisímetros

(Fent y col., 1998), posibilidad de la utilización de escenarios FOCUS o la posibilidad de crear un escenario específico (FOCUSPELMO 1.1.1, Jene, 1998; FOCUS, 2000).

**Tabla VII-6:** Resumen de los principales procesos que se contemplan en PELMO (FOCUS, 2000).

Proceso	Aproximación
Movimiento del agua	Basado en un flujo de agua capacitivo, a partir de datos climatológicos diarios.
Movimiento de la sustancia	Ecuación de convección-dispersión.
Simulación de las cosechas	Cambios en la zona de la raíz y en las hojas, durante el periodo de crecimiento, y toma de agua y sustancias, entre otros.
Degradación en el suelo	Constante de degradación de 1 <sup>er</sup> orden, con correcciones con la profundidad, temperatura ambiente y del suelo.
Adsorción de la sustancia al suelo	Kd, Koc, ecuación de Freundlich.
Volatilización de la sustancia (desde el suelo)	Modelo que utiliza la ley de Fick y la de Henry.
Runoff	Curva de la Conservación del suelo.
Drenaje y flujo preferencial	No se utiliza ninguna aproximación.
Erosión del suelo	Ecuación universal para la pérdida de suelo.
Temperatura en el suelo	Modelo empírico que usa la temperatura del aire.
Asimilación por la planta	Modelo basado en la concentración en el suelo.
Aplicación de la sustancia	Foliar, superficial o incorporación al suelo.
Metabolismo	Existe un complicado esquema, que contempla la existencia de hasta 8 metabolitos, que pueden ser simulados a la vez que la sustancia inicial.

Este modelo consta de dos componentes mayoritarios, uno hidrológico y otro de transporte de sustancias químicas. El componente hidrológico para el cálculo de la escorrentía a la erosión se basa en Ecuación Universal para la Pérdida de Suelo (USLE). El cálculo de la evapotranspiración se hace con la ecuación de Haude, o con la introducción de los datos reales. El transporte de sustancias químicas se realiza a partir de parámetros de adsorción basados en la ecuación de Freundlich, y para las constantes de degradación se considera una cinética de primer orden. El cálculo de la degradación de la sustancia para cada capa de suelo, lo realiza estableciendo una relación lineal entre éstas y la constante de degradación. También calcula la temperatura en el suelo (ecuación de Arrhenius), teniendo en cuenta la humedad y temperatura del aire.

Para la aplicación del modelo se utilizaron los valores de las constantes de degradación obtenidos en los ensayos de incubación para los distintos tratamientos. Estos valores son una buena aproximación, ya que los resultados del ajuste de los datos experimentales obtenidos en el primer año dieron unos valores muy similares a los calculados en los ensayos de incubación, pero con un grado de ajuste superior en todos los casos (Tabla VII-7).

**Tabla VII-7:** Parámetros del ajuste a la ecuación exponencial de primer orden de los datos de campo (1998) y los obtenidos en los ensayos de incubación.

	Ensayo de campo (1998)				Ensayos de incubación			
	S	SL	SS	SLS	S	SL	SS	SLS
$k \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	8,06	9,34	8,51	9,41	8,9 ±1,0	9,9 ±1,0	9,6 ±0,7	9,8 ±0,6
$R^2$	0,9794	0,9757	0,9503	0,9960	0,8258	0,7957	0,8657	0,8835
$t_{1/2}$ (días)	8,6	7,4	8,2	7,4	7,8	7,0	7,2	6,9

Para los cálculos realizados con FOCUSPELMO, el suelo se dividió en varias capas de distinto espesor, según la enmienda realizada y la características del suelo en cuanto a contenido en C.O. y a valores de la constante de adsorción obtenidos previamente (Tabla III-4). A cada una de las capas se le asignó un valor de  $k_f$  en función de su contenido en C.O., la enmienda realizada y los resultados obtenidos previamente en los ensayos de adsorción. Para el cálculo del aporte de C.O. debido a la enmienda se consideró que ésta se encontraba en los 10 primeros centímetros del suelo.

**Tabla VII-8:** Algunos de los parámetros introducidos en el modelo FOCUSPELMO para la descripción del perfil del suelo de las parcelas.

Año 1998									
Capa	S			SS			SL=SLS		
	Long. (cm)	C.O. (%)	$k_f$	Long. (cm)	C.O. (%)	$k_f$	Long. (cm)	C.O. (%)	$k_f$
1	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	10	1,6	2,5
2	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	20	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7
3	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89
4	-	-	-	-	-	-	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89
Año 1999									
1	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	10	2,32	5,0
2	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	20	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7
3	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89
4	-	-	-	-	-	-	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89
Año 2000									
1	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	30	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7	10	3,02	4,0
2	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89	20	$9,2 \times 10^{-1}$	2,7
3	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89	40	$4,5 \times 10^{-1}$	0,89
4	-	-	-	-	-	-	30	$3,6 \times 10^{-1}$	0,89
$k \times 10^2$ (días <sup>-1</sup> )	8,9			9,7			9,8		

Debido a que la cantidad de surfactante añadida fue muy pequeña ( $4,1 \times 10^{-3} \%$ , en el mayor aporte) sólo se tuvo en cuenta el aporte de lodo, lo que implicó que los cálculos realizados por el modelo fueran los mismos para las parcelas SL y SLS en todos los tratamientos. Para el año 1998 la enmienda se comparó con la empleada en el laboratorio en los ensayos de adsorción cuando se adicionó lodo al 2% ( $k_f = 2,5$ ). Para los años 1999 y 2000, del 6 y del 9 % respectivamente, se empleó un valor de  $k_f = 4,0$  y  $5,0$ . Aunque no se disponían de datos de adsorción experimentales para enmiendas superiores al 4 %, se utilizó un valor de constante de adsorción mayor para el año 2000 para resaltar su efecto.

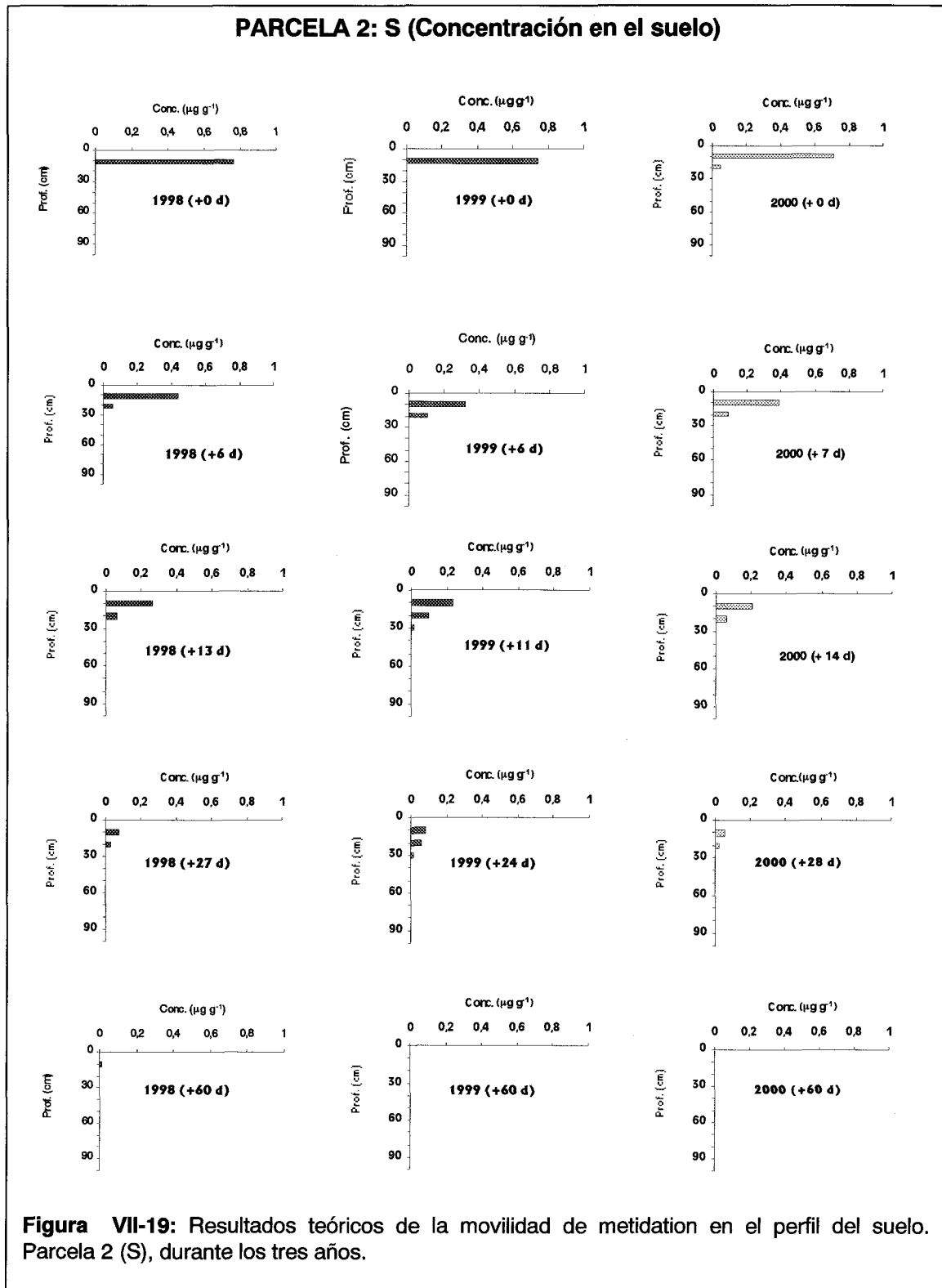
#### 3.4.a Resultados en el suelo

Los valores predichos de concentración del plaguicida en el perfil del suelo hasta 1 m de profundidad se muestran en las Figuras VII-19, 20 y 21. En cada una de las figuras se representan los datos de concentración del plaguicida en una parcela, y en cada uno de los tres tratamientos llevados a cabo. Aunque el modelo predice valores diarios de concentración, sólo se han representado valores para determinados días desde la aplicación del plaguicida, que coinciden con los de toma de muestras de suelo.

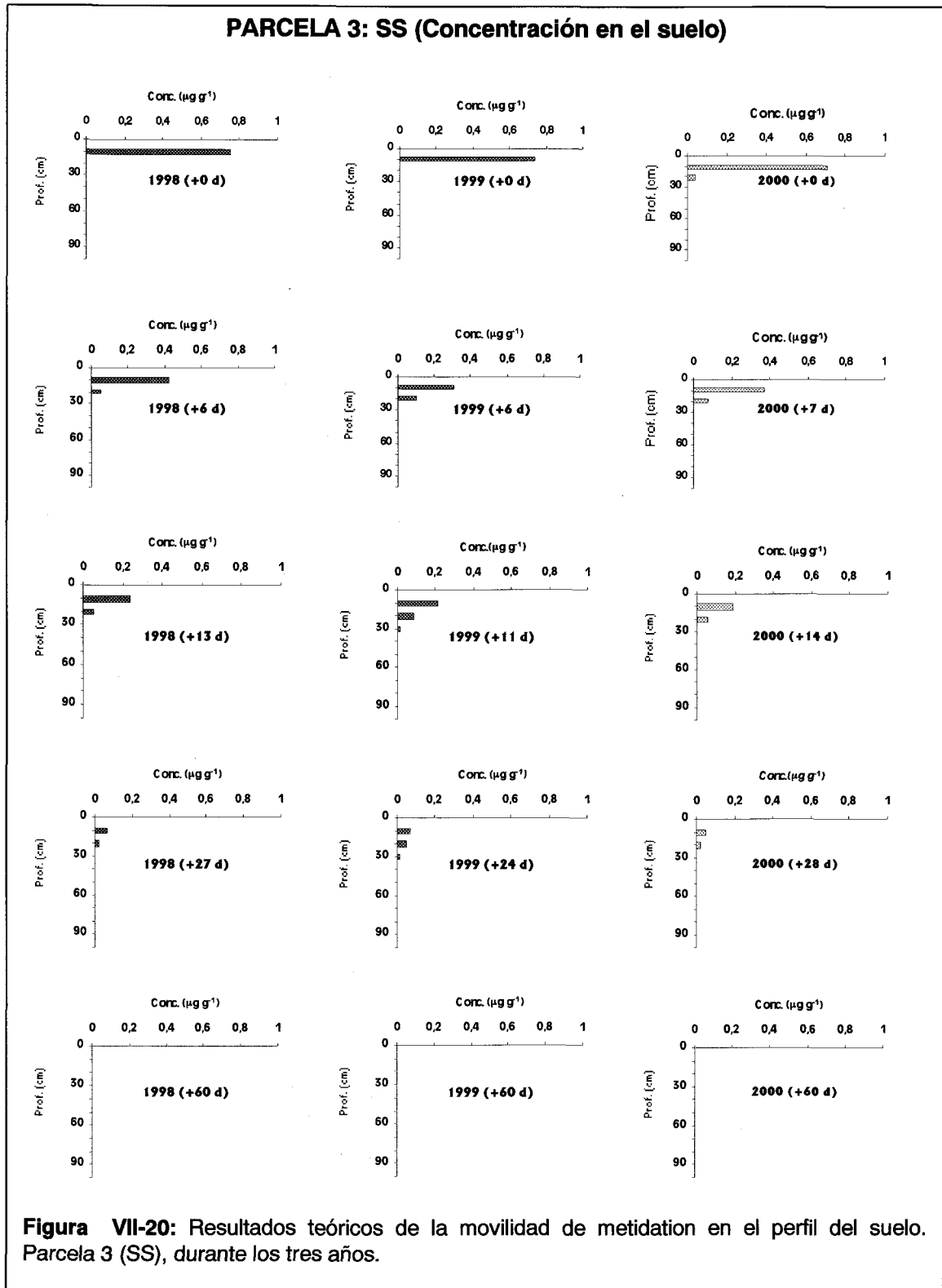
En estos gráficos hay que destacar el hecho de que en ningún caso el modelo predice que se obtengan concentraciones significativas del plaguicida por debajo de los 30 centímetros de profundidad. Estos resultados están de acuerdo con los resultados experimentales de metidation en suelo obtenidos a lo largo de los tratamientos, en los que las concentraciones de plaguicida en las capas intermedias y profunda fueron muy bajas ( $< 0,009 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

La máxima concentración de metidation que predice el modelo en la capa superficial al inicio del tratamiento nunca fue superior a  $0,8 \mu\text{g g}^{-1}$  (día 0). Esta cantidad disminuye rápidamente en el tiempo, de forma que en la mayoría de los casos alcanza un valor muy bajo ( $< 0,12 \mu\text{g g}^{-1}$ ) 24 días después de su aplicación.

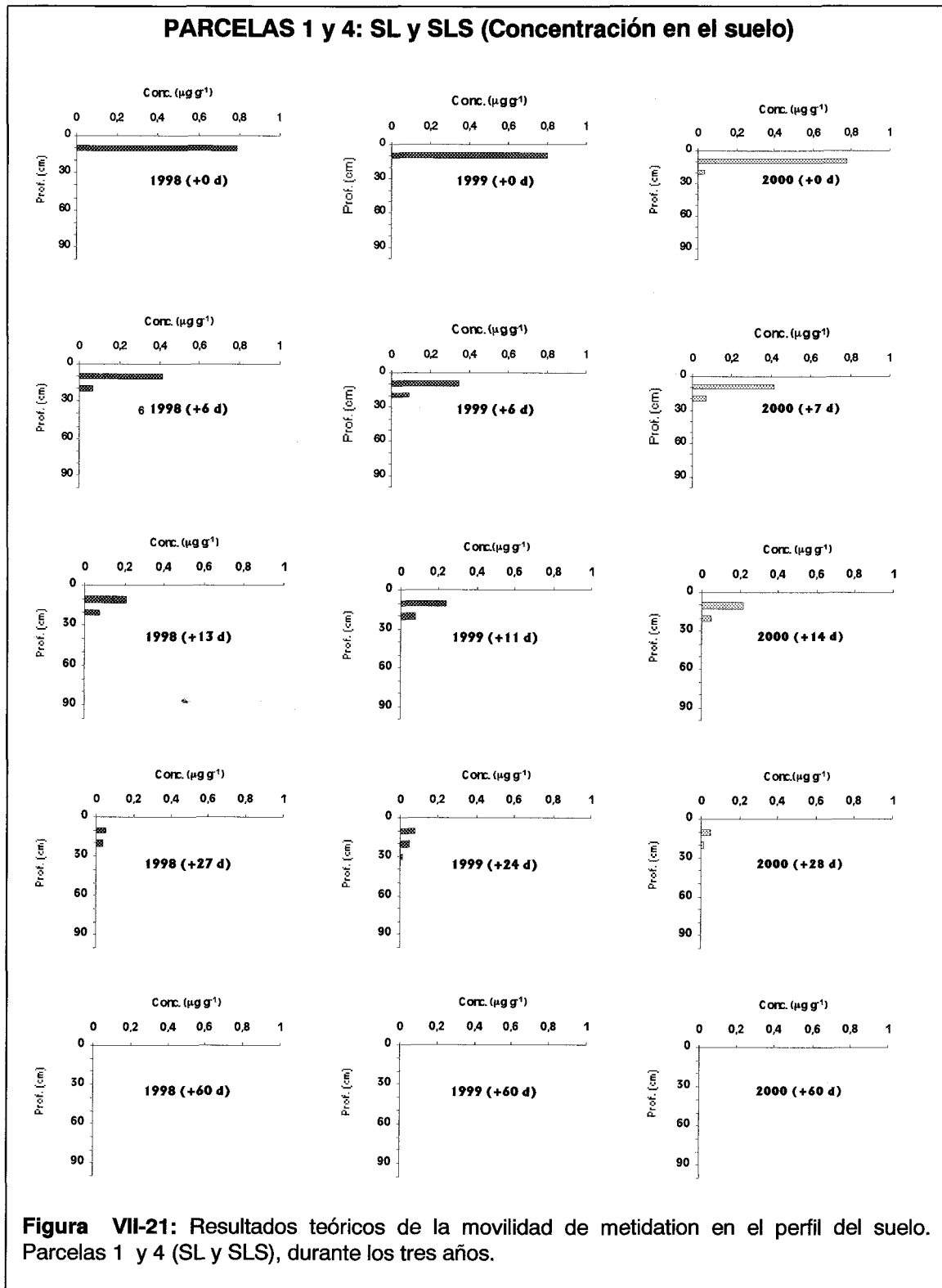
Debido a este hecho, en el análisis comparativo de los resultados predichos por el modelo en el suelo, sólo se tendrán en cuenta los datos teóricos obtenidos en los primeros centímetros del suelo, y los experimentales de la capa arable del suelo.



**Figura VII-19:** Resultados teóricos de la movilidad de metidation en el perfil del suelo. Parcela 2 (S), durante los tres años.



**Figura VII-20:** Resultados teóricos de la movilidad de metidation en el perfil del suelo. Parcela 3 (SS), durante los tres años.

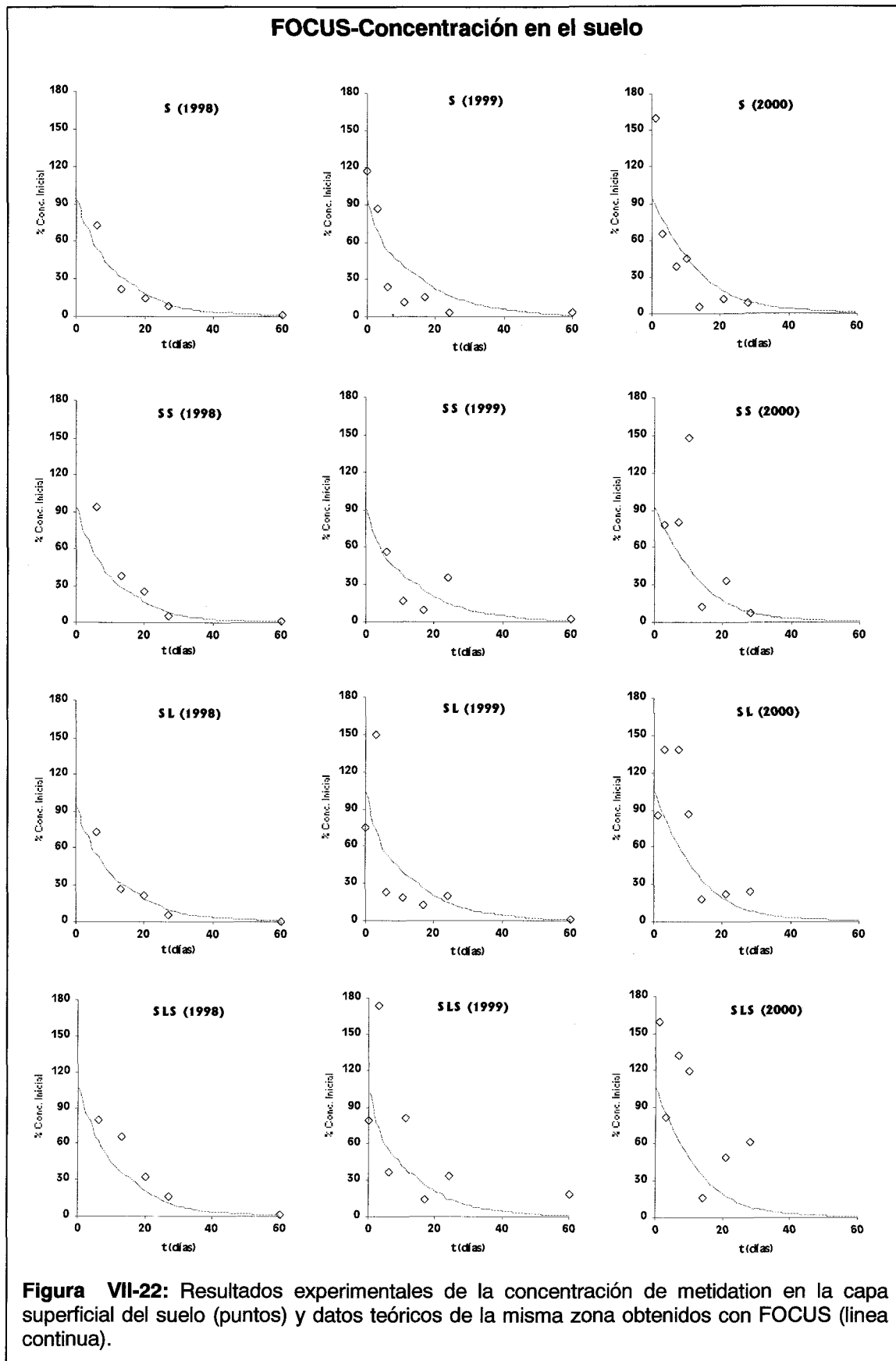




Para comprobar la eficacia de las predicciones, se han realizado los gráficos de la Figura VII-22, en los que se muestran los datos experimentales y teóricos obtenidos en cada una de las parcelas, y en cada uno de los tratamientos.

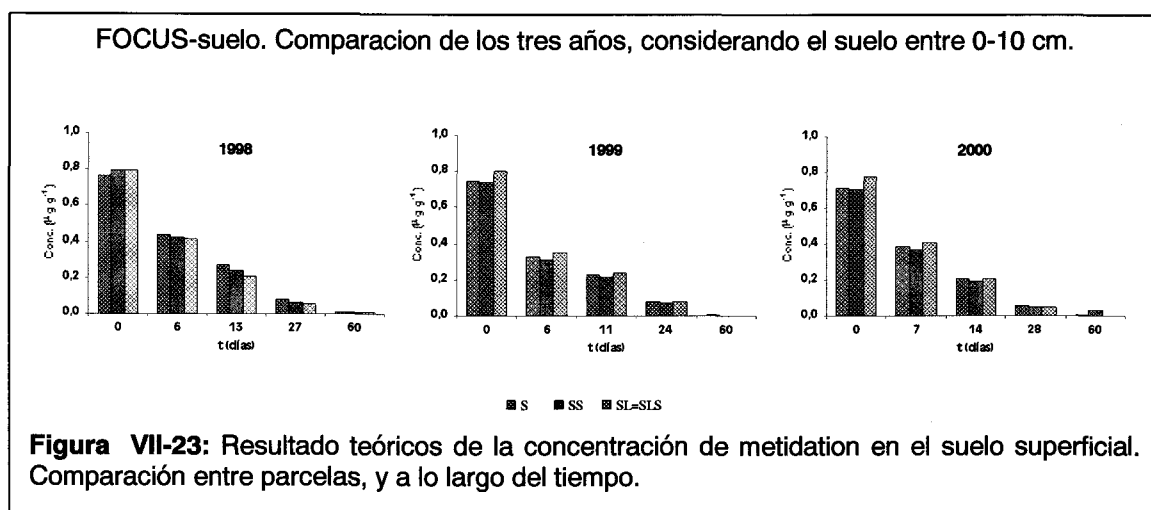
En estos gráficos se puede comprobar como en general, existe un buen ajuste entre los valores predichos y los experimentales. Este hecho nos indica que las aproximaciones realizadas en cuanto a valores de constantes de adsorción y degradación, y efecto de los enmendantes se ajustan bastante a la realidad.

Las diferencias entre el grado de ajuste del modelo a los valores experimentales del año 1998 y obtenidos en los dos tratamientos posteriores, se pueden atribuir como ya ha sido mencionado a la toma de muestra. Hay que tener en cuenta que el modelo calcula que la distribución del plaguicida en el perfil del suelo es homogénea. Empleando la pala para la capa superficial se pudo tomar una muestra más homogénea, en la que nos limitábamos a recoger suelo superficial. En cambio en el uso de la barrena se pueden cometer más errores en cuanto a la profundidad exacta a la que se obtuvieron las muestras, y a la distribución del plaguicida en el perfil del suelo.



**Figura VII-22:** Resultados experimentales de la concentración de metidation en la capa superficial del suelo (puntos) y datos teóricos de la misma zona obtenidos con FOCUS (línea continua).

También se han comparado los resultados teóricos que predice el modelo en la capa superficial del suelo en cada una de las parcelas y en cada tratamiento de las enmiendas (Figura VII-23).



Como puede observarse en la figura, el modelo no predice que existan grandes diferencias entre las parcelas, ni en los tres tratamientos realizados. Entre parcelas, la concentración en el suelo de la capa arable es muy similar para el año 1998. Para los tratamientos realizados en los años 1999 y 2000 la concentración en el suelo de la capa arable es ligeramente superior para las parcelas SL y SLS. Este pequeño incremento en la concentración del insecticida en el suelo se puede explicar por el mayor valor de la constante de adsorción que se ha empleado para estos tratamientos. La poca diferencia en los resultados predichos por el modelo entre parcelas en los tres tratamientos, estarían de acuerdo con los resultados obtenidos experimentalmente, y apoyan la hipótesis de que las pequeñas variaciones obtenidas se debieran principalmente a la irrigación empleada, y a las diferencias en la toma de muestra.

### 3.4.b Resultados en los lixiviados

Para obtener los valores de concentración de metidation en los lixiviados, se ha tenido en cuenta que las cápsulas colectaban agua de una franja de suelo situada alrededor de la cerámica porosa del hidrocaptor. El espesor de esta capa de suelo puede encontrarse comprendido en un área circulara de un radio de entre 10 y 50 cm alrededor de la cápsula (Grossmann y Udluft, 1991).

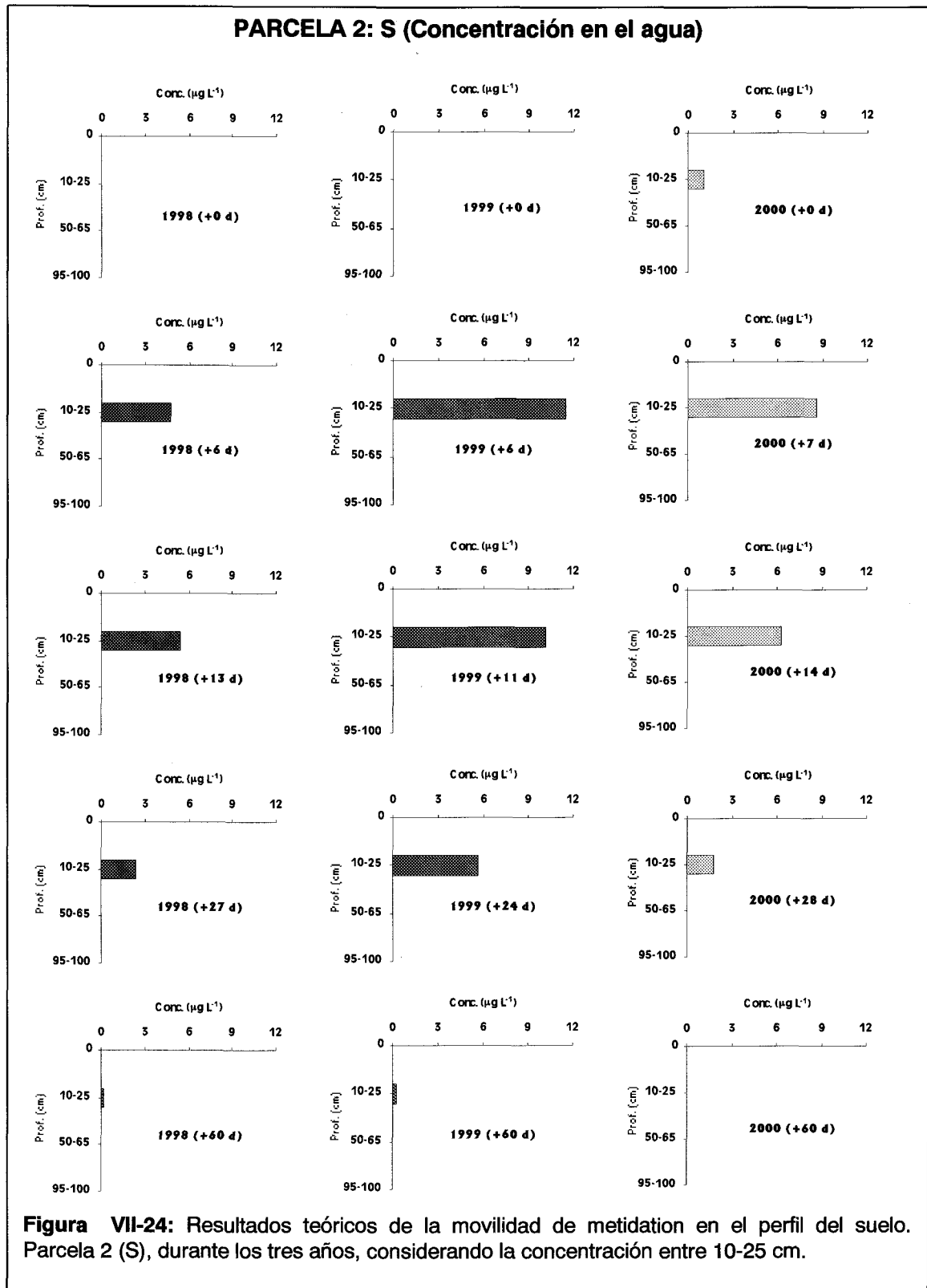
Teniendo en cuenta la longitud de la cerámica porosa (8 cm aproximadamente), consideramos que podía colectar agua de una capa de suelo de unos 15-20 cm de espesor alrededor de la cápsula. Para las cápsulas situadas en las capas intermedia y profunda se han considerado las franjas de suelo comprendidas entre 50-65 y 85-100 cm de profundidad. Para las cápsulas situadas en la capa arable, que se encontraban sumergidas a unos 27-30 cm de profundidad, se consideraron tres capas de suelo distintas: 10-25, 15-30 y 10-30 cm de profundidad. Esta precisión en el cálculo de los

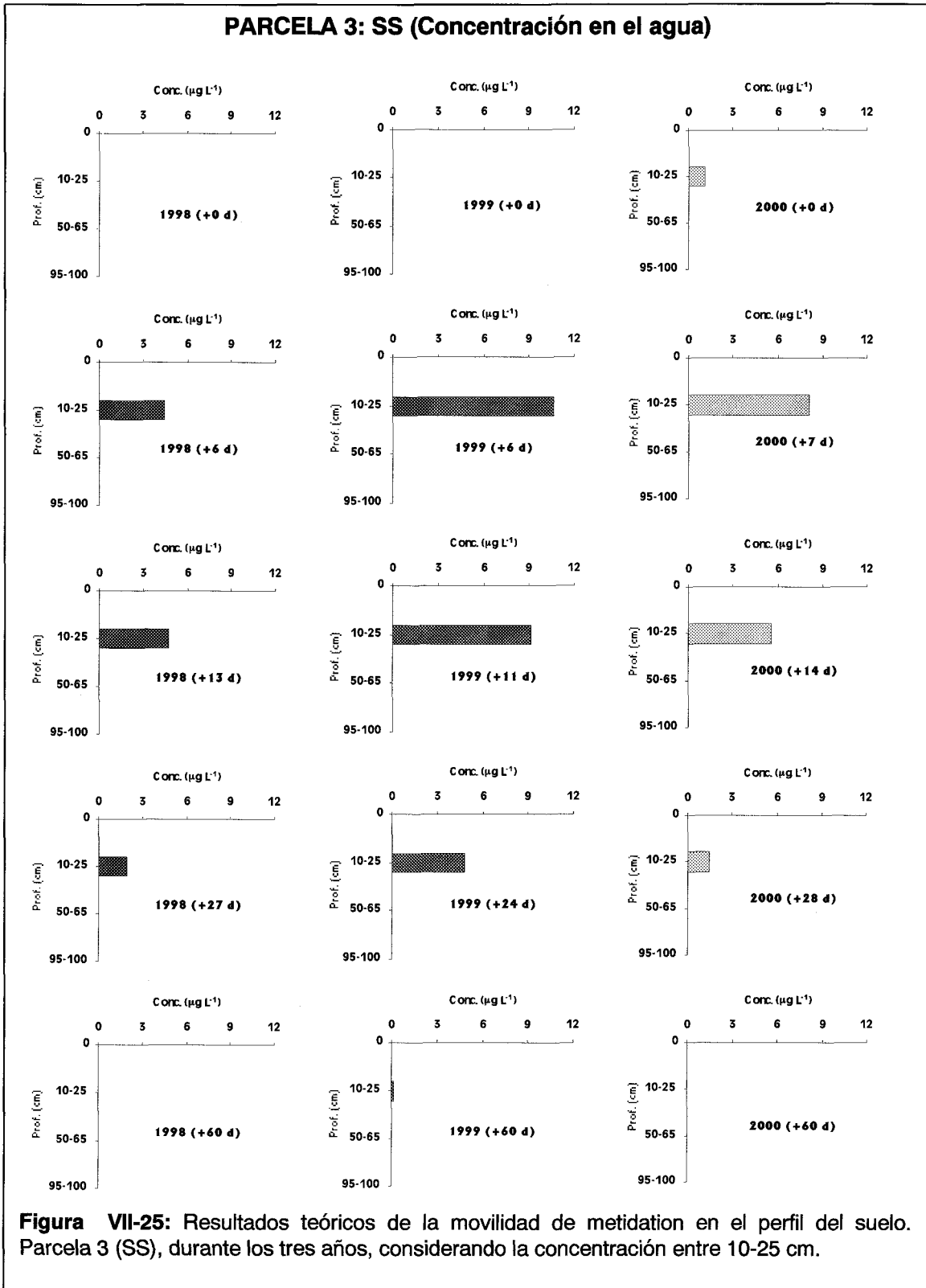
lixiviados de la capa arable se realizó debido a que los valores de concentración de metidation que predice el modelo se encontraban mayoritariamente en los primeros 30 cm de suelo.

Los resultados de la concentración teórica de metidation en los lixiviados obtenidos por cada uno de los hidrocaptos en el perfil del suelo, y durante los tres tratamientos se muestran en la Figuras VII-24, 25 y 26. Al igual que ocurría en el suelo, los resultados de las parcelas SL y SLS son los mismos, debido al poco efecto que introduce la adición de TDTMA en la enmienda. En cada una de las figuras se representan los datos de concentración de metidation en los lixiviados de cada parcela, en el franja de suelo que se indica y hasta una profundidad de 1 m. Los resultados se muestran a distintos intervalos de tiempo desde la aplicación del plaguicida, intervalos que coinciden con los representados anteriormente para el suelo.

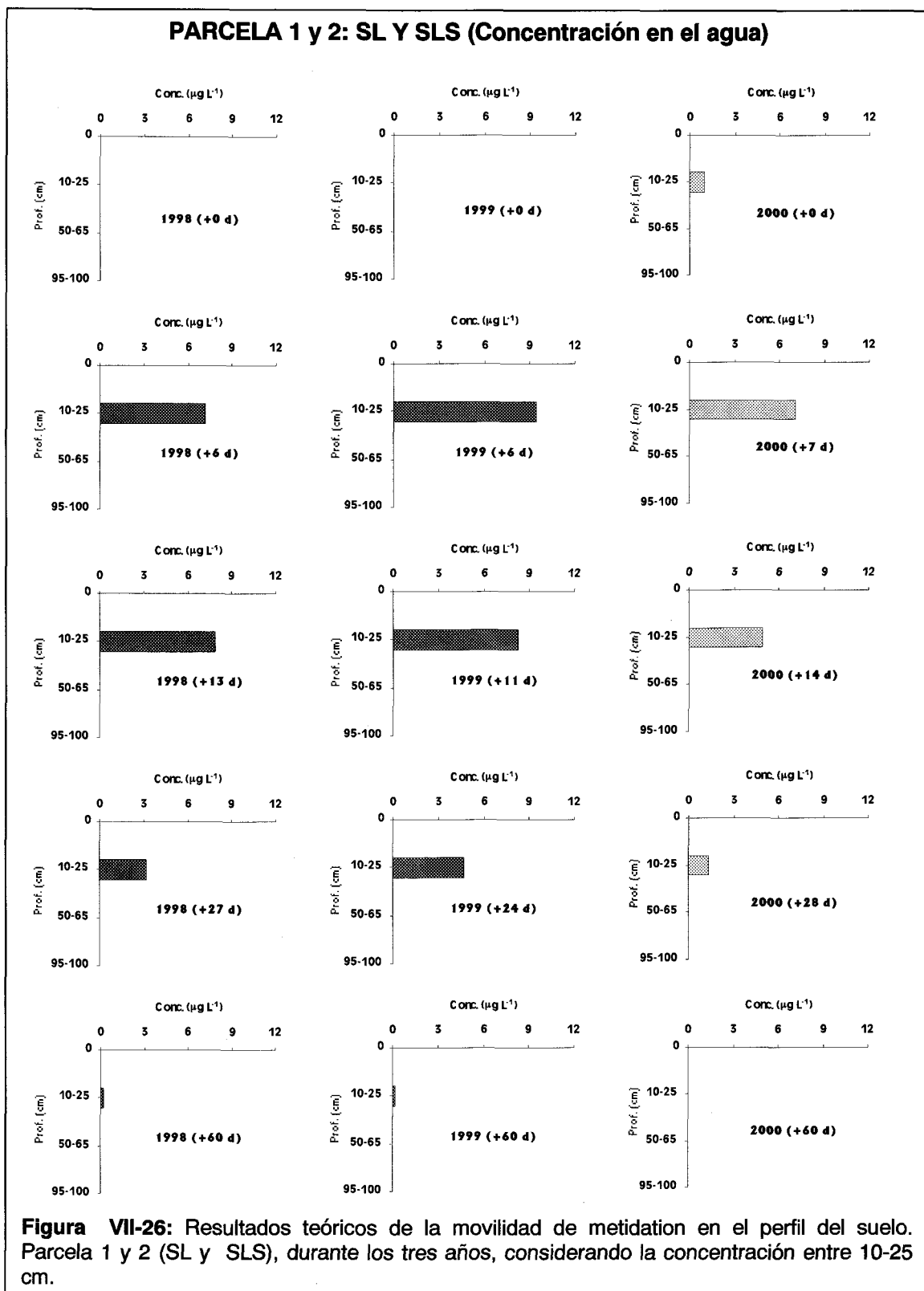
En estas gráficas se pretende resaltar el hecho de que el modelo predice que en todos los casos se obtendrán concentraciones de plaguicida inferiores a  $0,0006 \mu\text{g L}^{-1}$  por debajo de los 30 cm de profundidad. Estos resultados no coinciden con los valores obtenidos experimentalmente en los lixiviados de la capa intermedia y profunda durante algunos de los muestreos de los tres tratamientos (Figura VII-7, 8 y 9) en los que se detectaron concentraciones de plaguicida muy altas (hasta  $18 \mu\text{g L}^{-1}$  en algunos casos). La existencia de estas elevadas concentraciones puede ser debida, como se apuntó anteriormente, a procesos de flujo preferencial, ya que a estas profundidades no se detectaron concentraciones de plaguicida apreciables en el suelo en los datos experimentales.

Los modelos de simulación no predicen estas elevadas concentraciones de plaguicida en el suelo a profundidades altas, porque se basan en la ecuación de convección-dispersión, la cual no tienen en cuenta la existencia de flujo preferencial (Steenhuis y col., 1990)

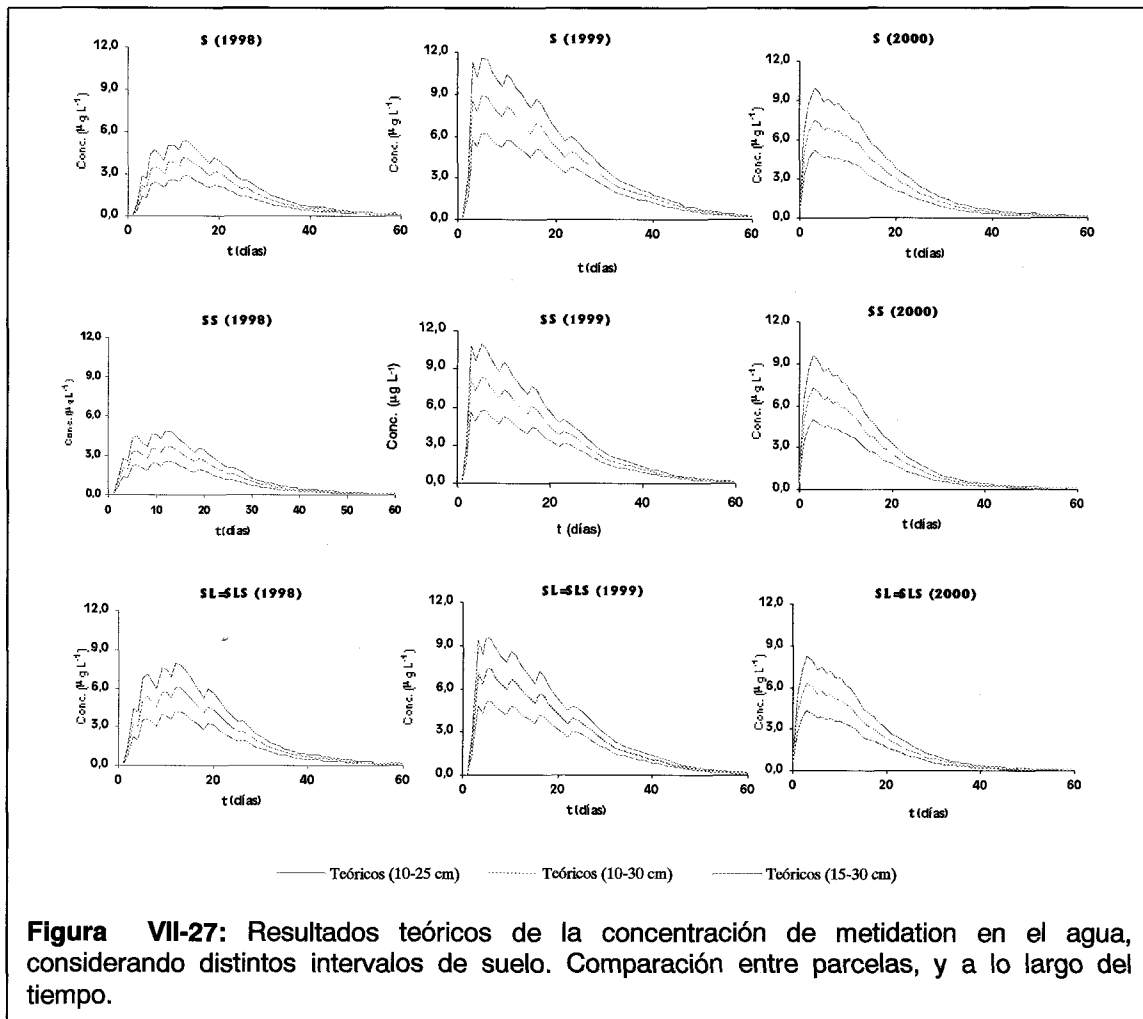




**Figura VII-25:** Resultados teóricos de la movilidad de metidation en el perfil del suelo. Parcela 3 (SS), durante los tres años, considerando la concentración entre 10-25 cm.



Como se puede comprobar en los gráficos, y una vez aclarado el hecho de que el modelo predice que la concentración de metidation por debajo de 30 cm será nula, se ha estudiado la influencia del elegir el intervalo de suelo que se toma para el cálculo de los datos de concentración de metidation en la capa. Para ello en la Figura VII-27 se representan los datos de concentración de metidation en tres intervalos distintos de suelo: 10-25, 15-30 y 10-30 cm de profundidad.



Como se ve en los diferentes gráficos, la concentración de plaguicida que predice el modelo matemático depende del espesor de suelo que se considere. Los mayores valores se obtuvieron cuando se consideró que la capa de suelo de la que colectan agua los hidrocaptadores se encontraba entre 10 y 25 cm de profundidad. La concentración máxima de plaguicida que el modelo predice en los lixiviados de la capa arable es de unos 12  $\mu\text{g L}^{-1}$ , y en todos los casos es prácticamente nula transcurridos 60 días desde el tratamiento.

En este caso, se observa también cómo la cantidad de irrigación empleada influye en la cantidad de metidation en los lixiviados. Esto se demuestra en los valores obtenidos para la parcela S, en la que no se adicionaron enmendantes, y las únicas diferencias se

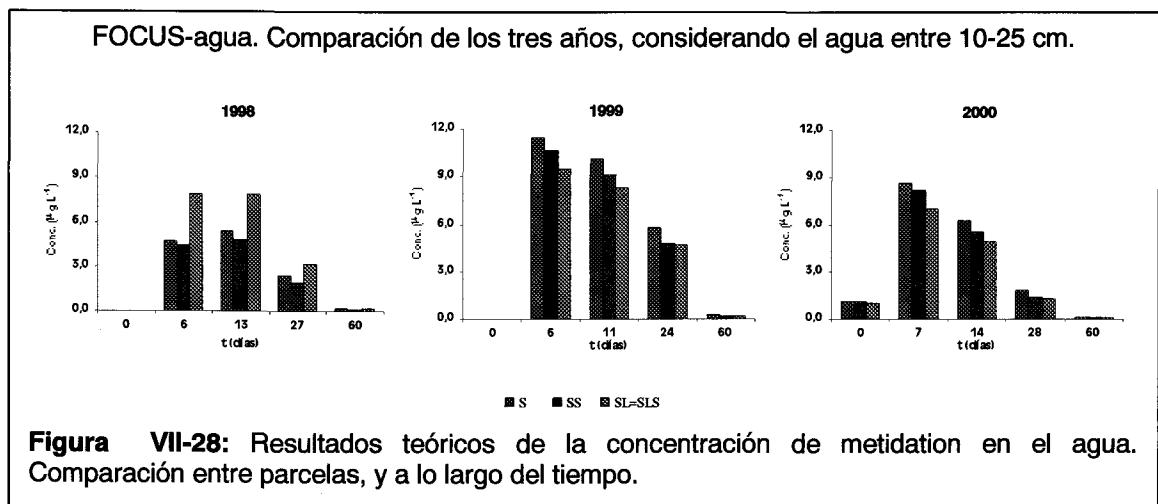


atribuyen a la distinta irrigación aplicada. Los mayores valores se predicen para el tratamiento realizado en el año 1999, en el que la irrigación empleada fue mayor.

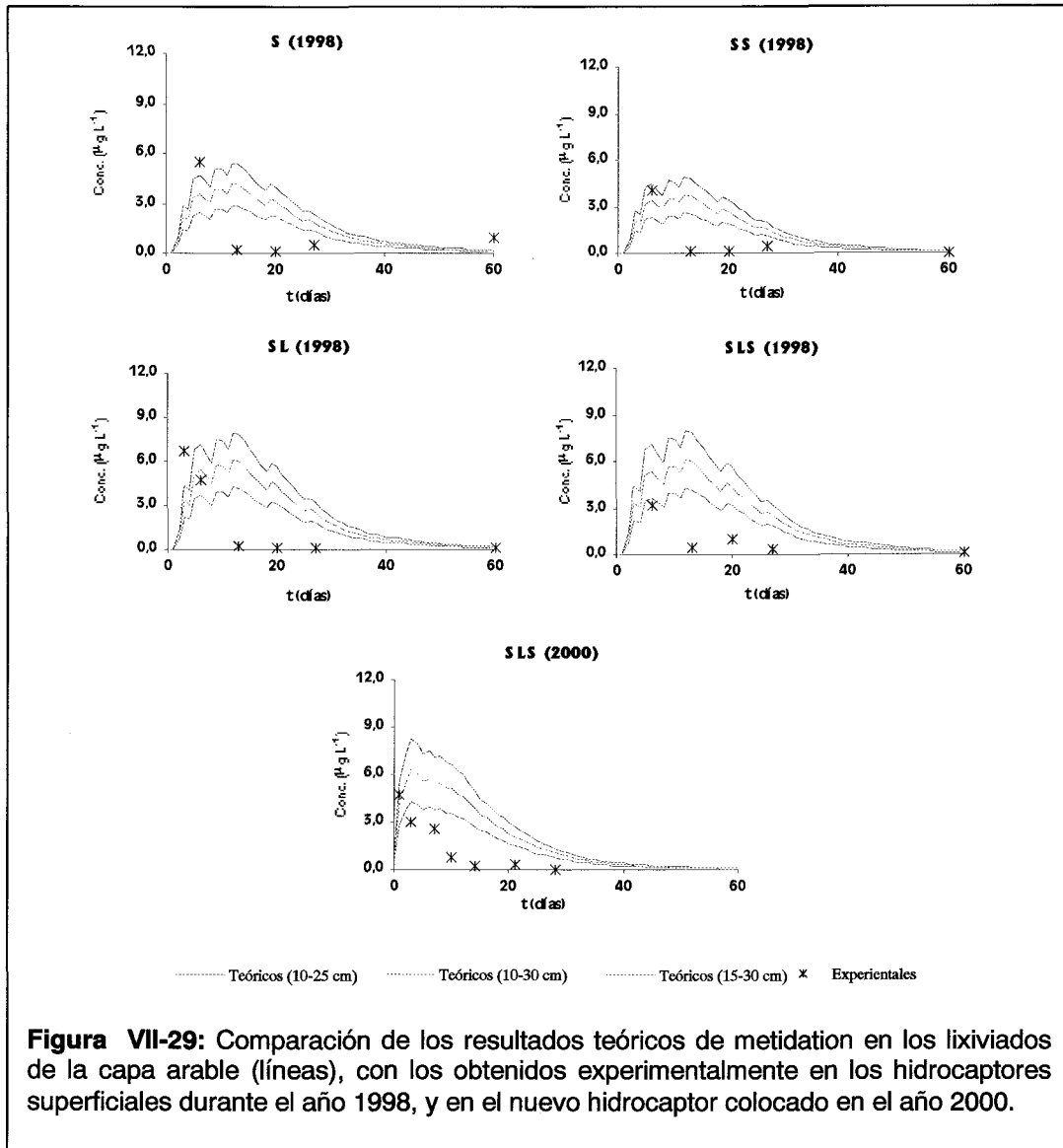
Las diferencias entre la parcela S y SS, se deben a la distinta constante de degradación aplicada, ya que el resto de los parámetros empleados fueron iguales. Para la parcela SS el ligero aumento en el valor de esta constante condujo a unos valores levemente inferiores a los de la parcela S.

El efecto de la enmienda se puso de manifiesto en los resultados obtenidos para las parcelas SL y SLS, en los que los valores de la constante de adsorción se aumentaron con respecto a las parcelas anteriores. Como el valor empleado para esta constante en el año 1998 es ligeramente inferior al del suelo sin enmendar, el modelo predice unos valores mayores de concentración de metidation en la capa arable durante este año si se comparan con los resultados de las otras parcelas. En los otros dos tratamientos, los valores predichos son siempre inferiores, si se comparan las parcelas durante un mismo año.

Las diferencias entre parcelas en los resultados que predice el modelo se muestran más claramente en los gráficos de la Figura VII-28. En estos gráficos se puede observar como la concentración en los lixiviados es mayor en la parcela SL durante el año 1998, y ligeramente inferior a la que predice para las otras parcelas para los otros dos tratamientos. Esto es debido a los distintos valores de  $k_f$  empleados, como se ha comentado anteriormente.



Para comparar los resultados teóricos obtenidos con el modelos con los resultados experimentales se han realizado los gráficos de la Figura VII-29.



En estos gráficos sólo se han tenido en cuenta los valores experimentales del primer tratamiento obtenidos por los hidrocaptos en la capa arable, y los obtenidos por la cápsula nueva en el último tratamiento. Los valores experimentales de la capa arable obtenidos entre los años 1999 y 2000 no se han comparado porque fueron muy bajos ( $< 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ , en la mayoría de los casos). Tampoco se representan los valores experimentales obtenidos para la capa intermedia y profunda, porque para estos casos los predichos por el modelo son prácticamente nulos.

En general, el ajuste de los datos teóricos de la concentración de metidation en los lixiviados y los datos experimentales depende de la franja de suelo que se considere. Durante el tratamiento llevado a cabo en 1998 para las parcelas S, SS y SLS los resultados que predice el modelo que más se ajustan a los valores experimentales

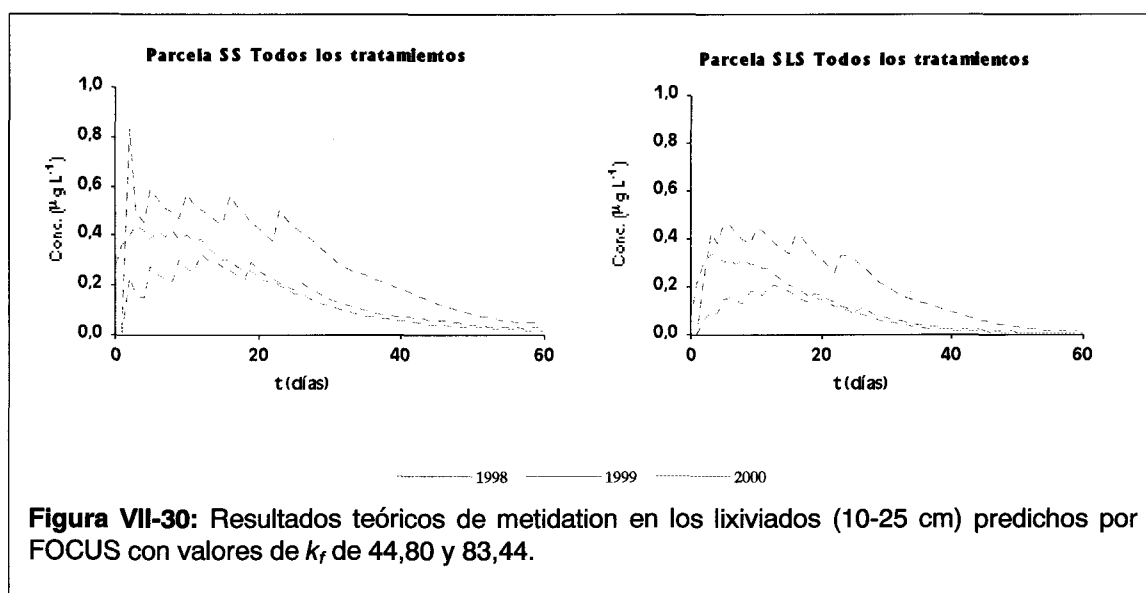
parecen ser los obtenidos en la franja de suelo entre 10 y 25 cm de profundidad. Para la parcela SLS los mejores resultados son los correspondientes al intervalo comprendido entre 15 y 30 cm. Pero sin embargo hay que tener en cuenta que el número de muestras tomadas en los días siguientes a la aplicación del insecticida fue pequeño y por tanto es difícil prever cuál es el mejor ajuste.

Para el año 1998, el modelo predice unos valores inferiores a los encontrados experimentalmente para tiempos cortos, mientras que sobreestima la concentración para valores de tiempo más largos. Este hecho se podría asociar con la existencia de fenómenos de flujo preferencial, que no tiene en cuenta el modelo. Pero también hay que tener en cuenta que, el número de muestras tomadas en los días posteriores al tratamiento fue pequeño, y el modelo predice una rápida lixiviación del plaguicida.

La importancia de obtener un mayor número de datos a tiempos cortos se pone de manifiesto en el gráfico que representa los valores encontrados en la cápsula nueva colocada durante el tratamiento del año 2000. En este caso, los datos experimentales obtenidos parecen seguir la misma tendencia que indica el modelo, si se considera la franja de suelo entre 15 y 30 cm, aunque sobreestime la concentración de metidation para valores de tiempo superiores a 7 días.

El hecho de que sólo se hayan podido comparar los resultados experimentales obtenidos con las cápsulas que se mantuvieron un menor tiempo en el suelo, parece confirmar que el envejecimiento de las mismas sea debido a su permanencia en el suelo durante periodos de tiempo prolongados.

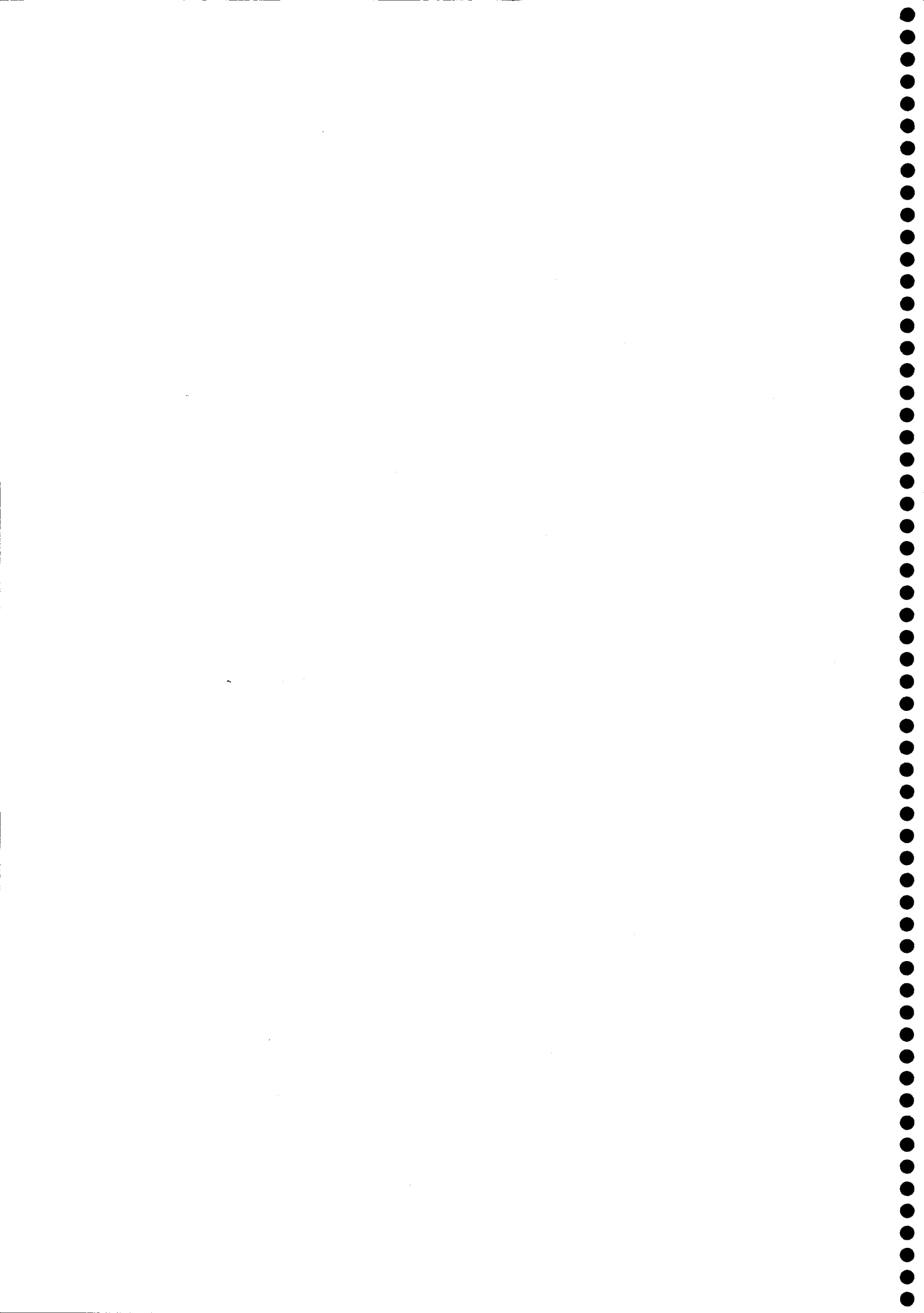
Dada la eficacia del modelo en la predicción de resultados, se hizo una prueba de las predicciones del modelo en el caso de que se hubiese empleado una enmienda similar a la empleada en el laboratorio con TDTMA a 10 cmc en las parcelas SS y SLS ( $k_f = 44,80$  y  $83,44$ , respectivamente) (Figura VII-30):



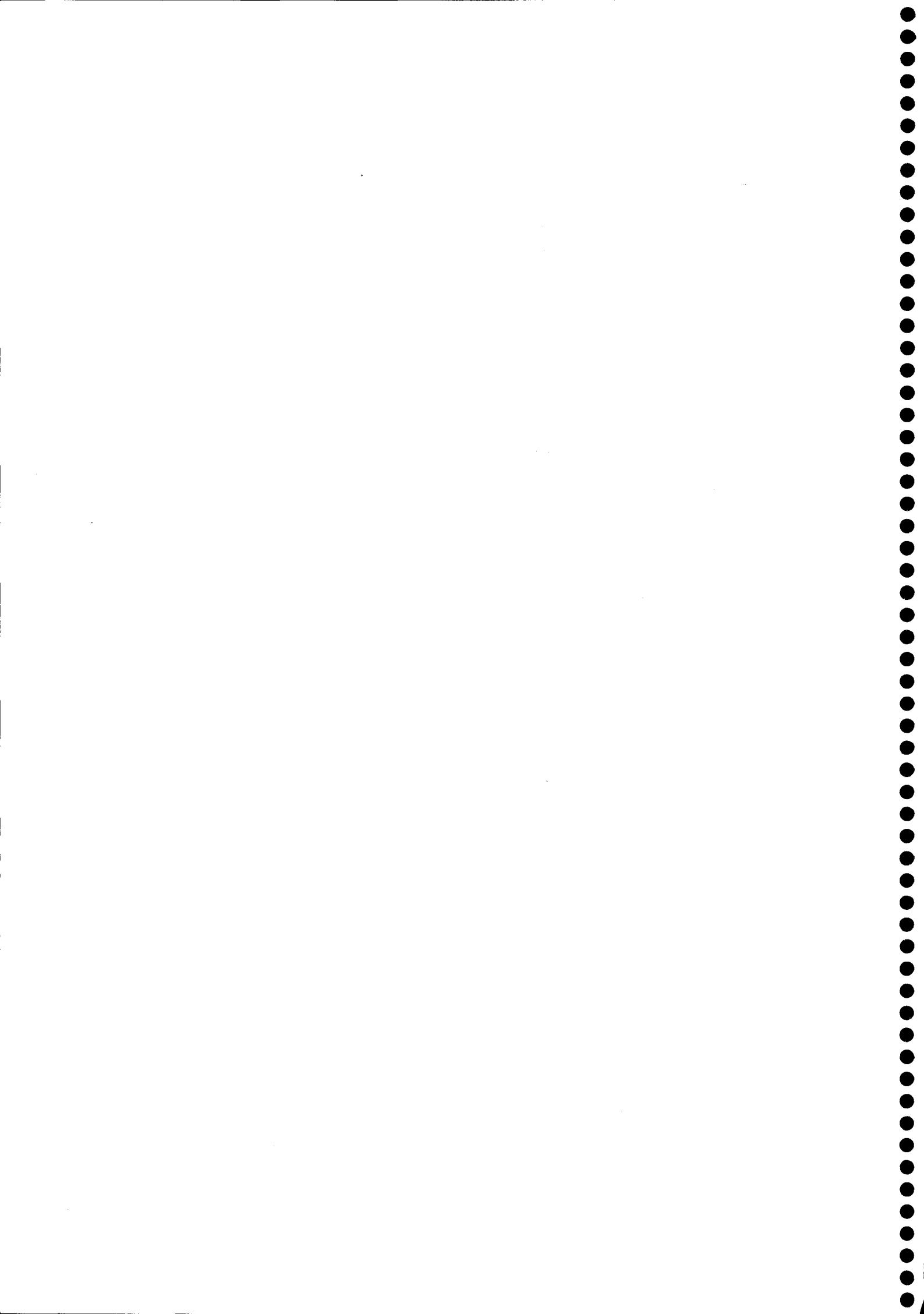
El modelo predice que en caso de aplicar esa enmienda, en el suelo las concentraciones de plaguicida que se obtendrían serían similares a las predichas en los casos anteriores. Las principales diferencias aparecen en los valores de concentración de metidation en los lixiviados de la capa arable, que serían muy inferiores a los obtenidos anteriormente con valores de concentración no superiores a  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ . En esta hipotética situación también destaca el efecto del riego, existiendo una relación directa entre la concentración de metidation en los lixiviados y la irrigación aplicada, a pesar de los elevados valores de la constante de adsorción empleados.



# **Conclusiones**



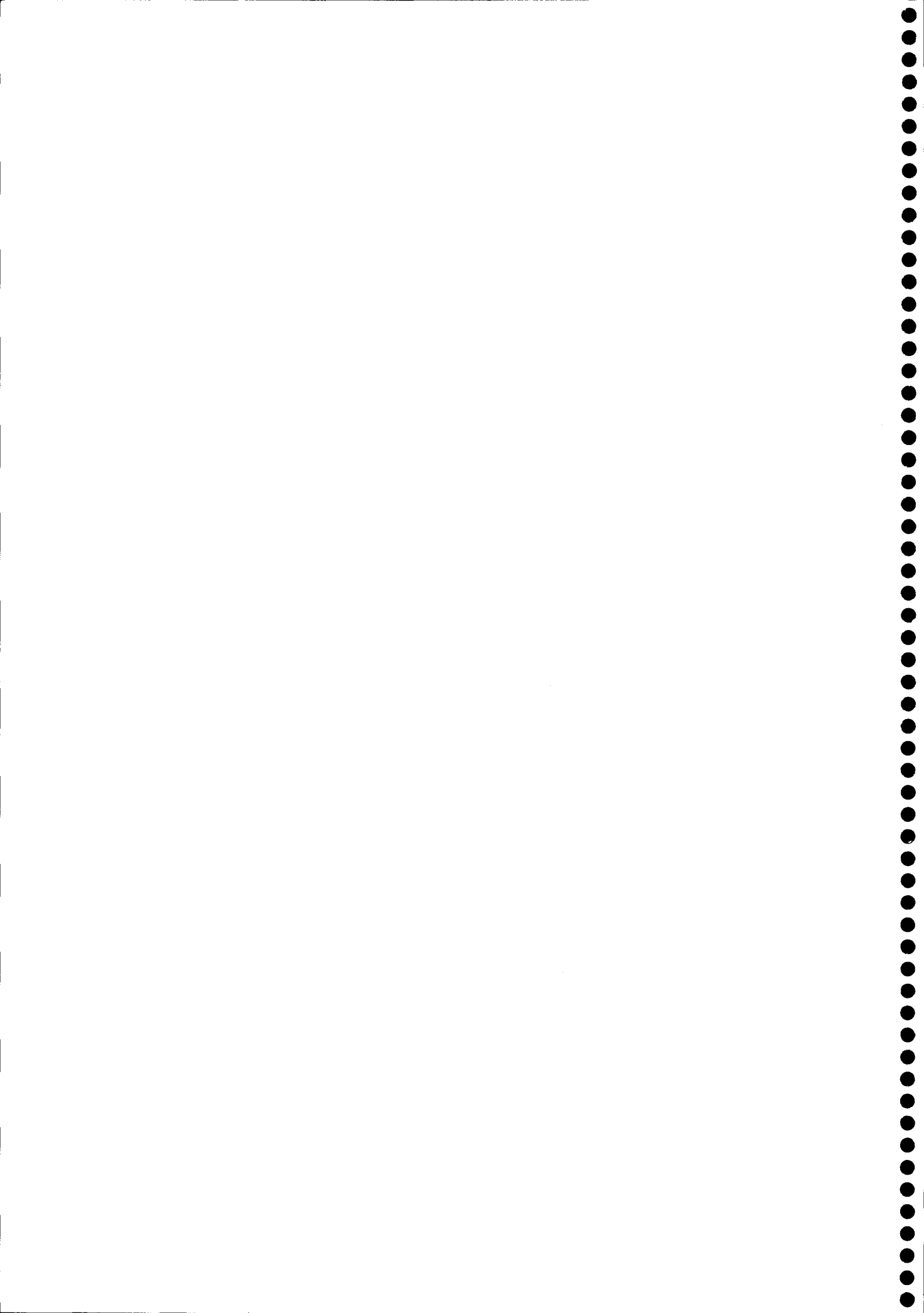
1. Se ha puesto ha punto la metodología analítica necesaria para la determinación de metidation en distintas matrices ambientales, destacando el desarrollo de una nueva metodología para la extracción de soluciones acuosas concentradas del mismo mediante el empleo de las microondas.
2. De las diferentes enmiendas ensayadas la adición de los surfactantes aniónicos (LAS) y no iónicos (Tween 80) no producen un cambio en la adsorción del insecticida. Por el contrario, se observa un incremento con la adición de lodo y del surfactante catiónico TDTMA. Este aumento esta relacionado en el caso del lodo con un aumento del C.O. del suelo. Para el surfactante ese incremento requiere alcanzar un valor crítico de C.O.
3. Se ha visto que el empleo de los enmendantes anteriormente citados a las concentraciones ensayadas, no modifican sustancialmente la degradación de metidation en el suelo. La degradación de metidation precisa de diferentes ecuaciones matemáticas para su adecuado ajuste.
4. La degradación de metidation bajo exposición solar es rápida y debida fundamentalmente a procesos de tipo indirecto y a la temperatura. No se obserban diferencias entre el suelo natural y el enmendado.
5. En los ensayos con columnas de suelo empaquetadas, se ha comprobado que la adición de lodo y TDTMA, disminuye la movilidad del plaguicida en las condiciones ensayadas, apoyando los resultados obtenidos en las isotermas de adsorción.
6. El empleo del modelo matemático PESCOL para la simulación del comportamiento del plaguicida en las columnas, predice aceptablemente los resultados obtenidos.
7. Los ensayos de campo confirman que el metidation con los enmendantes seleccionados y bajo diferentes condiciones de irrigación queda retenido en la capa arable. La lixiviación del plaguicida se ve influenciada por la irrigación.
8. En los ensayos de campo se ha observado que los hidrocaptos cerámicos de succión se ven afectados por un proceso de envejecimiento que pueden conducir al resultados erróneos.
9. La simulación del comportamiento de metidation en campo con el modelo FOCUSPELMO 1.1.1 concuerda con la lixiviación observada, y es una herramienta útil que ha ayudado a la interpretación de los resultados.





# Bibliografía





- Abu-Zreig, M., Rudra, R.P. y Dickinson, W.T.** (2000). *Influence of surfactant on leaching of atrazine through soil columns*. Toxicol. Environ. Chem., 75, 1-16.
- Acher, A.J. y Yaron, B.** (1977). *Behaviour of anionic surfactants in a soil-sewage effluent system*. J. Environ. Qual., 6, 418-420.
- Acuña, M.J.** (1981). *Contaminación por plaguicidas organoclorados en la Vega de Granada*. Memoria de Tesis Doctoral. Univ. de Granada., GR. 380 pp.
- Adams, C.D. y Thurman, E.M.** (1991). *Formation and transport of deethylatrazine in the soil and vadose zone*. J. Environ. Qual., 20, 540-547.
- Adeel, Z. y Luthy, R.G.** (1995). *Sorption and transport kinetics of a nonionic surfactant through an aquifer sediment*. Environ. Sci. Technol., 29, 1032-1042.
- Aga, D.S., Heberle, S., Rentsch, D., Hany, R. y Müller, S.R.** (1999). *Sulfonic and oxanilic acid metabolites of acetanilide herbicides: separation of diastereomers and enantiomers by capillary zone electrophoresis and identification by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy*. Environ. Sci. Technol., 33, 3462-3468.
- Agneessens, R., Zenon-Roland, L. y Nangniot, P.** (1984). *Analysis of pesticide residues by high resolution gas chromatography. Part 2: Determination of fungicide and insecticide residues in various crops*. J. HRC and CC, 7, 533-536.
- Agüera, A.** (1995). *Métodos multiresiduos de análisis de pesticidas en frutas y hortalizas. Métodos de identificación*. Memoria de Tesis Doctoral, Univ. de Granada. 235 pp.
- Agüera, A. y Fernández-Alba, A.R.** (1998). *GC-MS and LC-MS evaluation of pesticide degradation products generated through advanced oxidation processes: An overview*. Analisis, 26, M123-M130.
- Agüera, A., Piedra, L., Hernando, M.D., Fernández-Alba, A.R. y Contreras, M.** (2000). *Splitless large-volume GC-MS injection for the analysis of organophosphorus and organochlorine pesticides in vegetables using a miniaturised ethyl acetate extraction*. Analyst, 125, 1397-1402.
- 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 <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectroscopy*. Environ. Sci. Technol., 35, 878-884.
- Ahmid, A.W., Mallet, V.N. y Bertrand, M.J.** (1989). *Determination of acidic herbicides and related compounds in water and soil by capillary gas chromatography using a nitrogen-phosphorus detector*. J. AOAC, 72,2-.
- Åkerblom, M.** (1995). *Extraction and Cleanup*. En: *Pesticides in Ground and Surface Water: Progress in Basic Residue Methods*. Ed. Stan, H.J. Springer-Verlag, Heidelberg (Alemania). P 19-66.

- Alexander, M.** (1994). *Biodegradation and bioremediation*. Academic Press, New-York.
- Alfonso-Méndez, L.** (2001). El método del Hueco de Coulomb Blando aplicado a sistemas moleculares singlete. Memoria de Tesis Doctoral, Univ. Granada. 229 pp.
- Allmaier, G.M. y Schmid, E.R.** (1985). *Effects of light on the organophosphorus pesticides bromophos and iodofenphos and their main degradation products examined in rain water and on soil surface in a long-term study*. J. Agric. Food Chem., 33, 90.
- Alloway, B.J. y Ayres, D.C.** (1993). *Chemical Principles of Environmental Pollution*. Ed.: Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, Glasgow, Inglaterra. (libro de surfactantes y lodos de FSR).
- Ambrus, A., Visi, E., Zakar, F., Hargitai, E., Szabo, L. y Papa, A.** (1981). *General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil, and water. III. Gas chromatographic analysis and confirmation*. J. AOAC, 64, 749-768.
- Ambrus, A., y Thier, H-P.** (1986). *Application of multiresidue procedures in pesticide residues analysis*. Pure Appl. Chem., 58, 1035-1062.
- Anderson, M.P. y Woessner, W.W.** (1992). *The role of postaudit in model validation*. Adv. Water Resour., 15, 167-173.
- Anderson, T-H. y Domsch, K.H.** (1989). *Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils*. Soil Biol. Biochem., 21, 471-479.
- Angle, J.T., Brusseau, W.L., Miller, W.L. y Delfino, J.L.** (1992). *Nonequilibrium sorption and aerobic biodegradation of dissolved alkylbenzenes during transport in aquifer material: column experiments and evaluation of a coupled process model*. Environ. Sci. Technol., 26, 1404-1410.
- Aoki, Y., Takeda, M. y Uchiyama, M.** (1975). *Comparative study of methods for the extraction of eleven organophosphorus pesticide residues in rice*. J. AOAC, 58, 1286-1293.
- Arechabala, B., Coiffard, C., Rivalland, P., Coiffard, L.J.M. y de Roeck-Holtzhauer, Y.** (1999). *Comparison of cytotoxicity of various surfactants tested on normal human fibroblast cultures using the neutral red test, MTT assay and LDH release*. J. Appl. Toxicol., 19, 163-165.
- Arienzo, M., Crisanto, T., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M.** (1994). *Effect of soil characteristics on adsorption and mobility of (<sup>14</sup>C) diazinon*. J. Agric. Food Chem., 42, 1803-1806.
- Armstrong, A.C., Matthews, A.M., Portwood, A.M., Leeds-Harrison, P.B. y Jarvis, N.J.** (2000). *CRACK-NP: a pesticide leaching model for cracking clay soils*. Agric. Water Manag., 44, 183-199.

- Aronstein, B.N., Calvillo, Y.M. y Alexander, M.** (1991). *Effect of surfactants at low concentrations on the desorption and biodegradation of sorbed aromatic compounds in soil.* Environ. Sci. Technol., 25, 1728-1731.
- Arthur, C.L., Killam, L.M., Buchholz, K.D. y Pawliszyn, J.** (1992). *Automation and optimization of solid-phase microextraction.* Anal. Chem., 64, 1960-1966.
- Askew, J., Ruzicka, J. H., y Wheals, B. B.** (1969). *A general method for the determination of organophosphorus pesticide residues in river waters and effluents by gas, thin-layer and gel chromatography.* Analyst, 94, 275-283.
- Aston, L.S. y Seiber, N.** (1997). *Fate of summertime airborne organophosphate pesticide residues in the Sierra Nevada mountains.* J. Environ. Qual., 26, 1483-1492.
- Atkinson, R., Aschman, S.M., Arey, J., McElroy, P.A. y Winer, A.M.** (1989). *Product formation from the gas-phase reactions of the OH radical with (CH<sub>3</sub>O)<sub>3</sub>PS and (CH<sub>3</sub>O)<sub>3</sub>P(S)SCH<sub>3</sub>.* Environ. Sci. Technol., 23, 243-244.
- Augustin, C.** (1983). *Contaminación por plaguicidas en aguas superficiales y suelos de cultivo de la provincia de Granada.* Memoria de Tesis Doctoral, Univ. Granada, 378 pp.
- Báez, M.E., Rodríguez, M., Lastra, O. y Contreras, P.** (1997). *Solid phase extraction of organophosphorus, triazine, and triazole-derived pesticides from water samples. A critical study.* J. HRC and CC, 20, 591-595.
- Báez, M.E., Rodríguez, M., Vilches, P. y Romero, E.** (2001). *Adsorption of methabenzthiazuron on six allophanic and nonallophanic soils: effect of organic matter amendment.* J. Environ. Sci. Health, B36, 95-105.
- Bagnati, R., Benfenati, E., Davoli, E. y Fanelli, R.** (1988). *Screening of 21 pesticides in water by single extraction with C18 silica bonded phase columns and HRGC-MS.* Chemosphere, 17, 59-65.
- Baranowska, I. y Pieszko, C.** (2000). *Determination of selected herbicides and phenols in water and soils by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography.* J. Chromatogr. Sci., 38, 210-218.
- Barba, A., Cámara, M.A., Navarro, S. y Escribano, J.A.** (1987). *Determinación de residuos de insecticidas organofosforados por cromatografía de gases y columna capilar.* Bol. San. Veg. Plagas, 13, 125-128.
- Barberá, C.** (1976). *Pesticidas Agrícolas.* Ediciones Omega, S.A., Barcelona (España).
- Barceló, D.** (1988). *A review of liquid chromatography in environmental pesticides analysis.* Chromatographia, 25, 928-935.
- Barceló, D.** (1991). *Occurrence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. A review.* Analyst, 116, 681-689.

- Barceló, D.** (1993). *Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water.* J. Chromatogr., 643, 117-143.
- Barceló, D. y Alpendura, M.F.** (1996). *A review of sample storage and preservation of polar pesticides in water samples.* Chromatographia, 42, 704-712.
- Barceló, D. y Hennion, M.C.** (1995). *On-line sample handling strategies for the trace-level determination of pesticides and their degradation products in environmental waters.* Anal. Chim. Acta, 318, 1-41.
- Barceló, D. y Hennion, M.C.** (1997). *Sampling of polar pesticides from water matrices.* Anal. Chim. Acta, 338, 3-18.
- Barceló, D., Chiron, S., Lacorte, S., Martinez, E., Salau, J.S. y Hennion, M.C.** (1994). *Solid-phase sample preparation and stability of pesticides in water using Empore disks.* Trends Anal. Chem., 13, 352-361.
- Barceló, D., Solé, M., Durand, G. y Albaiges, J.** (1991). *Analysis and behaviour of organophosphorus pesticides in a rice crop field.* Fresenius J. Anal. Chem., 339, 676-683.
- Barnabas, I.J., Dean, J.R., Fowles, I.A., y Owen, S.P.** (1995). *Automated determination of s-triazine herbicides using solid-phase microextraction.* J. Chromatogr. A, 705, 305-312.
- Barnabas, I.J., Dean, J.R., Hitchen, S.M. y Owen, S.P.** (1994). *Selective supercritical fluid extraction of organochlorine pesticides and herbicides from aqueous samples.* J. Chromatogr. Sci., 32, 547-551.
- Barriuso, E., Houot, S. y Serra-Witting, C.** (1997). *Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides.* Pestic. Sci. 49, 65-75.
- Basham, G., Lavy, T.L., Oliver, H.D. y Scott, H.D.** (1987). *Imazaquin persistence and mobility in three Arkansas soils.* Weed Sci., 35, 576-582.
- Bayer, D.E. y Foy C.L.** (1982). *Action and fate of adjuvants in soils.* En: Adjuvants for Herbicides. Ed.: Hadgson, R.H. Weed Sci. Soc. Am., Champaign, IL. p. 84-92.
- Beck, T.** (1984). *Microbiological and biochemical characteristics of agricultural soils. Part II. Relations to the organic matter content.* Z Pflanzenernähr. Bodenkd., 147, 467-475.
- Beck, A.J., Alcock, E., Wilson, S.C., Wang, M-J., Wild, S.R., Sewart, A.P. y Jones, K.C.** (1995). *Long-term persistence of organic chemicals in sewage sludge-amended agricultural land: a soil quality perspective.* Adv. Agron., 55, 345-391.

- Beck, A.J., Johnson, D.L. y Jones, K.C.** (1996). *The form and bioavailability of non-ionic organic chemicals in sewage sludge-amended agricultural soils*. *Sci. Total Environ.*, 185, 125-149.
- Beier, C. y Hansen, K.** (1992). *Evaluation of porous cup soil-water samplers under controlled field conditions: comparison of ceramic and PTFE cups*. *J. Soil Sci.*, 43, 261-271.
- Beler, C., Hansen, K., Gundersen, P. y Andersen, B.R. y Rasmussen, L.** (1992). *Long-term field comparison of ceramic and poly(tetrafluoroethene) porous cup soil water samplers*. *Environ. Sci. Technol.*, 26, 2005-2011.
- Bellar, J.A. y Budle, W.L.** (1988). *Determination of nonvolatile organic compounds in aqueous environmental samples using liquid chromatography/ mass spectrometry*. *Anal. Chem.*, 60, 2076-2083.
- Bellin, C.A., O'Connor, G.A. y Jin, Y.** (1990a). *Sewage sludge effects on soil and plant quality in a degraded, semiarid grassland*. *J. Environ. Qual.*, 19, 324-329.
- Bellin, C.A., O'Connor, G.A. y Jin, Y.** (1990b). *Sorption and degradation of pentachlorophenol in sludge-amended soils*. *J. Environ. Qual.*, 19, 603-608.
- Beltrán, J., Hernández, F. y Morel, I.** (1995a). *Evolución de los plaguicidas dimetoato y metidation a través de la zona no saturada. Estudios de campo*. En: *Avances en la Investigación en la Zona No Saturada. II Jornadas sobre la Zona No Saturada*. Ed.: Servicio de la Comunidad Autónoma del País Vasco, Vitoria, p. 281-299.
- Beltrán, J., Hernández, F., López, F.J. y Morell, I.** (1995). *Study of sorption processes of selected pesticides on soils and ceramic porous cups used for soil solution sampling*. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 58, 287-303.
- Beltrán, J., López, F.J., Forcada M. y Hernández, F.** (1997). *Microextraction procedures combined with large volume injection in capillary gas chromatography for the determination of pesticide residues in environmental aqueous samples*. *Anal. Chim. Acta*, 356, 125-133.
- Beltrán, J., López, F.J., Forcada, M. y Hernández, F.** (1997b). *Determination of triazine herbicides by capillary gas chromatography with large-volume on-column injection*. *Chromatographia*, 44, 274-278.
- Beltrán, J., Morel, I. y Hernández, F.** (1995b). *Estudios de adsorción de plaguicidas en suelos mediante experiencias en batch*. En: *Avances en la Investigación en la Zona No Saturada. II Jornadas sobre la zona No Saturada*. Ed.: Servicio de la Comunidad Autónoma del País Vasco, Vitoria, p. 257-268.
- Bending, G.D., Shaw, E. y Walker, A.** (2001). *Spatial heterogeneity in the metabolism and dynamics of isoproturon degrading microbial communities in soil*. *Biol. Fertil. Soils*, 33, 484-489.

- Benfenati, E., Terreni, M., Facchini, G., Grasso, P. y Fanelli, R.** (1996). *Analysis of pesticides and related products by chromatography-mass spectrometry*. J. Anal. Chem., 51, 1193-1197.
- Berger, B.M. y Wolfe, N.L.** (1996). *Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueous buffers and anaerobic water-sediment systems: assessing fate pathways using molecular descriptors*. Environ. Toxicol. Chem., 15, 1500-1507.
- Berger, T.A., Wilson, W.H. y Deye, J.F.** (1994). *Analysis of carbamate pesticides by packed column supercritical fluid chromatography*. J. Chromatogr. Sci., 32, 179-184.
- Berti, W.R. y Jacobs, L.W.** (1996). *Chemistry and phytotoxicity of soil trace elements from repeated sewage sludge applications*. J. Environ. Qual., 25, 1025-1032.
- Beulke, S. y Brown, C.D.** (2001). *Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modelling*. Biol. Fertil. Soils, 33, 558-564.
- Beulke, S. y Malkomes, H-P.** (1993). *Ecological effects on microbial activity in soil treated with herbicides*. En: 8<sup>th</sup> EWRS Symposium: Quantitative Approaches in Weed and Herbicide Research and their Practical Application. Ed: Eggers, T. Wageningen. p. 415-422.
- Beulke, S. y Malkomes, H-P.** (2001). *Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and the degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions*. Biol. Fertil. Soils, 33, 467-471.
- Beulke, S., Dubus, I.G., Brown, C.D. y Gottesbüren, B.** (2000). *Simulation of pesticide persistence in the field on the basis of laboratory data. A review*. J. Environ. Qual., 29, 1371-1379.
- Biggar, J.W. y Nielsen, D.R.** (1962). *Miscible displacement: II. Behavior of tracers*. Soil Sci. Soc. Proc. 26, 125-129.
- Biggar, J.W. y Cheung, M.W.** (1973). *Adsorption of picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) on Panoche, Ephrata and Palouse soils: A thermodynamic approach to the adsorption mechanism*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 37, 863-869.
- Biosolid Generation, Use and Disposal in the United States.** Environmental Protection Agency, EPA530-R-99-009, Office of Solid Waste.
- Biswas, N., Zytner, R.G. y Mccorquodale, J.A. y Bewtra, J.K.** (1991). *Prediction of the movement of perchloroethylene in soil columns*. Water, Air Soil Pollut., 60, 361-380.
- Boesten, J.J.T.I.** (1986). *Behaviour of herbicides in soil: simulation and experimental assessment*. Memoria de Tesis doctoral, Univ. de Wageningen (Alemania). 263 pp.
- Boesten, J.J.T.I.** (2000). *Modeller subjectivity in estimating pesticide parameters for leaching models using the same laboratory data set*. Agric. Water Manag., 44, 389-409.



- Boesten, J.J.T.I. y Gottesbüren, B.** (2000). *Testing PESTLA using two modellers for bentazone and ethoprophos in a sandy soil*. *Agricultural Water Management*, 44, 283-305.
- Boesten, J.J.T.I. y van der Linden, A.M.A.** (1991). *Modelling the influence of adsorption and transformation on pesticide leaching and persistence*. *J. Environ. Qual.*, 20, 425-435.
- Boesten, J.J.T.I. y van der Paas, J.T.** (1996). *Movement of water, bromide ion and pesticides ethoprophos and bentazone measured in a sandy soil in Vredepeel (The Netherlands)*. Wageningen, Holanda, DLO-Staring Centre, Report N°122, 123 pp.
- 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 pesticide in soil*. *Pest. Sci.*, 25, 187-203.
- Borburgh, H.J. y Hammers, W.E.** (1992). *Extraction of organophosphorus pesticides from water samples on bakerbond SPE octadecyl cartridges at the ng/l level*. *Toxic. Environ. Chem.*, 35, 79-86.
- Bordjiba, O., Steiman, R., Kadri, M., Semadi, A. y Guiraud, P.** (2001). *Removal of herbicides from liquid media by fungi isolated from a contaminated soil*. *J. Environ. Qual.*, 30, 418-426.
- Bossi, R., Seiden, P., Andersen, S.M., Jacobsen, C.S. y Streibig, J.C.** (1999). *Analysis of metsulfuron-methyl in soil by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Application to a field dissipation*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4462-4468.
- Böttcher, A.B., Miller, L.W. y Campbel, K.L.** (1984). *Phosphorus adsorption in various soil-water extraction cup materials: effects of acid wash*. *Soil Sci.*, 137, 239-244.
- Böttcher, J. y Strebel, O.** (1988a). *Spatial variability of groundwater solute concentrations at the water table under arable land and coniferous forest. Part 2: field data for arable land and statistical analysis*. *Z. Pflanzenernähr. und Bodenkd.*, 151, 192-198.
- Böttcher, J. y Strebel, O.** (1988b). *Spatial variability of groundwater solute concentrations at the water table under arable land and coniferous forest. Part 3: field data for a coniferous forest and statistical analysis*. *Z. Pflanzenernähr. und Bodenkd.*, 151, 199-203.
- Bouaid, A., Martín-Esteban, A., Fernández P. y Cámara, C.** (2000). *Microwave-assisted extraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in oranges by gas chromatography (GC)*. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367, 291-294.
- Bourne, S.** (1978). *Preservation of organophosphorus pesticides in water*. *J. Environ. Sci. Health*, B13, 75-86.

- Bouvier, E.S.P., Martin, D.M., Iraneta, P.C., Capparella, M., Cheng, Y-F. y Phillips, D.J.** (1997). *A novel polymeric reversed-phase sorbent for solid phase extraction*. LC-GC, 10, 577-585.
- Bouwer, H** (1990). *Agricultural chemicals and ground water quality: Issues and challenges*. Ground Water Monit. Rev., 10, 71-79.
- Bouzige, M. y Pichon, V.** (1998). *Immunoextraction of pesticides at the trace level in environmental matrices*. Analisis, 26, M112-M117.
- Bowman, M.C., y Beroza, M.** (1970). *GLC retention times of pesticides and metabolites containing phosphorus and sulfur on four thermally stable columns*. J. AOAC, 53, 499-508.
- Boyd-Boland, A.A. y Pawliszyn, J.** (1995). *Solid-phase microextraction of nitrogen-containing herbicides*. J. Chromatogr. A, 704, 163-172.
- Boyd-Boland, A.A., Magdic, S. y Pawliszyn, J. B.** (1996). *Simultaneous determination of 60 pesticides in water using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry*. Analyst, 121, 929-938.
- Bragadin, M. y Dell'Antone, P.** (1996). *Mitochondrial bioenergetics as affected by cationic detergents*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 30, 280-284.
- Brauch, H.J.** (1993). *Gas chromatography for determination of pesticides in aquatic system - Analytical basis*. Acta Hydrochim. Hydrobiol., 21, 84-88.
- Braun, H. y Frank, R.** (1980). *Organochlorine and organophosphorus insecticides: Their use in eleven agricultural watersheds and their loss to stream waters in Southern Ontario, Canada, 1975-1977*. Sci. Total Environ., 15, 169-192.
- Briggs, G.G.** (1994). *Recent advances in avermectin research*. En: Advances in the Chemistry of Insect Control III. Ed.: Briggs, G.G. Royal Society of Chemistry, Cambridge (UK). p. 1-15.
- Briggs, L.J. y McCall, A.G.** (1904). *An artificial root for inducing capillary movement of soil moisture*. Science, 20, 566-569.
- Brinkman, U.A.Th.** (1994). *On-line sample treatment for or via column liquid chromatography*. J. Chromatography A, 665, 217-231.
- Brinkman, U.A.Th. y Vreuls, J.J.** (1995). *Solid-phase extraction for on-line sample treatment in capillary gas chromatography*. LC-GC, 8, 694-698.
- Brooks, M.W., Jenkins, J., Jimenez, M., Quinn, T. y Clark, J.M.** (1989). *Rapid method for the determination of alachlor, atrazine and metolachlor in groundwater by solid-phase extraction*. Analyst, 114, 405-406.

- Brooks, S.C., Taylor, D.L. y Jardine, P.M.** (1998). *Thermodynamics of bromide exchange on ferrihydrite: Implications for the bromide transport*. Soil Sci. Soc. Am. J., 62, 1275-1279.
- Brown M.J. y Burris D.R.** (1996). *Enhanced organic contaminant sorption on soil treated with cationic surfactants*. Ground Water, 34, 734-744.
- Brown, M.A., Petreas, M.X., Okamoto, H.S., Mischke, T.M. y Stephens, R.D.** (1993). *Monitoring of malathion and its impurities and environmental transformation products on surfaces and in air following an aerial application*. Environ. Sci. Technol., 27, 388-397.
- Brusseau, M.L., Jessup, R.E. y Rao, P.S.C.** (1990). *Rate-limited sorption and nonequilibrium transport of organic chemicals in low organic aquifer materials*. Water Resour. Res., 27, 1137-1145.
- Brusseau, M.L. y Rao, P.S.** (1989). *Sorption nonideality during organic contaminant transport in porous media*. Crit. Rev. Environ. Control, 19, 33-99.
- Burkhard, N. y Guth, J.A.** (1979). *Photolysis of organophosphorus insecticides on soil surfaces*. Pestic. Sci., 10, 313-319.
- Butler, E.C. y Hayes, K.F.** (1998). *Micellar solubilization of nonaqueous phase liquid contaminants by nonionic surfactant mixtures: effects of sorption, partitioning and mixing*. Wat. Res., 32, 1345-1354.
- Buxton, M.C., Redmond, C.T. y Potter, D. A.** (1987) *Pesticide effects on earthworm populations and thatch breakdown in Kentucky Bluegrass*. Kentucky Turfgrass Res., 313, 25-26.
- Camel, V.** (1998). *Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination*. Analisis, 26, M99-M111.
- Camina, F., Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres F. y Leirós C.** (1998). *Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter*. Soil. Biol. Biochem., 30, 1005-1011.
- Campos, E., Barahona, E., Lachica, M. y Mingorance, M.D.** (1998). *A study of the analytical parameters important for the sequential extraction procedure using microwave heating for Pb, Zn and Cu in calcareous soils*. Anal. Chim. Acta, 369, 235-243.
- Capri, E. y Trevisan, M.** (1998). *Prediction of environmental concentrations (PECs) by mathematical model application in Europe*. Pesticide Outlook, 9, 26-30.
- Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N. y Skakkebaek, N.E.** (1992). *Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years*. British Med. J., 305, 609-613.

- Carro, N., García, C.M. y Cela, R.** (1997). *Microwave-assisted extraction of monoterpenols in must samples*. *Analyst*, 122, 325-329.
- Carsel, R.F., Smith, C.N., Mulkey, L.A., Dean, J.D. y Jowise, P.** (1984). *User's manual for the pesticide root zone model (PRZM): Release 1*. EPA-600/3-84-109. U.S. EPA, Athens, GA.
- Carson, R.** (1962). *Silent Spring*. Houghton Mifflin, Boston, MA, 368 pp.
- Carter, A.D. y Heather, A.I.J.** (1995). *Pesticides in groundwater*. En: *Spec. Publ. R. Soc. Chem. (Pesticides-Developments, Impacts and Controls)*, 174, 112-123.
- Castillo, A.** (1986). *Estudio hidroquímico del acuífero de la Vega de Granada*. Memoria de Tesis Doctoral. Unv. de Granada., GR. 658 pp.
- Castillo, A.** (1995). *El embalse subterráneo de la Vega de Granada, uno de los más importantes de Andalucía*. *Tierra y Tecnología*, 9, 37-42.
- Cebrián, C., Andreu, E.S., Ferrando, M.D. y Fernández-Casalderrey, A.** (1991). *Degradation and acute toxicity of methidathion and trichlorfon on *Procambarus clarkii*, in experimental conditions*. *Toxicol. Environ. Chem.*, 31-32, 321-327.
- Celis, R., Barriuso, E. y Houot, S.** (1998a). *Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: dissolved organic matter effects*. *J. Environ. Qual.*, 27, 1348-1356.
- Celis, R., Cornejo, R. y Hermosin, M.C.** (1998). *Sorption of atrazine and simazine by model associations of soil colloids*. *Soil Sci. Soc.*, 62, 165-171.
- Celis, R., Koskinen, W.C., Hermosin, M.C. y Cornejo, J.** (1999). *Sorption and desorption of triadimefon by soils and model soil colloids*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 776-781.
- Cengiz, E.I., Ünlü, E. y Balci, K.** (2001). *The histopathological effects of thiodan on the liver and gut of mosquito fish*. *J. Environ. Sci. Health*, B36, 75-86.
- Chau, A.S.Y. y Afghan** (1982). *Analysis of Pesticides in Water*. Volume I. Ed.: Robinson, J.W. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 202 pp.
- Chaudri, A.M., McGrath, S.P., Giller, K.E., Rietz, E. y Sauerbeck, D.R.** (1993). *Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metal-contaminated sewage sludge*. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 301-309.
- Chee, K.K., Wong, M.K. y Lee, H.K.** (1996). *Microwave-assisted solvent elution technique for the extraction of organic pollutants in water*. *Anal. Chim. Acta*, 330, 217-227.
- Chen, W., Poon, K.-F. y Lam, M.H.W.** (1998). *The application of solid phase microextraction in the analysis of organophosphorus pesticides in a food plant*. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 3816-3820.

- Cheng, H.H.** (1990). *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*. Ed.: Cheng, H.H., Soil Science of America, Inc. Madison, Wisconsin (USA). 305 pp.
- Chevreuil, M., Carru, A., Chesterikoff, A., Boet, P., Tales, E. y Allardi, J.** (1995). *Contamination of fish from different areas of the river Seine (France) by organic (PCB and pesticides) and metallic (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn) micropollutants*. *Sci. Total Environ.*, 162, 31-42.
- Chiou, C.T., Peters, L.J. y Freed, V.H.** (1979). *A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds*. *Science*, 206, 831-832.
- Chiron, S., Abian, J., Ferrer, M., Sánchez-Baeza, F., Messeguer, A. y Barceló, D.**, (1995b). *Comparative photodegradation rates of alachlor and bentazone in natural water and determination of breakdown products*. *Environ., Toxicol. Chem.*, 14, 1287-1298.
- Chiron, S., Dupas, S., Scribe, P. y Barceló, D.** (1994) *Application of on-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry to the determination of pesticides in environmental waters*. *J. Chromatogr. A*, 665, 295-305.
- 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*. *J. AOAC Int.*, 78, 1346-1352.
- Choudhry, G.G. y Webster, G.R.B.** (1985). *Protocol guidelines for the investigations of photochemical fate of pesticides in water, air, and soils*. *Residue Rev.*, 96, 79-136.
- Chu, W. y Jafvert, C.T.** (1994). *Photodechlorination of polychlorobenzene congeners in surfactant micelle*. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 2415-2422.
- Claire, R.L.S.** (1996). *Capillary electrophoresis*. *Anal. Chem.*, 68, 569R-586R.
- Cohen, S.Z.** (1990). *Pesticides in ground water: An overview*. En: *Environmental Fate of Pesticides*. Eds.: Hutson, D.H. y Roberts, T.R. John Wiley & Sons, New York, p. 13-25.
- Cohen, S.Z., Wauchope, R.D., Klein, A.W., Eadsforth, C.V. y Graney, R.** (1995). *Offsite transport of pesticides in water: mathematical models of pesticide leaching and runoff*. *Pure Appl. Chem.*, 67, 2109-2148.
- Cole, M.A., Zhang, L. y Liu, X.** (1995). *Remediation of pesticide contaminated soil by planting and compost addition*. *Compost Science & Utilization*, 3, 20-30.
- Comfort, S.D., Inskeep, W.P. y Macur, R.E.** (1992). *Degradation and transport of dicamba in a clay soil*. *J. Environ. Qual.*, 21, 653-658.
- Corey, J.C., Nielsen, D.R. y Biggar, J.W.** (1963). *Miscible displacement in saturated and unsaturated sandstone*. *Sci. Soc. Proc.*, 27, 258-263.

- Coscollá, R. y Gamón, M.** (2001). *Problemática de residuos en productos vegetales españoles*. Phytoma, 129, 46-50.
- Cox, L., Celis, R., Hermosin, 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*. Environ. Sci. Technol., 34, 4600-4605.
- Crosby, D.G.** (1970). *The nonbiological degradation of pesticides in soils*. En: Pesticide in Soil. Int. Symp., Pestic. Soil. Michigan State University, East Lausing. 86-94 pp.
- Crosby, N.T. y Patel, I.** (1995). *Principles of Good Sampling Practice*. Laboratory of the Government Chemists, Royal Soc. Chem., Cambridge (UK). p. 1-68.
- Cross, J.** (1994). *Introduction to cationic surfactants*. En: Cationics Surfactants, Analytical and Biological Evaluation. Eds.: Cross, J y Singer, E.J. Surfactant Science Series, Vol., 53, Captulo I, Marcel Dekker, New York.
- Cross, R.F.** (2000). *Reducing sample size and obtaining representative samples*. LC-GC 13, 727-733.
- Cserhádi, T., Németh-Kiss V. y Forgács E.** (1996). *Use of thin-layer and high-performance liquid chromatography for the study of the adsorption of surfactants on a river sediment*. J. Biochem. Biophys. Methods, 33, 81-88.
- Cuadros, L., García A.M., Jiménez C. y Román M.** (1993). *Estimation of performance characteristics of an analytical method using the data of the calibration experiment*. Anal. Lett., 26, 1243-1258.
- Cullington, J.E. y Walker, A.** (1999). *Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium*. Soil Biol. Biochemistry, 31, 677-686.
- Dailey, O.D. y Dowler, C.C.** (1998). *Polymeric microcapsules of cyanazine: preparation and evaluation of efficacy*. J. Agric. Food Chem., 46, 3823-3827.
- Dakhel, N., Barriuso, E., Charnay, M-P., Touratier, C. y Ambrosi, D.** (2001). *Amitrole degradation in vineyard soils in relation to pedo-climatic conditions*. Biol. Fertil. Soils 33, 490-494.
- Dalela, R.C., Bansal, S.K., Gupta, A.K. y Verma, S.R.** (1980). *Shortterm stress on the oxigen consumption of a fresh water Saccorbranchius*. Int. J. Environ. Sud., 15, 229-235.
- Dannenberg, A. y Pehkonen, S.O.** (1998). *Investigation of the heterogeneously catalyzed hydrolysis of organophosphorus pesticides*. J. Agric. Food Chem., 46, 325-334.
- de Andréa, M.M., Papini, S. y Nakagawa. L.E.** (2001). *Optimizing microwave-assisted solvent extraction (MASE) of pesticides from soil*. J. Environ. Sci. Health, B36, 87-93.

- de la Colina, C.** (1996). *Metodología para la determinación de residuos de plaguicidas en aguas. Aplicación al acuífero de la Vega de Granada*. Memoria de Tesis Doctoral. Univ. de Granada., GR. 303 pp.
- de la Colina, C., Mingorance, M.D., Peña, A. y Sánchez-Rasero, F.** (1996). *Influence of the solid-phase extraction process on calibration and performance parameters for the determination of pesticide residues in water by gas chromatography*. J. Chromatogr. A, 733, 275-281.
- de la Colina, C., Peña, A., Dios, G. y Sánchez-Rasero, F.** (1993). *Determination of organophosphorous and nitrogen-containing pesticides in water samples by solid phase extraction with gas chromatography and nitrogen-phosphorus detection*. J. Chromatogr., A, 655, 127-132.
- de la Colina, C., Sánchez-Rasero, F., Dios Cancela, G., Romero, E. y Peña, A.** (1995). *Use of solid phase extraction method for the analysis of pesticides in groundwater by gas chromatography with electron capture and FPD*. Analyst, 120, 1723-1728.
- de la Colina, C., Sánchez-Rasero, F., Romero E. y Peña, A.** (1997). *Effect of storage on the recovery of different types of pesticides using solid-phase extraction method*. Analyst, 122, 7-11.
- de Liñán, C.** (2001). *Vademécum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales.. Ediciones Agrotécnicas, S.L. Madrid (España)*. 670 pp.
- de Wolf, W. y Feijtel, T.** (1998). *Terrestrial risk assessment for linear alkyl benzene sulfonate (LAS) in sludge-amended soils*. Chemosphere, 36, 1319-1343.
- Dean, J.R.** (1996). *Effect of soil-pesticide interactions on the efficiency of supercritical fluid extraction*. J. Cromatogr. A, 754, 221-223.
- Dean, J.R.** (1998). *Extraction Methods for Environmental Analysis*. JoHn Wiley & Sons Ltd., West Sussex (Reino Unido).
- Dejonckheere, W.P. y Kips, R.K.** (1974). *Photodecomposition of methidathion*. J. Agric. Food Chem., 22, 959-968.
- Del Re, A.A.M. y Trevisan, M.** (1995). *Selection criteria of xenobiotic leaching models in soil*. Eur. J. Agron., 4, 465-472.
- Delaunay-Bertoncini, N., Pichon, V. y Hennion, M.-C.** (2001a). *Immunoextraction: A high selective method for sample preparation*. LC-GC 14, 162-172.
- Delaunay-Bertoncini, N., Pichon, V. y Hennion, M.-C.** (2001b). *Comparison of immunoextraction sorbents prepared from monoclonal and polyclonal anti-isoproturon antibodies and optimization of the appropriate monoclonal antibody-based sorbent for environmental and biological applications*. Chromatographia, 53, 224-230.

- Dentel, S.K., Jamrah, A.I. y Sparks, D.L.** (1998). *Sorption and cosorption of 1,2,4-trichlorobenzene and tannic acid by organoclays*. *Wat. Res.*, 32, 3689-3697.
- Deschauer, H.** (1995). *Extraction of soil solution with porous suction cups*. En: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, Eds.: Alef, K. y Nannipieri, P., Academic Press Ltd., p. 482-484.
- Deshpande, S., Shiau, B.J., Wade, D., Sabatini, D.A. y Harwell, J.H.** (1999). *Surfactant selection for enhancing ex situ soil washing*. *Water Res.*, 33, 351-360.
- Detroy, M.G., Hunt, P.K.B. y Holub, A.** (1988). *Ground-water-quality-monitoring program in Iowa. Nitrate and pesticides in shallow aquifers*. U.S. Geol. Surv. Water Resour. Invest., 88-4123, 31 pp.
- Di Toro, D.M., Dodge, L.J. y Hand, V.C.** (1987). *A model for anionic surfactant sorption*. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1013-1020.
- Di Vincenzo, J.P. y Dentel S.K.** (1996). *Sorption-desorption of 1,2,4-trichlorobenze on soil: anionic surfactant and cationic polyelectrolite effects*. *J. Environ. Qual.*, 25, 1193-1202.
- Dios, G., Romero, E., y Sánchez-Rasero, F.** (1992). *Carbendazim adsorption on montmorillonite, peat and soils*. *J. Soil. Sci.*, 43, 99-111.
- Dorea, H.S., Tadeo, J.L. y Sánchez-Brunete, C.** (1996). *Determination of organophosphorus pesticide residues in fruits by gas chromatography with ITD and NPD detection*. *Chromatographia*, 43, 380-386.
- Dost, K., Jones, D.C., Auerbach, R. y Davidson, G.** (2000). *Determination of pesticides in soil samples by supercritical fluid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric detection*. *Analyst*, 125, 1751-1755.
- Dowler, C.C., Dailey, O.D. y Mulnix, B.G.** (1999). *Polymeric microcapsules of metolachlor: preparation and evaluation of controlled-release properties*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2908-2913.
- Draper, W.M.** (1995). *Optimizing nitrogen-phosphorus detector gas chromatography for pesticide analysis*. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2077-2082.
- Dubus, I.G., Brown, C.D. y Beulke, S.** (1999). *Sensitivity analyses for FOCUS leaching models*. En: *Proceedings of the BCPC Conference-Weed*. Ed.: Marshal, G. British Crop Protection Council, Farnham, UK. p. 543-548.
- Duinkerken, A., Schellen, A., Halmingh, O., Van Gils, M. y Ooms, B.** (2000). *Thermally assisted on-line solid-phase extraction for HPLC and LC-MS*. *LC-GC*, 13, 182-186.
- Dupiere, A. y Raucourt, M.** (1942). *C.R. Hebd. Séances Acad. Agric. Fr.* 20, 470. En: *Pesticide Manual*, 5<sup>th</sup> edition, (1977),. Eds. Martin, H. y Worthing, C.R. British Crop Protection Council, Lavenham. 293 pp.



- Dupuis, G., Muecke, W. y Esser, H.O. (1971). *The metabolic behaviour of the insecticidal phosphorus ester GS-13005*. J. Econ. Entomol., 64, 588-597.
- Durand, G. y Barceló, D. (1991). *Confirmation of chlorotriazine pesticides, their degradation products and organophosphorus pesticides in soil samples using gas chromatography-mass spectrometry with electron impact and positive and negative ion chemical ionization*. Anal. Chim. Acta, 243, 259-271.
- Durand, G., Abad, J.L., Sánchez-Baeza, F., Messeguer, A. y Barceló, D. (1994). *Unequivocal identification of compounds formed in the photodegradation of fenitrothion in water/methanol and proposal of selected transformation pathways*. J. Agric. Food Chem., 42, 814-821.
- Düring, R.A. y Gäth, S. (2000). *Microwave assisted methodology for the determination of organic pollutants in organic municipal wastes and soils: extraction of polychlorinated biphenils using heat transformer disks*. Fresenius J. Anal. Chem., 368, 684-688.
- Dust, M., Baran, N., Errera, G., Hutson, J.L., Mouvet, C., Schäfer, H., Vereecken, H. y Walker, A. (2000). *Simulation of water and solute transport in field soils with the LEACHP model*. Agric. Water Manag., 44, 275-245.
- Dyson, J.S. y White, R.E. (1987). *A comparison of the convection-dispersion equation and transfer function model for predicting chloride leaching through an undisturbed, structured clay soil*. J. Soil Sci., 38, 157-172.
- Eberle, D.O. y Hörmann, W.D. (1971). *Fate of S-[ (2-methoxy-5-oxo-1,3,4-thiadiazolin-4-yl) methyl]-O,O-dimethyl phosphorodithioate (Supracide) in field-grown agricultural soil*. J. AOAC, 54, 150-159.
- ECETOC (European Centre for Ecotoxicological and Toxicological Safety Assessment of Chemicals) (1993). *Aquatic and terrestrial hazard assessment*. CAS n° 61789-80-8, Technical Report n°53, Bruselas (Bélgica).
- Eckelhoff, A. y Hirner, A.V. (1998). *On the influence of surfactants on the mobility of contaminants*. Prog. Colloid Polym. Sci., 111, 189-192.
- Edwards, D.A., Adeel, Z. y Luthy, R.G. (1994a). *Distribution of nonionic surfactant and phenanthrene in a sediment/aqueous system*. Environ. Sci. Technol., 28, 1550-1560.
- Edwards, D.A., Liu, Z. y Luthy, G. (1994b). *Surfactant solubilization of organic compounds in soil/aqueous systems*. J. Environ. Eng., 120, 5-22.
- Edwards, D.A., Liu, Z. y Luthy, G. (1994c). *Experimental data and modeling for surfactant micelles, HOCs, and soil*. J. Environ. Eng., 120, 23-40.
- Edwards, C.A. (1983). *The environmental impact of pesticides. Fact and fiction*. Meded. Fac. Landbouwwet., Rijksuniv. Gent, 48, 149-155.

- Edwards, C.A.** (2000). *Ecologically Based Use of Insecticides*. En: Insect Pest Management, Chapter 3. Eds.: Rechcigl, J.E. y Rechcigl, N.A., CRC Press, Florida. 392 pp.
- Egizabal, A., Zuloaga, O., Etxebarria, N., Fernández, L.A y Madariaga, J.M.** (1998). *Comparison of microwave-assisted extraction and soxhlet extraction for phenols in soil samples using experimental designs*. *Analyst*, 123, 1679-1684.
- Eichelberger, J.W. y Lichtenberg, J.J.** (1971). *Persistence of pesticides in river water*. *Environ. Sci. Technol.*, 5, 541-544.
- Eisert, R, y Levsen, K.** (1995). *Determination of organophosphorus, triazine and 2, 6 dinitroaniline pesticides in aqueous samples via solid - phase microextraction (SPME) and gas chromatography with nitrogen - phosphorus*. *Fresenius. J. Anal. Chem.*, 351, 555-562.
- El Idrissi, M. y Amechrouq, A.** (2001). *La influencia de los organofosforados sobre el Gammarus gauthierie*. *Phytoma*, 129, 65-67.
- El Mabrouki, K., Castillo, A., Cabrera, J.J. y San Jullán, J. J.** (1999). *Algunos ensayos analíticos de laboratorio realizados utilizando tomamuestras de succión cerámicos y de teflón con aguas residuales urbanas*. En: IV Jornadas sobre Investigación en la Zona no Saturada del Suelo. Tenerife, España, p. 109-115.
- Elhag, F. A., Yule, W.N. y Marshall, W.D.** (1989). *Persistence and degradation of PP993 pyrethroid, fonofos, and chlorpyrifod in a Quebec cornfield's soil*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42, 172-176.
- EPA** (1990). *Fish kills caused by pollution, 1977-1987*. Draft Report of US Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Washington, DC.
- Epstein, E., Taylor, J.M. y Chaney, R.L.** (1976). *Effects of sewage sludge and sludge compost applied to soil on some soil physical and chemical properties*. *J. Environ. Qual.*, 5, 422-426.
- Escríche, B., González-Cabrera, J., Herrero, S. y Ferré, J.** (2001). *La utilización de Bacillus thuringensis como bioinsecticida*. *Phytoma*, 129, 40-44.
- European Community** (1980). *Council Directive on the Quality of Water for Human Consumption*. Official Journal of the EC 80/778 EEC L229, 11.
- Falqui, C., Fournier, J. y Montury, M.** (2001). *Desarrollo reciente de la red para el análisis de residuos de plaguicidas por parte del SPME*. *Phytoma*, 129, 58-60.
- Fantle, W.** (1994). *The incredible shrinking man*. *The Progressive*, October, 12-13.
- Felipó, M.T. y Garau, M.A.** (1987). *La contaminació del sòl. Procès de degradació del medi edàfic i de l'entorn*. Quaderns d'Ecologia Aplicada. Dip. Barcelona (Barcelona), 85 pp.

- Fell, B. (1991). *Tenside: Aktueller Stand-absehbare Entwicklungen*. Tenside Surf. Det., 28, 385-395.
- Fent, G., Jene, B. y Kubiak, R. (1998). *Performance of the Pesticide Leaching Model PELMO 2.01 to predict the leaching of bromide and <sup>14</sup>C-benazolin in a sandy soil in comparison to results of a lysimeter- and field study*. Staatliche Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau (SLFA) Neustadt. Poster Abstract 6B-030, IUPAC Congress Book of Abstracts, London 1998.
- Fernández-Alba, A.R., Agüera, A, Piedra, L. y Contreras, M. (2001). *Determinación de los residuos de plaguicidas de diferentes familias por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas*. Phytoma, 129, 28-32.
- Ferrer, I. y Barceló, D. (1998). *LC-MS methods for trace determination of pesticides in environmental samples*. Analisis, 26, M118-M122.
- Ferrer, I., Pichon, V., Hennion, M.-C. y Barceló, D. (1997). *Automated sample preparation with extraction columns by means of anti-isoproturon immunosorbents for the determination of phenylurea herbicides in water followed by liquid chromatography-diode array detection and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*. J. Chromatogr. A, 777, 91-98.
- Field, J.A., Barber, L.B., Thurman, E.M., Moore, B.L., Lawrence, D.L. y Peake, D.A. (1992). *Fate of alkylbenzenesulfonates and dialkyltetralinsulfonates in sewage-contaminated groundwater*. Environ. Sci. Technol., 26, 1140-1148.
- Fielding, M., Barceló, D. Helweg, A., Galassi, S., Torstensson, L., van Zoonen, P., Wolter, R. y Angeletti, G. (1992). *Pesticides in ground water*. En: Water Pollution Res., Rep. 27. Commission of the European Communities, Bruselas, (Bélgica). 1-136.
- Flint, M.L. y van den Bosch, R. (1977). *A source book on integrated pest management*. Intl. Center Integrated Biol. Control. Berkley, Univ. California.
- Florence, A.T., Tucker, J.G. y Walker, K.A. (1984). *Interactions of nonionic polyethylene alkyl and aryethers with membranes and other biological systems*. En: Structure/Performance Relationship in Surfactants. Eds.: American Chemical Society, Washington, D.C. p. 188-207.
- Fluetsch, K.M. y Sparling, D.W. (1994). *Avian nesting success and diversity in conventionally and organically managed apple orchards*. Environ. Toxicol. Chem., 13, 1651-1659.
- Flury, M. (1996). *Experimental evidence of transport of pesticides through field soils. A review*. J. Environ. Qual., 25, 25-45.
- Flury, M., Flühler, H., Jury, W.A. y Leuenberger, J. (1994). *Susceptibility of soils to preferential flow water: a fiel study*. Water Resour. Res., 30, 1945-1954.

- Flury, M., Leuenberger, J., Studer, B. y Flühler, H.** (1995). *Transport of anions and herbicides in a loamy and a sandy field soil*. *Water Resour. Res.*, 31, 823-835.
- FOCUS** (1995). *Leaching Models and EU Registration*. The Final Report of the Work of the Regulatory Modelling Work Group of Focus. Document 4952/VI/95.
- FOCUS** (1996). *Soil Persistence Models and EU Registration*. European Commission Document 7617/VI/96.
- FOCUS** (1997a). *Soil Persistence Models and EU Registration*. The Final Report of the Soil Modelling Work Group of Focus. Document 7617/VI/96.
- FOCUS** (1997b). *Surface Water Models and EU Registration of Plant Protection Products*. Final Report of the Regulatory Modelling Work Group on Surface Water Models of Focus. Document 6476/VI/96.
- FOCUS** (2000). *FOCUS groundwater scenarios in the EU review of active substances*. Documento de FOCUS Grounwater Scenarios Workgroup, EC. Sanco/321/2000 rev, 202 pp.
- Folch, I., Vaquero, M.T., Comellas, L. y Broto-Puig, F.** (1996). *Extraction and clean-up methods for improvement for the chromatographic determination of polychlorinated biphenyls in sewage sludge-amended soils: elimination of lipids and sulphur*. *J. Chromatogr. A*, 719, 121-130.
- Fomsgaard, I.S.** (1995). *Degradation of pesticides in subsurface soils, unsaturated zone- a review of methods and results*. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 58, 231-245.
- Font, N., Hernández, F., Hogendoorn, E.A., Bauman, R.A. y van Zoonen, P.** (1998). *Microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography-UV detection for screening soils for sulfonylurea*. *J. Chromatogr. A.*, 798, 179-186.
- Fournier, J.B., El Hourch, M., Taglioni, J.P. y Fournier, J.** (1998). *Application des plans d'expériences à l'analyse de pesticides dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse*. *Analisis Magazine*, 26, M44-M62.
- Foy, C.L.** (1991). *Economic and right uses of surfactants for increased efficacy of herbicides*. *Korean J. Weed Sci.*, 11, 74-84.
- Foy, C.L.** (1992). *Influence of certain surfactants on the mobility of selected herbicides in soil*. En: *Adjuvants for Agriculture*, Capítulo 33. Ed.: Foy, C.L., CRC Press, Boca Raton FL. p. 350-365.
- Foy, C.L. y Coats, G.E.** (1972). *Effect of surfactants on the mobility of herbicides in soil*. *Weed Sci. Soc. Am.*, 143, 73.
- Foy, C.L. y Takeno, T.** (1992). *Effect of polysorbate surfactants with various hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values on leaf surface ultraestructure and mobility of*

- methazole in plants and soil*. En: *Adjuvants for Agriculture*. Ed. Chester L. Foy, Boca Raton FL: CRC Press. p. 169-185.
- Frank, R. y Logan, L.** (1988). *Pesticides and industrial chemical residues at the mouth of the Grand, Saugen and Thames Rivers, Ontario, Canada 1981-85*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17, 741-754.
- Frank, R., Braun, H., Clegg, B., Ripley, B. y Johnson, R.** (1990a). *Survey of farm wells for pesticides, Ontario, Canada 1986-1987*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 44, 410-419.
- Frank, R., Braun, H., Ripley, B. y Clegg, B.** (1990b). *Contamination of rural ponds with pesticides, 1971-85, Ontario, Canada*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 44, 401-409.
- Frank, R., Braun, H.E., Chapman, N. y Burchat, C.** (1991). *Degradation of parent compounds of nine organophosphorus insecticides in Ontario surface and ground waters under controlled conditions*. Bull. Environ. Toxicol., 47, 374-380.
- Freijer, J.I., Tiktak, A., Hassanizadeh, S.M. y van der Linden, A.M.A.** (1996). *PESTRAS v3.1: A one-dimensional model for the assessment of the fate of pesticides in soil*. Report 715501007. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, Holanda, 130 pp.
- Fresquez, P.R., Francis, R.E. y Dennis, G.L.** (1990). *Sewage sludge effects on soil and plant quality in a degraded, semiarid grassland*. J. Environ. Qual., 19, 324-329.
- Fröbe, Z., Drevenkar, V. y Stengl, B.** (1989). *Sorption behaviour of some organophosphorus pesticides in natural sediments*. Toxicol. Environ. Chem., 19, 69-82.
- Frost, S.P., Dean, J.R., Evans, K.P., Harradine, K., Cary, C. y Comber, M.H.I.** (1997). *Extraction of hexaconazole from weathered soils: a comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction*. Analyst, 122, 895-898.
- Gaber, H.M., Inskeep, W.P., Comfort, S.D. y Wraith, J.M.** (1995). *Nonequilibrium transport of atrazine through large intact soil cores*. Soil Sci. Soc. Am. J., 59, 60-67.
- Galoux, M., Van Damme, J.C., Bernes, A. y Potvin, J.** (1979). *Gas-liquid chromatographic determination of aldicarb, aldicarb sulfone in soils and water using a Hall electrolytic conductivity detector*. Chromatographia, 177, 245-253.
- Gamerding, A.P., Wagenet, R.J. y van Genuchten, M.Th.** (1990). *Application of two-site/two-region models for studying simultaneous nonequilibrium transport and degradation of pesticides*. Soil Sci. Soc. Am. J., 54, 957-963.
- Gan, J., Papiernik, S.K., Koskinen, W.C. y Yates, S.R.** (1999). *Evaluation of accelerated solvent extraction (ASE) for analysis of pesticide residues in soil*. Environ. Sci. Technol., 33, 3249-3253.

- Ganzler, K., Salgó, A. y Valkó, K.** (1986). *A novel sample preparation method for chromatography*. J. Chromatogr., 371, 299-306.
- Gao, B., Wang, X, Zhao, J. y Sheng, G.** (2001). *Sorption and cosorption of organic contaminant on surfactant-modified soils*. Chemosphere, 43, 1095-1102.
- García Olmedo, F.**(1998). *La Tercera Revolución Verde. Plantas con Luz propia*. Ed.: Debate, S.A.
- García, M.T., Campos, E., Sánchez-Leal, J. y Ribosa, I.** (1999). *Effect of the alkyl chain length on the anaerobic biodegradability and toxicity of quaternary ammonium based surfactants*. Chemosphere, 38, 3473-3483.
- García, M.T., Campos, E., Sánchez-Leal, J. y Ribosa, I.** (2000). *Anaerobic degradation and toxicity of commercial cationic surfactant in anaerobic screening tests*. Chemosphere, 41, 705-710.
- García, M.T., Ribosa, I., Guindulain, T., Sánchez-leal, J. y Vives-Rego, J.** (2001). *Fate and effect of monoalkyl quaternary ammonium surfactants in the aquatic environment*. Environ. Pollution, 111, 169-175.
- García-Valcárcel, A.I. y Tadeo, J.L.** (1999). *Influence on soil moisture on sorption and degradation of hexazinone and simazine in soil*. J. Agric. Food Chem., 47,3895-3900.
- Garrido, A, Martínez, J.L. y Pablos, M.C.** (2001). *Estudio de la contaminación por plaguicidas en aguas superficiales y subterráneas de la provincia de Almería mediante GC-ECD, GC-NPD y GC-MS/MS*. Phytoma, 129, 75-77.
- Garrido, J.J. y Monteoliva, M.** (1981). *Determinacion cualitativa y cuantitativa de residuos de diazinon, dimetoato, etion, malation, metilparation y paration en extractos de suelos por cromatografia de capa fina y comprobacion de resultados mediante cromatografia de gases*. An. Edaf. Agrobiol., XL, 1787-1798.
- Geerdink, R.B., Attema, A., Niessen, W.M.A. y Brinkman, U.A.Th.** (1998). *Selective solid-phase extraction procedures for the determination of triazines and their degradation products in water*. LC-GC, 11, 361-372.
- Gerike, P., Klotz, H., Kooijman, J.G.A., Matthijs, E. y Waters, J.** (1994). *The determination of dihardened tallowdimethyl ammonium compounds (DHTDMAC) in environmental matrices using trace enrichment techniques and high performance liquid chromatography with conductimetric detection*. Wat. Res., 28, 147-154.
- Getzin, L.W.** (1970). *Persistence of methidathion in soils*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 5, 104-110.
- Getzin, L.W. y Rosefield, I.** (1968). *Organophosphorus insecticide degradation by heat-labile substances in soil*. J. Agric. Food Chem., 16, 598-601.

- Giger, W., Ader, A.C. y Brunner, P.H. (1989). *Behaviour of LAS in sewage sludge treatment and in sludge-treated soil*. Water Pollut., 26, 25-100.
- Giles, G.H. y MacEwan, T.H. (1960). *Classification of isotherm types for adsorption from solution*. Proc. Int. Congr. Surf. Act., 2nd, 3, 457-461.
- Giller, E.K., McGrath, S.P. y Hirsch, P.R. (1989). *Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective Rhizobium*. Soil. Biochem., 21, 841-848.
- Ginkel, C.G. (1995). *Biodegradability of cationic surfactants*. En: Biodegradability of Surfactants, Capítulo 6. Eds.: Karsaand, D.R. y Porter, M.R. Blackie Academic & Professional, Chapman and Hall, Londres.
- Gisi, D., Stucki, G. y Hanselmann, K.W. (1997). *Biodegradation of the pesticide 4,6-dinitro-ortho-cresol by microorganisms in batch cultures and in fixed-bed column reactors*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 48, 441-448.
- Gohre, K. Scholl, R. y Miller, G.C. (1986). *Singlet oxygen reactions on irradiated soil surfaces*. Environ. Sci. Technol., 20, 934-938.
- Gohre, K. y Miller, G.C. (1983). *Singlet oxygen generation on soil surfaces*. J. Agric. Food Chem., 31, 1104-1108.
- González-Casado, A., Cuadros-Rodríguez, L., Alonso, E. y Vilchez, L. (1996). *Estimate of gas chromatographic blanks application to detection limits*. J. Chromatogr. A, 726, 133-139.
- González-López, J., Martínez-Toledo, M.V. y Salmeron, V. (1992). *Effect of the insecticide methidathion on agricultural soil microflora*. Biol. Fertil. Soils, 13, 173-175.
- González-Mazo, E. y Gómez-Parra A. (1996). *Monitoring anionic surfactants (LAS) and their intermediate degradation products in the marine environment*. Trends Anal. Chem., 15, 375-380.
- González-Pradas, E., Villafranca-Sánchez, M., Fernández-Pérez, M. y Socías-Viciana, M. (1994). *Sorption of diuron, atrazine and MCPA on an organic matter-amended calcareous soil from Spain*. Fresenius Environ. Bull., 3, 250-255.
- González-Pradas, E., Villafranca-Sánchez, M., Pérez-Cano, V. y Socías-Viciana, M. (1992). *Influence of NH<sub>4</sub>Cl and organic matter additions*. Sci. Total Environ., 123/124, 551-560.
- Goodman, M.A., Aschman, S.M., Atkinson, S.M. y Winer, R. (1988). *Atmospheric reactions of series of dimethyl phosphoramidates and dimethyl phosphorothioamides*. Environ. Sci. Technol., 22, 578-583.

- Goodrich, J.A., Lykins, B.W. y Clark, R.M.** (1991). *Drinking water from agriculturally contaminated ground-water*. J. Environ. Qual., 20, 707-717.
- Gottesbüren, B.** (1991). Konzeption, Entwicklung und Validierung des wissenschaftlichen Herbizid-Beratungssystems HERBASYS. Memoria de Tesis Doctoral. Univ. De Hanover, Alemania. 303 pp.
- Graft, J.F.** (1993). *The role of insect growth regulators in arthropod control*. Parasitol. Today, 9, 471-474.
- Greenhalgh, R.** (1980). *Definition of persistence in pesticide chemistry*. Pure Appl. Chem., 52, 2563-2566.
- Grob, K.** (1986). Classical Split and Splitless Injection in Capillary Gas Chromatography. Basic Technique, Retention Gaps, Solvent Effects. Eds.: Bertsch, W., Jennings, W.G. y Kaiser, R.E. Dr. Hüthig Verlag, Heidelberg (Alemania). 591 pp.
- Grob, K.** (1987). On-Column Injection in Capillary GC. Eds.: Bertsch, W., Jennings, W.G. y Kaiser, R.E. Dr. Hüthig Verlag, Heidelberg (Alemania). 324 pp.
- Grob, K. y Fröhlich, D.** (1993). *Splitless injection of large volumes of aqueous samples - A basic feasibility study*. J. HRC, 16, 224-228.
- Grosby, D.G.** (1970). *The nonbiological degradation of pesticides in soils*. En: Pesticides in Soils. Int. Symp. Pestic. Soil. Michigan State University, East Lansing, p. 86-94.
- Grossmann, J. y Ulluft, P.** (1991). *The extraction of soil water by suction-cup method: a review*. Soil Sci., 42, 83-93.
- Grossmann, J., Quentin, K-E. y Ulluft, P.** (1987). *Sickerwassergewinnung mittels Saugkerzeneine Literaturstudie*. Z. für Pflanzenernähr. Bodenkd., 150, 258-261.
- Guillén, J.A.** (1986). Adsorción de Clorprofan por Minerales de la Arcilla y Suelo. Memoria de Tesis Doctoral. Univ. de Granada., GR. 294 pp.
- Guo, L y Wagenet, R.J.** (1999). *Evaluation of alachlor degradation under transport conditions*. Soil Sci. Soc. Am. J., 63, 443-449.
- Guo, L., Bicki, T.J., Felsot, A.S. y Hinesly, T.D.** (1993). *Sorption and movement of alachlor in soil modified by carbon-rich wastes*. J. Environ. Qual., 22, 186-194.
- Gustafson, D.I.** (1989). *Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability*. Environ. Toxicol. Chem., 8, 339-357.
- Gustafson, D.I. y Holden, L.R.** (1990). *Nonlinear pesticide dissipation in soil: a new model based on spatial variability*. Environ. Sci. Technol., 24, 1032-1038.
- Guth, J.A.** (1981). *Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil*. En: Progress in Pesticide Biochemistry, Vol. 1, Capítulo 2. Eds.: Hutson, D.H. y Roberts, T.R., John Wiley & Sons, Ltd.



- Guzzella, L., Pozzoni, F y Giuliano, G.** (2000). *Field study on mobility and persistence of linuron and monolinuron in agricultural soil.* Inter. J. Environ. Anal. Chem., 78, 87-106.
- Gy, P.M.** (1995). *Sampling-dividing into the unknown.* LC-GC Int., 8, 70-74.
- Haag, W.R. y Hoigne, J.** (1986). *Singlet oxygen in surface waters. III. Photochemical formation and steady state concentrations in various types of waters.* Environ. Sci. Technol., 20, 341.
- Haberhauer, G. y Gerzabek, M.H.** (2000). *A method for determining the potential of suction cup materials to bias pesticide analysis of soil solutions.* En: Pesticide / Soil Interactions. Eds.: Cornejo, J. y Jamet, P., INRA Editions, París. p. 355-360.
- Hall, F.R. y Menn, J.J.** (1999). *Biopesticides. Use and delivery.* Eds.: Hall, F. R. y Menn, J.J. Humana Press Inc., New Jersey, (USA). 431 pp.
- Hall, J.K., Murria, M.R. y Hartwig, N.L.** (1989). *Herbicide leaching and distribution in tilled and untilled soil.* J. Environ. Qual., 18, 439-445.
- Hallas, L.E., Adams, W.J. y Heitkamp, M.A.** (1992). *Glyphosate degradation by immobilized bacteria: field studies with industrial wastewater effluent.* Appl. Environ. Microbiol., 58, 1215-1219.
- Hallberg, G.R.** (1989). *Pesticide pollution of groundwater in the humid United States.* Agric. Ecosys. Environ., 26, 299-367.
- Hamaker, J.W. y Goring, C.A.I.** (1976). *Turnover of pesticide residues in soil.* En: Bound and Conjugated Pesticide Residues in Soil. Capítulo 17. Eds.: Kaufman, D.D., Still, G.G., Paulson, G.D. y Bandal, S.K. ACS Symposium Series 29. ACS, Washington, D.C.
- Hardie, J. y Minks, A.K.** (1999). *Pheromones of Non-Lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants.* CABI Pullislong, Oxon, (UK).
- Harris, G.L., Catt, J.A., Bromilow, R.H. y Armstrong, A.C.** (2000). *Evaluating pesticide leaching models: the Brimstone Farm dataset.* Agric. Water Manag., 44, 75-83.
- Haynes, H.L., Lambrech, J.A. y Moorefield, H.H.** (1957). *Insecticidal properties and characteristics of 1-naphthyl N-methylcarbamate.* Contrib. Boyce Thompson Inst., 18, 507-513.
- Hayworth, J.S. y Burris, D.R.** (1997). *Nonionic surfactant-enhancement solubilization and recovery of organic contaminants from within cationic surfactant enhanced sorbed zones. Experiments.* Environ. Sci. Technol., 31, 1277-1283.
- Hebert, V.R., Hoonhout, C. y Miller, C.** (2000). *Reactivity of certain organophosphorus insecticides toward hydroxyl radicals at elevated air temperatures.* J. Agric. Food Chem., 48, 1922-1928.

- Heckman, J.R., Angle, J.S. y Chaney, R.L.** (1987a). *Residual effects of sewage sludge on soybean: I. Accumulation of heavy metals.* J. Environ. Qual., 16, 113-117.
- Heckman, J.R., Angle, J.S. y Chaney, R.L.** (1987b). *Residual effects of sewage sludge on soybean: II. Accumulation of soil and symbiotically fixed nitrogen.* J. Environ. Qual., 16, 118-124.
- Hennion, M.C.** (1998). *Applications and validation of immunoassays for pesticides analysis.* Analisis, 26, M149-M155.
- Hennion, M.C.** (1998). *Automation in multiresidue analysis of pesticides using on-line solid-phase extraction and liquid chromatography.* Analisis, 26, M131-M136.
- Hennion, M.C., Pichon, V. y Barceló, D.** (1994). *Surface water analysis (trace-organic contaminants) and EC regulations.* Trends Anal. Chem., 13, 361-372.
- Herbert, V.R. y Miller, G.C.** (1990). *Depth dependence of direct and indirect photolysis in soil surfaces.* J. Agric. Food Chem., 38, 913-918.
- Hernández, F., Beltrán, J. y Sancho, J.V.** (1993). *Study of multi-residue methods for the determination of selected pesticides in groundwater.* Sci. Total Environ., 132, 297-312.
- Hernández, F., Serrano, R., Miralles, M.C. y Font, N.** (1996). *Gas and liquid chromatography and enzyme linked immuno sorbent assay in pesticide monitoring of surface water from the Western Mediterranean (Comunidad Valenciana, Spain).* Chromatographia, 42, 151-158.
- Hill, I.R.** (1978). *Microbial transformation of pesticides.* En: Pesticide Microbiology. Eds. Hill, I.R. y Wrigth, S.J.L., Academic Press. Inc., Inglaterra. 844 pp.
- Hinckley, D.A. y Bidleman, T.F.** (1989). *Analysis of pesticides in seawater after enrichment onto C8 bonded phase cartridges.* Environ. Sci. Technol., 23, 995-1000.
- Hiskia, A.E., Atmajidou, M.E. y Tsiipi, D.F.** (1998). *Determination of organophosphorus pesticide residues in Greek virgin olive oil by capillary gas chromatography.* J. Agric. Food. Chem., 48, 570-574.
- Hoerl, A.E.** (1954). *Fitting curves to data.* En: Chemical Business Handbook. Ed.: Perry, J.H., McGraw-Hill Book Co., New York, p. 55-57.
- Hogenboom, A.C., Brinkman, U.A.Th. y Niessen, W.M.A.** (1997). *A single-short column approach to the LC determination of organic microcontaminants in water using diode-array UV and mass spectrometric detection.* LC-GC, 10, 669-678.
- Honeycutt, R.C. y Schabacker, J.** (1994). *Mechanisms of Pesticides Movement into Ground Water.* Eds.: Honeycutt, R.C. y Schabacker, J., Lewis Publishers, CRC Press. Recopilación de trabajos presentados en la reunión de la American Chemical Society en Atlanta, Georgia, (1991).

- Hornish, R.E., Clasby, M.A., Nappier, J.L., Nappier, J.M. y Hoffman, G.A.** (1984). *Total residue analysis of amitraz [1,5-Bis(2,4-dimethylphenyl)-3-methyl 1,3,5-triazapenta-1,4-diene] residues in fruit and soil samples by electron capture gas chromatography.* J. Agric. Food Chem., 32, 1219-1223.
- Huggenberger, F., Letey, J. y Farmer W.J.** (1973). *Effect of two nonionic surfactants on adsorption and mobility of selected pesticides in a soil-system.* Soil. Sci. Soc. Amer., 37, 215-219.
- Hughes, S. y Reynolds, B.** (1990). *Evaluation of porous ceramic cups for monitoring soil water aluminium in acid soils: comment on a paper by Raulund-Rasmussen (1989).* J. Soil Sci., 41, 325-328.
- Hummel, H.E. y Miller, T.A.** (1984). *Techniques in Pheromone Research.* Springer-Verlog. New York. 464 pp.
- Hutson, D.H. y Roberts, T.R.** (1990). *Environmental Fate of Pesticides.* Eds.: Wiley, J & Sons, Ltd.: Chichester, 1990.
- Hyzak, D.L. y Zimdahl, R.L.** (1974). *Rate of dissipation of metribuzin and three analogs in soil.* Weed Sci., 22, 75-79.
- Iglesias-Jiménez, E., Poveda, E., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M.** (1997). *Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticides sorption by the soil.* Arch. Environ. Contam. Toxicol., 33, 117-124.
- Iglesias-Jiménez, E., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M.** (1996). *Pesticide adsorption in a soil-water system in the presence of surfactants.* Chemosphere, 32, 1771-1782.
- Isensee, A.R., Nash, R.G. y Helling, C.S.** (1990). *Effect of conventional vs. no-tillage on pesticide leaching to shallow groundwater.* J. Environ. Qual., 19, 434-440.
- Jafvert, C.T., van Hoof, P.L. y Heath J.K.** (1994). *Solubilization of non-polar compounds by non-ionic surfactant micelles.* Wat. Res., 28, 1009-1017.
- Jarvis, N.J., Brown, C.D. y Granitza, E.** (2000). *Sources of error in model predictions of pesticide leaching: a case study using the MACRO model.* Agric. Water Manage., 44, 247-262.
- Jaynes, D.B.** (1991). *Field study of bromacil transport under continuous-flood irrigation.* Soil Sci. Soc. Am. J., 55, 658-664.
- Jeannot, R.** (1994). *Preservation techniques for analysis of organic compounds in water samples. A review.* Int. J. Environ. Anal. Chem., 57, 231-236.
- Jeannot, R. y Sauvard, E.** (1999). *High performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry applied to analyses of pesticides in water. Results obtained in HPLC/MS/APCI in positive mode.* Analisis, 27, 271-280.

- Jene, B.** (1998). *PELMO 3.00, Manual Extension*. SLFA Neustadt, Ecology Department, Staatliche Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau, Neustadt, Alemania.
- Jensen-Korte, U., Anderson, C. y Spitteller, M.,** (1987). *Photodegradation of pesticides in the presence of humic substances*. *Sci. Total Environ.*, 62, 335-340.
- Jing, H. y Amirav, A.** (1997). *Pesticide analysis with the pulsed-flame photometer detector and a direct sample introduction device*. *Anal. Chem.*, 69, 1426-1435.
- Johnson, K.A., Hooper, M.J. y Weisskopf, C.P.** (1996). *The use of passive sampling devices (PSDs) to determine soil contaminant concentrations*. Pacific Basin Conference on Hazardous Waste Proceedings, Kuala Lumpur Malaysia, p. 517-525.
- Johnson, W.G., Lavy, T.L. y Senseman, S.A.** (1994). *Stability of selected pesticides on solid-phase extraction disks*. *J. Environ. Qual.*, 23, 1027-1031.
- Jones, D.L. y Edwards, A.C.** (1993). *Evaluation of polysulfone hollow fibres and ceramic suction samplers as devices for the in situ extraction of soil solution*. *Plant and Soil*, 150, 157-165.
- Jones, R.L.** (1994). *Modelling the degradation and movement of agricultural chemicals in ground water*. En: *Mechanism of Pesticide Movement into Ground Water*. Eds.: Honeycutt, R.C. & Schabaker, D.J., Boca Raton, Florida (USA).
- Jonson, J.A. y Farmer, W.J.** (1993). *Batch versus column method for determining distribution of organics between soil and water phases*. *Soil Sci.*, 155m 92-99.
- Jordan, L.** (1993). *Automating a solid-phase extraction method*. *LC-GC*, 6, 594-599.
- Junk, G.A. y Richard, J.J.** (1988). *Organics in water: solid phase extraction on a small scale*. *Anal. Chem.*, 60, 451-454.
- Jurado-Exposito, M. y Walker, A.** (1998). *Degradation of isoproturon, propyzamide and alachlor in soil with constant and variable incubation conditions*. *Weed Res.*, 38, 309-318.
- Jury, W.A., Elabd, H. y Resketo, M.** (1986). *Field study of napropamide movement through unsaturated soil*. *Water Resour. Res.*, 22, 749-755.
- Kalinowski, H.T., Wright, B.W. y Smith, R.D.** (1986). *Ammonia and methane chemical ionization mass spectra of acid and carbamate pesticides using direct supercritical fluid injection*. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, 13, 33-45.
- Kalos, M.H. y Whitlock, P.A.** (1986). *Monte Carlo Methods Volume 1: Basics*. Eds.: John Wiley & Sons. 208 pp.
- Katagi, T.** (1990). *Photoinduced oxidation of the organophosphorous fungicide tolclofos methyl on clay minerals*. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1595-1600.

- Katterman, F.R.H. y Day, A.D.** (1989). *Plant growth factors in sewage sludge*. *BioCycle*, 3, 64-65.
- Keith, L.H.** (1988). *Principles of Environment Sampling*. ACS Professional Reference, American Chemical Society, Washington DC.
- Kelly, J.J., Häggblom, M. y Tate, R.L.** (1999). *Effects of the land application of sewage sludge on soil heavy metal concentrations and soil microbial communities*. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1467-1470.
- Khaleel, R., Reddy, K.R. y Overcash, M.R.** (1981). *Changes in soil physical properties due to organic waste applications: a review*. *J. Environ. Qual.*, 10, 133-141.
- Khan, S.U. y Gamble, D.S.** (1983). *Ultraviolet irradiation of an aqueous solution of prometryn in the presence of humic materials*. *J. Agric. Food Chem.*, 31, 1099-1104.
- Kibbey T.C.G. y Hayes K.F.** (1997). *A multicomponent analysis of the sorption of polydisperse ethoxylated nonionic surfactants to aquifer materials: equilibrium sorption behavior*. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1171-1177.
- Kimbrough, D.E., Chin, R. y Wakakuwa, J.** (1994). *Wide-spread and systematic errors in the analysis of soils for polychlorinated biphenyls. Part 2. Comparison of extraction systems*. *Analyst*, 119, 1283-1292.
- King, J.W., Hopper, M.L., Luchtefeld, R.G., Taylor, S.L. y Orton, W.L.** (1993). *Optimization of experimental conditions for the supercritical carbon dioxide extraction of pesticide residues from grains*. *J. AOAC Int.*, 76, 857-864.
- Kinkle, B.K., Angle, J.S. y Keyser, H.H.** (1987). *Long-term effects of metal-rich sewage-sludge application on soil populations of *Bradyrhizobium japonicum**. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 315-319.
- Kiuchi, M., Horton, R. y Kaspar, T.C.** (1994). *Leaching characteristics of repacked soil columns as influenced by subsurface flow barriers*. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58, 1212-1218.
- Klein, M.** (1991). *PELMO: Pesticide Leaching Model*. Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie, Schmallenberg, Alemania.
- Klein, M., Hosang, J., Schäfer, H., Erzgräber, B. y Ressler, H.** (2000). *Comparing and evaluating pesticide leaching models - Results of simulations with PELMO*. *Agric. Water Manage.*, 44, 263-281.
- Klein, M., Müller, M., Dust, M., Görlitz, G., Gottesbüren, B., Hassink, J., Kloskowski, R., Kubiak, R., Ressler, H., Schäfer, H., Sterin, B. y Vereecken, H.** (1997). *Validation of the pesticide leaching model PELMO using lysimeter studies performed for registration*. *Chemosphere*, 35, 2563-2587.

- Kochany, J. y Maguire, R.J.** (1994). *Sunlight photodegradation of metolachlor in water*. J. Agric. Food Chem., 42, 406-412.
- Kök, F.N., Hasirci, V. y Arica, M.Y.** (2000). *In situ bioremediation of xenobiotics: immobilized biocatalysis in bioreactors*. En: Bioremediation of Contaminated Soils. Eds. Wise, D.L., Trantolo, D.J., Marcel Dekker, Inc., New York, USA. p. 133-149.
- Kolb, B. y Bischoff, J.** (1974). *New design of a therm ionic nitrogen and phosphorus detector for gas chromatography*. J. Chromatogr. Sci., 12, 625-629.
- Konstantinou, I.K., Zarkadis, A.K. y Albanis, T.A.** (2001). *Photodegradation of selected herbicides in various natural waters and soils under environmental conditions*. J. Environ. Qual., 30, 121-130.
- Kookana, R.S., Gerrite, R.G. y Aylmore, L.S.G.** (1992). *A method for studying nonequilibrium sorption during transport of pesticides in soil*. Soil Sci., 154, 344-349.
- Kordel, W., Wahle, U., Knoche, H. y Hund, K.** (1995). *Degradation capacities of chlorotoluron and simazine in subsoil horizons*. Sci. Total Environ., 171, 43-50.
- Krijgsman, W. y van de Kamp, C.G.** (1976). *Analysis of organophosphorus pesticides by capillary gas chromatography with flame photometric detection*. J. Chromatogr., 117, 201-205.
- Kubiak, R., Führ, F., Mittelstaedt, W., Hansper, M. y Stefens, W.** (1988). *Transferability of lysimeter results to actual field situation*. Weed Sci., 36, 514-518.
- Kuhne, R.O., Egli, H. y Heinemann, G.** (1991). *An improved residue analytical method for phenylurea herbicides*. Fresenius J. Anal. Chem., 339, 374-375.
- Kuo, T.C. y Huang, Y.T.** (1993). *Lethal effects of five commonly used pesticides on the earthworm *Bimastus parvus* Eisen*. J. Agric. Assoc. China, 162, 33-41.
- Kurtz, D.A., Skkerritt, J.H. y Stanker, L.H.** (1995). *New Frontiers in Agrochemical Immunoassay*. AOAC International. Arlington, VA.
- Kwakman, P.J.M., Vreuls, J.J., Brinkman, U.A.Th. y Ghijsen, R.T.** (1992). *Determination of pesticides in aqueous samples by on-line membrane disk extraction and capillary gas chromatography*. Chromatographia, 34, 41-47.
- Kyriakidis, N., Athanasopoulos, P. y Georgitsnakou, I.** (2000). *Effect of storage temperature on degradation of methidathion in fortified orange and peach juices*. J. AOAC Int., 83, 967-970.
- Lacorte, S. y Barceló, D.** (1994). *Rapid degradation of fenitrothion in estuarine waters*. Environ. Sci. Technol., 28, 1159-1163.
- Lacorte, S. y Barceló, D.** (1996). *Determination of parts per trillion levels of organophosphorus pesticides in groundwater by automated on-line liquid-solid extraction followed by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical*

*ionization mass spectrometry using positive and negative ion modes of operation.* Anal. Chem., 68, 2464-2470.

**Lacorte, S., Ehresmann, N. y Barceló, D.** (1995a). *Stability of organophosphorous pesticides on disposable solid-phase extraction precolumns.* Environ. Sci. Technol., 29, 2834-2841.

**Lacorte, S., Lartiges, S.B., Garriges, P. y Barceló, D.** (1995b). *Degradation of organophosphorus pesticides and their transformation products in estuarine waters.* Environ. Sci. Technol., 29, 431-438.

**Lacorte, S., Molina, C. y Barceló, D.** (1993). *Screening of organophosphorus pesticides in environmental matrices by various gas chromatographic techniques.* Anal. Chim. Acta, 281, 71-84.

**LaFleur, K.S.** (1980). *Loss of pesticides from Congaree sandy loam with time: characterization.* Soil Sci., 130, 83-87.

**LaFleur, K.S., McCaskill, W.R. y Gale, G.T.** (1978). *Trifluralin persistence in Congaree soil.* Soil Sci., 126, 285-289.

**Laird, D.A., Barriuso, E., Dowdy, R.H. y Koskinen, W.C.** (1992). *Adsorption of atrazine on smectites.* Soil Sci. Soc. Am. J., 56, 62-67.

**Landrock, A., Richter, H. y Merten, H.** (1995). *Water Cl<sup>+</sup>, a new selective and highly sensitive method for the detection of environmental components using ion trap mass spectrometers.* Fresenius J. Anal Chem., 351, 536-543.

**Larsen, B.R.** (2000). *Ion-trap multiple mass spectrometry in pesticide analysis.* Analisis, 28, 941-946.

**Larson, R.A., Jafvert, C.T., Boscá, F., Marley, K.A. y Miller, P.L.** (2000). *Effects of surfactants on reduction and photolysis (> 290 nm) of nitroaromatic compounds.* Environ. Sci. Technol., 34, 505-508.

**Lartiges, S. y Garrigues, P.** (1993b). *Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water and sediments by GC/NPD and GC/MS.* Analisis 21, 157-165.

**Lartiges, S. y Garrigues, P.** (1995b). *Degradation kinetics of organophosphorous and organonitrogen pesticides in different waters under various environmental conditions.* Environ. Sci. Technol., 29, 1246-1254.

**Lartiges, S., y Garrigues, P.** (1993). *Screening of organophosphorus pesticides in environmental matrices by various gas chromatographic techniques.* Anal. Chim. Acta, 281, 71-84.

- Lartiges, S., y Garrigues, P.** (1995). *Gas chromatographic analysis of organophosphorus and organonitrogen pesticides with different detectors*. *Analisis*, 23, 418-421.
- Law, J.P. y Kunze G.W.** (1966). *Reactions of surfactants with montmorillonite: adsorption mechanisms*. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 30, 321-327.
- Law, J.P., Bloodworth, M.E. y Runkles J.R.** (1966). *Reactions of surfactants with montmorillonitic soils*. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 30, 327-332.
- Lawrence, J.F. y Thurton, D.** (1978). *High-performance liquid chromatographic data of 1660 pesticides*. *J. Chromatogr.*, 159, 207-226.
- Lawrence, J.F., Menard, C., Hennion, M.-C., Pichon, V. y LeGoffic, F. y Durand, N.** (1996). *Evaluation of immunoaffinity chromatography as a replacement for organic solvent clean-up of plant extracts for the determination of triazine herbicides by liquid chromatography*. *J. Chromatogr. A*, 752, 147-154.
- Leake, C.R.** (1991). *Lysimeter studies*. *Pest. Sci.*, 31, 363-373.
- Leake, C.R., Humphreys, S.P. y Austin, D.J.** (1995). *Factors influencing the modelling of pesticide degradation in soil and the estimation of half-life (DT50) and (DT90). VALUES*. En: BCPC monograph n° 62. Eds: Walker y col., British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK. p. 217-222.
- Lebel, G.L., Williams, D.T., Griffith, G. y Benoit, F.** (1979). *Isolation and concentration of organophosphorus pesticides from drinking water at the ng/L level*. *J. AOAC*, 62:2, 241-249.
- Legrand, M.F., Costentin, E. y Bruchet, A.** (1991). *Occurrence of 38 pesticides in various French surface and ground waters*. *Environ. Sci. Technol.*, 12, 985-996.
- Lehotay, S.J. y Eller, K.I.** (1995). *Development of a method of analysis for 46 pesticides in fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry*. *J. AOAC Int.*, 78, 821-830.
- Lehotay, S.J.** (1998). *New technologies applied in pesticides analysis*. En: Residuos de Plaguicidas'96. IV Seminario Internacional sobre Residuos de plaguicidas. Ed. Valverde, A., PRRG, Univ. de Almería, Almería, España. p. 53-76.
- Lehotay, S.J.** (2000). *Analysis of pesticide residues in mixed fruit and vegetable extracts by direct sample introduction/gas chromatography/tandem mass spectrometry*. *J. AOAC Int.*, 83, 680-697.
- Lehotay, S.J.** (2001). *Herramientas avanzadas para el análisis de los residuos de plaguicidas*. *Phytoma*, 129, 8-16.
- Lehotay, S.J. y Miller, R.W.** (1994). *Evaluation of commercial immunoassays for the detection of alachlor in milk, eggs and liver*. *J. Environ. Sci. Health*, B29, 395-414.



- Leistra, M. y Boesten, J.J.T.I..** (1989). *Pesticides contamination of groundwater in Western Europe*. *Agric. Ecosys. Environ.*, 26, 369-389.
- Lenardon, A., Peleato, M. y Lorenzatti, E.** (1993). *Análisis de plaguicidas en el río Santa Fe (Argentina)*. *Retema*, Septiembre/Octubre, 49-53.
- Letellier, M. y Budzinski, H.** (1999). *Microwave assisted extraction of organic compounds*. *Analisis*, 27, 259-271.
- Letellier, M., Budzinski, H. y Garrigues, P.** (1999). *Focused microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic compounds*. *LC-GC* 12, 222-225.
- Letey, J., Welc, N., Pelisnek, R.E. y Osborn J.** (1962). *Wetting agents can increase water infiltration or retard it, depending on soil condition and water contact angle*. *Calif. Agric.*, 15, 809-820.
- Levitan, L.** (2000). *"How to" and "why": Assessing the enviro-social impacts of pesticides*. *Crop Prot.*, 19, 629-636.
- Levy, J.M.** (2000). *Supercritical fluid-solid sample preparation: a selective extraction strategy*. *LC-GC* 13, 174-181.
- Lewis, M.A.** (1990). *Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae: a review and risk assessment*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 20, 123-140.
- Lewis, M.A.,** (1991). *Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment*. *Wat. Res.*, 25, 101-113.
- Li, Y. y Ghodrati, M.** (1994). *Preferential transport of nitrate through soil columns containing root channels*. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58, 653-659.
- Li, Z. y Bowman, R.S.** (1997). *Counterion effects on the sorption of cationic surfactant and chromate on natural clinoptilolite*. *Environ.Sci.Technol.*, 31, 2407-2412.
- Liberti, A., Brocco, D., Alligrini, I., Cecinato, A. y Possanzini, M.** (1978). *Solar and UV photo decomposition of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the environment*. *Sci. Total Environ.*, 10, 97-104.
- Libman, G.N. y Macintosh, S.C.** (2000). *Registration of biopesticides*. En: *Entomopathogenic Bacteria: from Laboratory to Field Application*. Eds.: Charles, A., Delecluse, A. y Nielsen-LeRoux. Kluwer Academic Publications, Dordrecht, Holanda. p. 333-336.
- Lipinski, J.** (2000). *Automated multiple solid phase micro extraction. An approach to enhance the limit of detection for the determination of pesticides in water*. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367, 445-449.
- Litaor, M.I.** (1988). *Review of soil solution samplers*. *Water Resources Research*, 24, 727-733.

- Litz, N., Doering, H.W., Thiele, M. y Blume, H.P. (1987). *The behaviour of linear alkylbenzene sulfonate in different soils. A comparison between field and laboratory studies*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 14, 103-116.
- Liu, X. y Cole, M.A. (1996). *Minimum effective compost addition for remediation of pesticide-contaminated soil*. *The Science of composting*. Eds.: Bertoldi, M., Sequi, P., Lemures, B. y Papi, T. Blackie Academia and Profesional.
- Liu, Y., Lopez-Avila, V., Alcaraz, M. y Jones, T.L. (1994). *Centrifugal partition chromatographic extraction of phenols and organochlorine pesticides from water samples*. *Anal. Chem.*, 66, 4483-4489.
- Liu, Z., Clay, S.A., Clay, D.E. y Harper, S.S. (1995). *Ammonia impacts on atrazine leaching through undisturbed soil columns*. *J. Environ. Qual.*, 24, 1170-1173.
- Locke, M.A., Harper, S.S. y Gaston, L.A. (1994). *Metribuzin mobility and degradation in undisturbed soil columns*. *Soil Sci.*, 157, 279-288.
- Lohninger, H. (1994). *Estimation of soil partition coefficients of pesticides from their chemical structure*. *Chemosphere*, 29, 1611-1626.
- Lopez-Avila, V. y Young, R., (1994). *Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments*. *Anal. Chem.*, 66, 1097-1106.
- Lopez-Avila, V., Banedicto, J. y Bauer, M. (1998). *Stability of organochlorine and organophosphorus pesticides when extracted from solid matrixes with microwave energy*. *J AOAC Int.*, 83, 1224-1232.
- Lopez-Avila, V., Bauer, K., Milanes, J. y Beckert, W.F. (1993). *Evaluation of Soxtec extraction procedure for extracting organic compounds from soils and sediments*. *J.AOAC Int.*, 76, 864-880.
- Lopez-Avila, V., Wesselman, R. y Edgell, K. (1990). *Gas chromatographic-electron capture detection method for determination of 29 organochlorine pesticides in finished drinking water: collaborative study*. *J. AOAC Int.*, 73, 276-286.
- Lopez-Avila, V., Young, R. y Kim, R. (1995a). *Accelerated extraction of organic pollutants using microwave energy*. *J. Chromatogr. Sci.*, 33, 481-484.
- Lopez-Avila, V., Young, R. y Teplitzky, N. (1995b/1996). *Microwave-assisted extraction as an alternative to Soxhlet, sonication, and supercritical fluid extraction*. *J. AOAC Int.*, 79, 142-156.
- Lopez-Avila, V., Young, R., Banedicto, J., Ho, P. y Kim, R. (1995c). *Extraction of organic pollutants from solid samples using microwave energy*. *Anal. Chem.*, 67, 2096-2102.

- López-Geta, J.A., Martínez-Navarrete, C., Moreno-Merino, L. y Navarrete-Martínez, P.** (1992). *Las Aguas Subterráneas y los Plaguicidas*. Colección: Informes agua subterránea. Instituto Tecnológico GeoMinero de España.
- Lord, E.I. y Shepherd, M.A.** (1993). *Developments in the use of porous ceramic cups for measuring nitrate leaching*. *J. Soil Sci.*, 44, 435-449.
- Lord, H.L. y Pawliszyn, J.** (1998). *Recent advances in solid-phase microextraction*. *LC-GC*, 11, 776-785.
- Lores, E.M., Moore, J.C., Moody, P., Clark, J., Forester, J. y Knight, J.** (1985). *Temephos residues in stagnant ponds after mosquito larvicide applications by helicopter*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 308-313.
- Luke, M.A. y Doose, G.M.** (1983). *A modification of the Luke multiresidue procedure for low moisture, nonfatty products*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30, 110-116.
- Machin, A.F., Mundy, D.E. y Howells, L.C.** (1982). *Pesticide Chemistry: Human Welfare and Environment*. Eds.: Miyamoto, J. y Kearney, P.C., Pergamon Press, Spectrom., NY. p. 135-140.
- Machin, M.V. y McDougall, K.W.** (1978). *Determination of amitraz in cattle dipping baths and sprays*. *J. AOAC*, 61, 1516-1518.
- Majors, R.E.** (1991). *An overview of sample preparation*. *LC-GC Int.*, 4, 10-14.
- Majors, R.E.** (1997). *Liquid extraction technique for sample preparation*. *LC-GC Int.*, 10, 93-101.
- Majors, R.E.** (1999). *Sample concentration by evaporation*. *LC-GC Int.*, 12, 628-636.
- Malkomes, H-P.** (1992). *Herbicide effects on microbial activity in the soil under varied ecological conditions: influence of soil temperature*. *Weed Res.*, 32, 231-241.
- Mallet, C. y Mallet, V.N.** (1989). *Conversion of a conventional packed-column gas chromatograph to accommodate megabore columns*. *J. Chromatogr.*, 481, 27-35.
- Manichon, H.** (1996). *Problèmes et perspectives en productions végétales*. *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 180, 1903-1914.
- Mansour, M. y Feicht, E.A.** (1994). *Transformation of chemical contaminants by biotic and abiotic processes in water and soil*. *Chemosphere*, 28, 323-332.
- Mansour, M., Mamouni, A. y Méallier, P.** (1988). *Factors determining the behaviour and transformation of selected pesticides in water, soil suspension and soil*.
- Mara, S. y Cairncross, S.** (1990). *Directrices para el uso sin riesgo de aguas residuales y excretas en agricultura y acuicultura. Medidas de protección de la salud pública*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, 214 pp.

- Martensson, A.M. y Witter, E.** (1990). *Influence of various soil amendments on nitrogen-fixing soil microorganisms in a long-term field experiment, with special reference to sewage sludge*. Soil Biol. Biochem., 22, 977-982.
- Matisová, E. y Šimekova, M.** (2001). *Cromatografía de alta velocidad y uso en los análisis de plaguicidas*. Phytoma, 129, 25-27.
- Matocha, C.J. y Hossner, L.R.** (1999). *Mobility of the herbicide pyriithiobac through intact soil columns*. J. Agric. Food Chem., 47, 1755-1759.
- Matsumura, F. y Benezet, H.** (1978). *Microbial degradation of insecticides*. En: Pesticide Microbiology. Eds.: Hill, I.R. y Wrigth, S.J.L., Academic Press. Inc. Londres, Reino Unido. 844 pp.
- Mayfield, D., Waugh, J. y Greer, R.** (1993). *Environmental sampling guide*. Environ. Test. Anal., 1, 20-23.
- McDowall, R.C.** (1994). *The universal SPE method*. LC-GC, 7, 638-642.
- McLeod, M.A., Butterfield, A.G., Lewis, D., Phillips, W.E.J. y Coffin, D.E.** (1975). *Gas-liquid chromatography system with flame ionization, phosphorus, sulfur, nitrogen and electron capture detectors operating simultaneously for pesticide residue analysis*. Anal. Chem., 47, 674-679.
- Meinke, P.T.** (1994). *Recent advances in avermectin research*. En: Advances in the Chemistry of Insect Control III. Ed.: Briggs, G.G. royal Society of Chemistry, Cambridge (UK). p. 1-15.
- Meney, K.M., Davidson, C.M. y Littlejohn, D.** (1998). *Use of solid-phase extraction in the determination of benzene, toluene, xylene and cumene in spiked soil and investigation of soil spiking methods*. Analyst, 123, 195-200.
- Métodos Oficiales de Análisis (Tomo III)** (1986). Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Dirección General de Política Alimentaria. Ed. Secretaría General Técnica Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 532 pp.
- Metzger, L.O.Y., Munier-Lamy, C., Choné, T., Belgy, M.J., Andreux, F. y Védy, J.C.** (1996). *Fate of a sulfonylurea herbicide in an alluvial soil, as shown by experimental degradation of pyrimidine-2-<sup>14</sup>C-labeled primsulfuron*. Chemosphere, 33, 625-633.
- Meulenberg, E.P., Mulder, W.H. y Stoks, P.G.** (1995). *Immunoassays for pesticides*. Environ. Sci. Technol., 29, 553-561.
- Miège, C. y Dugay, J.** (1998). *Solid-phase microextraction and gas chromatography for rapid analysis of pesticides*. Analisis, 26, M137-M143.
- Mikami, N., Imanishi, K., Yamada, H. y Miyamoto, J.** (1984). *Photodegradation of the fungicide tolclofos-methyl in water and on soil surface*. J. Pestic. Sci., 9, 215.

- Miliachiz, G.E.** (1994). *Determination of pesticide residues in natural waters of Greece by SPE and GC.* Bull. Environ. Contam. Toxicol., 52, 25-30.
- Mill, T.** (1989). *Structure-activity relationships for photooxidation processes in the environment.* Environ. Toxicol. Chem., 8, 31-43.
- Mill, T., Hendry, D.G. y Richardson, H.** (1980). *Free radical oxidants in natural waters.* Science, 207, 886-887.
- Miller, G.C. y Crosby, D.G.** (1983). *Pesticide photoproducts: generation and significance.* J. Clin. Toxicol., 19, 707-715.
- Miller, G.C. y Zepp, R.G.** (1979). *Photoactivity of aquatic pollutants sorbed on suspended sediments.* Environ. Sci. Technol., 13, 860-863.
- Mills, M.S. y Thurman, E.M.** (1994). *Reduction of nonpoint source contamination of surface water and groundwater by starch encapsulation of herbicides.* Environ. Sci. Technol., 28, 73-79.
- Mocholí, F.** (2001). *Nuevas tendencias en el análisis de multiresiduos de plaguicidas en vegetales mediante CG-EM.* Phytoma, 129, 33-35.
- Mohamed, Al, Nair, G.A., Kassem, H.H. y Nuruzzaman, M.** (1995). *Impact of pesticides on the survival and body mass of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*.* Acta Zool. Fenn., 196, 344-347.
- Mol, J.G.J., Zegers, B.N., Lingeman, H. y Brinkman, U.A.Th.** (1991). *Packed-capillary supercritical fluid chromatography of pesticides using phosphorus-selective detection.* Chromatographia, 32, 203-210.
- Molins, C., Hogendoorn, E.A., Heusinkveld, H.A.G., van Harten, D.C., van Zoonen, P. y Baumann, R.A.** (1996). *Microwave assisted solvent extraction (MASE) for the efficient determination of triazines in soil samples with aged residues.* Chromatographia, 43, 527-532.
- Moltó, J.C., Picó, Y., Font, G. y Mañes, J.** (1991). *Determination of triazines and organophosphorus pesticides in water samples using solid phase extraction.* J. Chromatogr., 55, 137-145.
- Montoya, A., Abad, A., Manclús, J.J., Moreno, M.J., Gamón, M., Saéz, A., Pelegrí, R. y Martínez, M.I.** (2001). *Aplicación de inmunoensayos monoclonales, individuales y multianalito, al análisis de plaguicidas en frutas y hortalizas.* Phytoma, 129, 21-24.
- Moreale, A. y van Bladel, R.** (1979). *Soil interactions of herbicides derivated aniline residues: a thermodynamic approach.* Soil Sci. 127, 1-9.
- Mourato, S., Ozdemiroglu, E. y Foster, V.** (2000). *Evaluating health and environmental impacts of pesticide use: implications for the design of ecolabels and pesticide taxes.* Environ. Sci. Technol., 34, 1456-1461.

- Nagpal, N.K.** (1982). *Comparison among and evaluation of the ceramic porous cup soil water samplers for nutrient transport studies*. Can. J. Soil Sci., 62, 685-694.
- Nash, R.G.** (1988). Environmental Chemistry of herbicides. Eds.: Grover, E. CRC Press: Boca Raton, FL, Vol. I, p 131.
- Nath, B., Pelovski, Y. y Stoyanov, S.K.** (2000). Sustainable Solid Waste Management in the Southern Black Sea Region. Kluwer Academic Publishers, London, 319 pp.
- Navarro, S., Oliva, J., Barba, A. y García, C.** (2000). *Determination of simazina, terbuthylazine, and their dealkylated chlorotriazine metabolites in soil using sonication microextraction and gas chromatography*. J AOAC Int., 83, 1239-1243.
- Neicheva, A., Kovacheva, E. y Marudov, G.** (1988). *Determination of organophosphorus pesticides in apples and water by gas liquid chromatography with electron-capture detection*. J. Chromatogr., 437, 249-253.
- Nemoto, S. y Lehotay, J.** (1998). *Analysis of multiple herbicides in soybeans using pressurized liquid extraction and capillary electrophoresis*. J. Agric. Food Chem., 2190-2199.
- Nicholls, P.H., Harris, G.L. y Brockie, D.** (2000). *Simulation of pesticide leaching at Vredepeel and Brimstone farm using the macropore model PLM*. Agricultural Water Management, 44, 307-315.
- Nielsen, D.R. y Biggar, J.W.** (1961). *Miscible displacement in solis: I. Experimental information*. Soil Sci. Soc. of America, 25, 1-5.
- Nielsen, P.G.** (1985). *Quantitative analysis of parathion and parathion-methyl by combined capillary column gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry*. Biomed. Mass Spectrom., 12, 695-698.
- Niessner, G., Buchberger, W. y Bonn, G.K.** (1996). *Rapid multiresidue screening method for the determination of pesticides in plant materials*. J. Chromatogr. A, 737, 215-222.
- Nitz, S., Moza, P. y Korte, F.** (1982). *A capillary gas-liquid chromatographic method for determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in hops, beer and grapes*. J. Agric. Food Chem., 30, 593-596.
- Noordman, W.H., Ji, W., Brusseau, M.L. y Janssen, D.B.** (1998). *Effects of rhamnolipid biosurfactants on removal of phenanthrene from soil*. Environ. Sci. Technol., 32, 1806-1812.
- Novotny, M., Springston, S.R., Peaden, P.A., Fjeldsted, J.C. y Lee, M.L.** (1981). Anal. Chem., 53, 407A.

- Obana, H., Kikuchi, K., Okihashi, M. y Hori, S. (1997). *Determination of organophosphorus pesticides in foods using an accelerated solvent extraction system*. Analyst, 122, 217-220.
- O'Dell, J.D., Wolt, J.D. y JARDINE, P.M. (1992). *Transport of imazethapyr in undisturbed soil columns*. Soil Sci. Soc. Am. J., 56, 1711-1715.
- Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schonbeck, F. y Weber, A. (1994). *Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops*. Elsevier, Amsterdam. 830 pp.
- Öllers, S., van Lieshout, M., Janssen, H-G. y Cramers, C.A. (1997). *Development of an interface for directly coupled solid phase extraction and GC-MS analysis*. LC-GC, 10, 435-445.
- Onuska, F.I. y Terry, K.A. (1993). *Extraction of pesticides from sediments using a microwave technique*. Chromatographia, 36, 191-194.
- Osburn, Q.W. (1982). *Analytical methods for a cationic fabric softener in waters and wastewaters*. J. Am. Oil. Chem., 59, 453-457.
- Ou, Z., Yediler, Y., He, Y., Jia, L., Kettup, A. y Sun, T. (1996). *Adsorption of alkybenzene sulfonate (LAS) on soils*. Chemosphere, 32, 827-839.
- Papastergiou, A. y Papadopoulou-Mourkidou, E. (2001). *Occurrence of spatial and temporal distribution of pesticide residues in groundwater of major corn-growing areas of Greece*. Environ. Sci. Technol., 35, 63-69.
- Parfitt, R.L., Whitton, J.S. y Susarla, S. (1995). *Removal of DDT residues from soil by leaching with surfactants*. Comm. Soil Sci., 26, 2231-2241.
- Parker, L.W. y Doxtader, K.G. (1982). *Kinetics of the microbial decomposition of 2,4-D in soil: effects of herbicide concentration*. J. Environ. Qual., 11, 679-684.
- Parker, L.W. y Doxtader, K.G. (1983). *Kinetics of the microbial degradation of 2,4-D in soil: effects of temperature and moisture*. J. Environ. Qual., 12, 553-558.
- 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*. J. Liq. Chromatogr., 16, 4019-4029.
- Pattinson, S.J. y Wilkins, J.P.G. (1989). *Investigation by gas chromatography - mass spectrometry of potential contamination incurred by the use of crimp-cap vial closures*. Analyst, 114, 429-434.
- Pawliszyn, J. (2000). *Theory of solid-phase microextraction*. J. Chromatogr. Sci., 38, 270-278.

- Payá-Pérez, A.B., Rahman, M.S., Skejō- Andersen, H. y Larsen, B.R.** (1996). *Surfactants solubilization of hydrofobic compounds in soil and water. II The role of dodecylsulphate-soil interactions for hexachlorobenzene*. Environ. Sci. Pollut., 3, 183-188.
- Pelizzetti, E., Carlin, V., Minero, C., Pramauro, E. y Vinceti, M.** (1992). *Degradation pathways of atrazine under solar light and in the presence of TiO<sub>2</sub> colloidal particles*. Sci. Total Environ., 123/124, 161-169.
- Pellizari, E.D., Tomer, K.B. y Moseley, M.A.** (1981). *Advances in the Identification and Analysis of Organic Pollutants in Water*. Vol. V, Capitulo 12. Ed.: Keith, L.H. Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI.
- Pennel, K.D., Adinolfi, A.M., Abriola, M. y Diallo, M.S.** (1997). *Solubilization of dodecane, tetrachloroethylene, and 1,2-dichlorobenzene in micellar solutions of ethoxylated nonionic surfactants*. Environ. Sci. Technol., 31, 1382-1389.
- Pérez, A. y Prieto, P.** (1980). *Memoria Explicativa de los Mapas de Suelos y Vegetación de la Provincia Granada*. Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada. 126 pp.
- Peterson, A.E., Speth, P.E. y Schlecht, P.** (1988). *Effect of sewage sludge application on groundwater quality*. En: 11<sup>th</sup> Annual Madison Waste Conference, Municipal and Industrial Waste. Universidad de Wisconsin, Madison, EU. p. 272-285.
- Pichon, V.** (1998). *Multiresidue solid-phase extraction for trace-analysis of pesticides and their metabolites in environmental water*. Analisis, 26, M91-M98.
- Pichon, V. y Hennion, M.C.** (1994). *Determination of pesticides in environmental waters by automated on line trace-enrichment and liquid chromatography*. J.Chromatogr., 665, 269-281.
- Pichon, V., Aulard-Macler, E., Oubihi, H., Sassiati, P., Hennion, M.-C. y Caude, M.** (1997). *Supercritical-fluid extraction coupled with immunoaffinity clean-up for the trace analysis of organic pollutants in different matrices*. Chromatographia, 46, 529-536.
- Picó, Y., Louter, A.J.H., Vreuls, J.J. y Brinkman, U.A.Th.** (1994). *On-line trace-level enrichment gas chromatography of triazine herbicides, organophosphorus pesticides, and organosulfur compounds from drinking and surface waters*. Analyst, 119, 2025-2031.
- Pignatello, J.J. y Cohen, S.Z.** (1990). *Environmental chemistry of ethylene dibromide in soil and ground water*. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 112, 1-47.
- Pimentel, D.** (1991). *Diversification of biological control strategies in agriculture*. Crop Prot., 10, 243-253.
- Pimentel, D.** (1995). *Protection crops*. En: The Literature of Crop Science. Ed. Olsen, W.C. University Press, Ithaca, NY, p. 49-66.



- Pimentel, D. y Greiner, A.** (1997). *Environmental and Socio-Economic Costs of Pesticide Use*. En: *Techniques for Reducing Pesticide Use*. Eds.: Pimentel, D., John Wiley & Sons Ltd., West Sussex (Inglaterra), p. 51-78.
- Pinstrup-Andersen, P. y Pandya-Lorch, R.** (1996). *Food for all in 2020: can the world be fed without damaging the environment?*. *Environ. Conserv.*, 23, 226-234.
- Pivetz, B.E., Kelsey, J.W., Steenhuis, T.S. y Alexander, M.** (1996). *A procedure to calculate biodegradation during preferential flow through heterogeneous soil columns*. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60, 381-388.
- Plaguicidas en Suelos** (1986). Ed. Servicio de Publicaciones y B.O.J.A. Consejería de Presidencia. Junta de Andalucía. Sevilla. España.
- Porta, J., López-Acevedo, M. y Roquero, C.** (1994). *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. Ed.: Mundi-Prensa, Madrid, España. 807 pp.
- Pyle, S.M., Marcus, A.B. y Robertson, G.L.** (1998). *ECD-dual-column pesticide method verification by ion trap GC/MS and GC/MS/MS*. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 3213-3217.
- Ramos, C., Carbonell, G., García Baudín, J.M. y Tarazona, J.V.** (2000). *Ecological risk assessment of pesticides in the Mediterranean region. The need for crop-specific scenarios*. *Sci. Total Environ.*, 247, 269-278.
- Ramos, L., Sojo, L.E., Vreuls, J.J. y Brinkman, U.A.Th.** (2000). *Study of the fast competitive adsorption of pesticides in soils by simultaneous filtration and solid-phase extraction with subsequent GC-MS*. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1049-1055.
- Ramsteiner, K., Hormann, W.D. y Eberle, D.O.** (1974). *Multiresidue method for the determination of triazine herbicides in field-grown agricultural crops, water, and soil*. *J. AOAC*, 57, 192-201.
- Reactivos y Productos Químicos** (1999/2000). Merck Farma y Química, S.A., Barcelona, España. 1248 pp.
- Rechcigl, J.E. y Rechcigl, N.A.** (2000). *Insect Pest Management*. CRC Press. Florida. 392 pp.
- Reichman, R., Wallach, R. y Mahrer, Y.** (2000a). *A combined soil-atmosphere model for evaluating the fate of surface-applied pesticides. 1 Model development and verification*. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1313-1320.
- Reichman, R., Wallach, R. y Mahrer, Y.** (2000b). *A combined soil-atmosphere model for evaluating the fate of surface-applied pesticides. 2. The effect of varying environmental conditions*. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1321-1330.

- Rekolainen, S., Gouy, V., Francaviglia, R., Eklo, O.-M. y Bärlund, I.** (2000). *Simulation of soil water, bromide and pesticide behaviour in soil with the GLEAMS model*. *Agric. Water Manage.*, 44, 201-224.
- Renner, R.** (2000). *European ban on use of surfactant alarms U.S. producers*. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 68A.
- Renner, R.** 2000. *Sewage sludge. Pros & cons*. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 433A-435A.
- Ressler, H., Schäfer, H., Górlitz, G., Hermann, M., Hosang, J., Kloskowski, R., Marx, R., Stein, B. y Winkler, R.** (1997). *Recommendations for conducting simulation calculations for the registration procedure*. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 49, 305-309.
- Reus, J.A.W.A. y Leendertse, P.C.** (2000). *The environmental yardstick for pesticides: a practical indicator used in the Netherlands*. *Crop. Prot.*, 19, 637-641.
- Reyes, C. y Zimdahl, R.L.** (1988). *Mathematical description of trifluralin degradation in soil*. *Weed. Sci.*, 37, 314-318.
- Robertson, B.K. y Alexander, M.** (1994). *Growth-linked and cometabolic biodegradation: possible reason for occurrence or absence of accelerated pesticide biodegradation*. *Pestic. Sci.*, 41, 311-318.
- Rodrigues, M.S., Lopez-Real, J.M. y Lee, H.C.** (1996). *Use of composted societal organic wastes for sustainable crop production*. En: *The Science of Composting. Part 1*. Ed.: de Bertoldi y col., Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK. p. 447-456.
- Romero, E., Barifouse, M., Sánchez-Rasero, F., Peña, A., de la Colina, C. y Dios-Cancela, G.** (1997). *Fate of methabenzthiazuron in calcareous soils from Southeastern Spain*. *J. Environ. Qual.*, 26, 466-471.
- 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., Sánchez-Rasero, F., Peña, A., de la Colina, C. y Dios, G.** (1996). *Bentazone leaching in Spanish soils*. *Pestic. Sci.*, 47, 7-15.
- Rosen, M.J., Li, F., Morral, S.W. y Versteeg, D.J.** (2001). *The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organisms*. *Environ. Sci. Technol.*, 35, 954-959.
- Ross, M.A. y Lembi, C.A.** (1985). *Applied Weed Science*. Burgess, Minneapolis, MN.
- Reus, J.A.W.A. y Leendertse, P.C.** (2000). *The environmental yardstick for pesticides: a practical indicator used in the Netherlands*. *Crop Prot.*, 19, 637-641.

- Russo, M.V., Goretti, G. y Liberti, A. (1993). *Rapid determination of chlorinated pesticides using CN-bonded cartridges followed by GC-ECD*. Chromatographia, 35, 290-294.
- Sahoo, D., Smith, J.A., Imbrigiotta, T.E. y McLellan, H.M. (1998). *Surfactant-enhanced remediation of a trichloroethene-contaminated aquifer. 2. Transport of TCE*. Environ. Sci. Technol., 32, 1686-1693.
- Sakai, M. (2001). *Chronic toxicity tests with *Daphnia magna* for examination of river water quality*. J. Environ. Sci. Health, B36, 67-74.
- Samuel, T. y Pillai, M.K.K. (1990). *Effect of temperature and sunlight exposure on the fate of soil applied [<sup>14</sup>C]-gamma-hexachlorocyclohexane*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 19, 214-220.
- Sánchez, L., Mingorance, M.D. y Peña, A. (2000). *Microwave assisted process for methidathion in water samples for physicochemical studies*. Analyst, 125, 1199-1203.
- Sánchez-Camazano, M. y Sánchez Martín, M.J. (1983). *Factors influencing interactions of organophosphorus pesticides with montmorillonite*. Geoderma, 29, 107-118.
- Sánchez-Camazano, M. y Sánchez-Martín, M.J. (1983). *Montmorillonite-catalyzed hydrolysis of phosmet*. Soil Sci., 136, 89-93.
- Sánchez-Camazano, M., Arienzo, M., Sánchez-Martín, M.J. y Crisanto, T. (1995). *Effect of different surfactants on the mobility of selected non-ionic pesticides in soil*. Chemosphere, 31, 3793-3801.
- Sánchez-Camazano, M., Sánchez-Martín, M.J., Poveda, E. e Iglesias-Jiménez, E. (1996). *Study of the effect of the exogenous organic matter on the mobility of pesticides in soils using thin-layer chromatography*. J. Chromatogr. A, 754, 279-284.
- Sánchez-Camazano, M., Iglesias-Jiménez, E. y Sánchez-Martín, M.J. (1997). *City refuse compost and sodium dodecyl sulphate as modifiers of diazinon leaching in soil*. Chemosphere, 35, 3003-3012.
- Sánchez-Camazano, M., Sánchez-Martín, M.J. y Rodríguez-Cruz, M.S. (2000). *Sodium dodecyl sulphate-enhanced desorption of atrazine: effect of surfactant concentration and of organic matter content of soils*. Chemosphere, 41, 1301-1305.
- Sánchez-Camazano, M. y Sánchez-Martín, M.J. (1995). *Occurrence of atrazine in surface and groundwaters in the province of Salamanca (Spain)*. Toxicol. Environ. Chem, 14, 203-211.
- Sánchez-Pérez, J.M. (1994). *Metodología de muestreo de agua y suelo en medio no saturado*. En: Investigación en Zona No Saturada. Aspectos Metodológicos y Algunos Ejemplos. Ed.: Morell-Evangelista, I. Unv. Jaime I. p. 1-7.

- Schoen, R., Gaudet, J.P. y Bariac, T.** (1999). *Preferential flow and solute transport in a large lysimeter, under controller boundary conditions*. J. Hydrol., 215, 70-81.
- Schrader, G.** (1963). *Die Entwicklung neuer insectizider Phosphorsäure-Ester*. 3ªEd. Verlag Chemie GmbH: Weiheim.
- Scott-Wendt, J., Chase, R.G. y Hossner, L.R.** (1988). *Soil chemical variability in sandy Ustalfs in semiarid Niger, West Africa*. Soil Sci., 145, 414-419.
- Scow, K.M.** (1993). *Effect of sorption-desorption and diffusion processes on the kinetics of biodegradation of organic chemicals in soil*. En: SSSA Special Publication, n° 32. SSSA, Madison, Wis., p. 73-114.
- Seaver, C. y Przybytek, C.** (1995). *Solvent Selection, Part II- Physical properties*. LC-GC, 8, 190-195.
- Senesi, N., La Cava, P. y Miano, T.M.** (1997). *Organic chemicals in the environment. Adsorption of imazethapyr to amended and nonamended soils and humic acids*. J. Environ. Qual., 26, 1264-1270.
- Senseman, S.A., Lavy, T.L., Mattice, J.D., Myers, B.M. y Skulman, B.W.** (1993). *Stability of various pesticides on membranous solid-phase extraction media*. Environ. Sci. Technol., 27, 516-519.
- Shah, S. y Taylor, L.T.** (1990). *Application of on-line reversed-phase HPLC with Fourier-transformed infrared detection for analysis of analgesics*. LC-GC, 7, 342-344.
- Shafir, N. y Mandelbaum, R.** (1997). *Atrazine degradation in subsurface soil by indigenous and introduced microorganisms*. J. Agric. Food Chem., 45, 4481-4486.
- Shcherbakova, V.A., Laurinavichius, K.S. y Akimenko, V.K.** (1999). *Toxic effect of surfactants and probable products of their biodegradation on methanogenesis in an anaerobic microbial community*. Chemosphere, 39, 1861-1870.
- Shen, Y-H.** (2000). *Sorption of non-ionic surfactants to soil: the role of soil mineral composition*. Chemosphere, 41, 711-716.
- Sheng, G.Y., Xu, S. y Boyd, S.A.** (1995). *Mechanism(s) controlling sorption of neutral organic contaminants by surfactant-derived and natural organic matter*. Environ. Sci. Technol., 29, 1553-1557.
- Sheng, G.Y., Wang, X.R., Wu, S.N. y Boyd, S.A.** (1998). *Enhanced sorption of organic contaminants by smectitic soils modified with a cationic surfactant*. J. Environ. Qual., 27:4, 806-814.
- Sherma, J.** (1989). *Pesticides*. Anal. Chem., 61, 153R-165R.
- Sherma, J.** (1999). *Pesticide residue analysis; 1997-1998*. J AOAC Int., 84, 561-574.

- Siegrist, R.L. y Jenssen, P.D.** (1990). *Evaluation of sampling method effects on volatile organic compound measurements in contaminated soils*. Environ. Sci. Technol., 24, 1387-1392.
- Simmoms, R.D.** (1991). *Residues in ground water*. Brighton Crop Protection Conference Weeds, 3, 1259-1269.
- Singh, P. y Kanwar, R.S.** (1991). *Preferential solute transport through macropores in large undisturbed soil columns*. J. Environ. Qual., 20, 295-300.
- Slade, R.E.** (1945). *The  $\gamma$  isomer of hexachlorocyclohexane (Gamma hexane). An insecticide with outstanding properties*. Chem. Ind., 314-319.
- Schmitt-Kopplin, Ph., Menzinger, F., Freitag, D. y Kettrup, A.** (2001). *Improving the use of CE in a chromatographer's world*. LC-GC, 14, 284-388.
- Smith, C. N. y Parrish, R.S.** (1993). *A field study to evaluate leaching of aldicarb, metolachlor, and bromide in a sandy loam soil*. J. Environ. Qual., 22, 562-577.
- Smith, C.A., Iwata, Y. y Gunther, F.A.** (1978). *Conversión and disappearance of methidathion on thin layers of dry soil*. J. Agric. Food Chem., 26, 959-962.
- Smith, J.A., Jaffe, P.R. y Chiou, C.T.** (1990). *Effect of ten quaternary ammonium cations on tetrachloromethane sorption to clay from water*. Environ. Sci. Technol., 24, 1167-1172.
- Smith, R.D. y Udseth, H.R.** (1983). *Mass spectrometry with direct supercritical fluid injection*. Anal. Chem., 56, 2476-2480.
- Smith, W.N., Prasher, S.O., Khan, S.U. y Barthakur, N.N.** (1992). *Leaching of  $^{14}\text{C}$ -labeled atrazine in long, intact soil columns*. Trans. ASAE, 35, 1213-1220.
- Snyder, J.L., Grob, R.L., McNally, M.E. y Oostdyk, T.S.** (1992). *Comparison of supercritical fluid extraction with classical sonication and Soxhlet for selected pesticides*. Anal. Chem., 64, 1940-1946.
- Snyder, J.L., Grob, R.L., McNally, M.E. y Oostdyk, T.S.** (1993). *The effect of instrumental parameters and soil matrix on the recovery of organochlorine and organophosphate pesticides from soils using supercritical fluid extraction*. J. Chromatogr. Sci., 31, 183-191.
- Socias-Viciano, M.M., Fernández-Pérez, M., Villafranca-Sánchez, M., González-Pradas, E. y Flores-Céspedes, F.** (1999). *Sorption and leaching of atrazine and MCPA in natural and peat-amended calcareous soils from Spain*. J. Agric. Food Chem., 47, 1236-1241.
- Soil Conservation Service** (1972). *Soil Survey Laboratory Methods and Procedure for Collecting soil samples (method 5A6)*, USDA, Washington, USA.

- Soutter, M. y Musy, A.** (1999). *Global sensitivity analyses of three pesticide leaching models using a Monte-Carlo approach*. J. Environ. Qual., 28, 1290-1297.
- Spencer, W.F., Adams, J.D., Shoup, T.D. y Spear, R.C.** (1980a). *Conversion of parathion to paraoxon on soil dusts and clay minerals as affected by ozone and UV light*. J. Agric. Food Chem., 28, 367-371.
- Spencer, W.F., Shoup, T.D. y Spear, R.C.** (1980b). *Conversion of parathion to paraoxon on soil dusts as related to atmospheric oxidants at three California locations*. J. Agric. Food Chem., 28, 1295-1300.
- Splinder-Barth, M.** (1992). *Endocrine strategies for the control of ectoparasites and insect pests*. Parasitol. Pes., 78, 89-95.
- Spurlock, F.C. y Biggar, J.W.** (1994). *Thermodynamics of organic chemical partition in soils. 2. Nonlinear partition of substituted phenylureas from aqueous solution*. Environ. Sci. Technol., 28, 996-1002.
- Squillace, P.J., Thurman, E.M. y Furlong, E.T.** (1993). *Groundwater as a nonpoint source of atrazine and deethylatrazine in a river during base flow conditions*. Water Resources Res., 29, 1719-1729.
- Stan, H.J. y Heil, S.** (1991). *Two-dimensional capillary gas chromatography with three selective detectors as a valuable tool in residue analysis-state-of-the-art*. Fresenius J. Anal. Chem., 339, 34-39.
- Stan, H.J. y Kellner, G.** (1989). *Confirmation of organo-phosphorus pesticide-residues in food-applying gas-chromatography mass-spectrometry with chemical ionization and pulsed positive negative detection*. Biomed. Environ. Mass Spectrom., 18, 645-651.
- Star, J.L. y Glotfelty, D.E.** (1990). *Atrazine and bromide movement through a silt loam soil*. J. Environ. Qual., 19, 552-558.
- Steber, J. y Wierich, P.** (1995). *Metabolites and biodegradation pathways of fatty alcohol ethoxylates in microbial biocenoses of sewage treatment plants*. Appl. Environ. Microbiol., 49, 530-537.
- Steenhuis, T.S., Staubitz, W., Andreini, M.S., Surface, J., Richard, T.L., Paulsen, R., Pickering, N.B., Hagerman, J.R. y Geohring, L.D.** (1990). *Preferential movement of pesticides and tracers in agricultural soils*. J. Irrig. Drain. Eng., 116, 50-66.
- Steinheimer, R.T.** (1993). *HPLC determination of atrazine and principal degradates in agricultural soils and associated surface and ground water*. J. Agric. Food Chem., 41, 588-595.
- Steinheimer, R.T., Pfeiffer, R.L. y Scoggin, K.D.** (1994). *Extraction of atrazine, cyanazine, deethylatrazine, deisopopylatrazine, and metolachlor from fortified Western cornbelt soils by SFE with CO<sub>2</sub>*. Anal. Chem., 66, 645-650.

- Stelluto, S., Marcomini, A. y Di Corcia, A.** (1990). *Method comparison for herbicide determination in water, GC MS, versus HPLC and liquid-liquid versus SPE.* Ann. Chim. Rome, 80, 369-377.
- Stetter, J.** (1998). *Pesticide innovation. Trends in research and development.* En: Residuos de Plaguicidas'96. IV Seminario Internacional sobre Residuos de plaguicidas. Ed. Valverde, A., PRRG, Unv. Almería, España. p. 89-123.
- Stout, S.J., DaCunha, A.R. y Allardice, D.G.** (1996). *Microwave-assisted extraction coupled with gas chromatography/electron capture negative chemical ionization mass spectrometry for the simplified determination of imidazoline herbicides in soil at the ppb level.* Anal. Chem., 68, 653-658.
- Stout, S.J., DaCunha, A.R. y Safarpour, M.M.** (1997). *Simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at parts-per-billion level by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry.* J. AOAC Int., 80, 426-432.
- Stout, S.J., DaCunha, A.R., Picard, G.L. y Safarpour, M.M.** (1998). *Simplification of analytical methods in pesticide residue analysis by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry.* J AOAC Int., 83, 685-690.
- Stuczynski, T.I., Daniels, W.L., Pistelok, F., Pantuck, K., Chaney, R.L. y Siebielec, G.** (2000). *Application of sludges for remediation of contaminated soil environment.* En: Soil Quality, Sustainable Agriculture and Environmental Security in Central and Eastern Europe. Eds., Wilson, M.J. y Maliszewska-Kordybach, B. Kluwer Academic Publishers. p. 227-242.
- Styczen, M.** (1995). *Validation of pesticide leaching models.* En: Leaching Models and EU Registration. Final report of the FOCUS work group. DOC. 4952/VI/95.
- Suett, D.L., Fournier, J.C., Papadopoulou-Mourkidou, E., Pussemier, L. y Smelt, J.** (1996) *Accelerated degradation: the European dimension.* Soil Biol. Biochem., 28, 1741-1748.
- Sullivan, E.J., Carey, J.W. y Boenam, R.S.** (1998). *Thermodynamics of cationic surfactant sorption onto natural clinoptilolite.* J. Colloid Interface Sci., 206, 369-380.
- Swisher, R.D.** (1986). *Surfactant biodegradation.* Surfactant Science Series. Ed.: Marcel Dekker. N.Y. 1120 pp.
- Taboada, R., Schmitt, E. y Mansour, M.** (1995). *Photodegradation of pirimicarb in natural water and in different aqueous solutions under simulated sunlight conditions.* Fresenius Environ. Bull., 4, 649-654.
- Takahashi, N., Mikami, N., Matsuda, T. y Miyamoto, J.** (1985b). *Photodegradation of the pyrethroid insecticide cypermethrin in water and on soil surface.* J. Pestic. Sci., 10, 629-642.

- Takahashi, N., Mikami, N., Yamada, H. y Miyamoto, J.** (1985). *Photodegradation of the pyrethroid insecticide fenpropathrin in water, on soil and on plant foliage*. Pestic. Sci., 16, 119-131.
- Tanabe, A., Mitobe, H., Kawata, K., Sakai, M. y Yasuhara, A.** (2000). *New monitoring system for ninety pesticides and related compounds in river water by solid-phase extraction with determination by gas chromatography/mass spectrometry*. J. AOAC Int., 83, 61-77.
- Tate, R.L.** (1987). *Soil Organic Matter. Biological and Ecological Effects*. Eds.: John Wiley & Sons. New York. 291 pp.
- Tipler, A.** (1993). *Gas chromatography instrumentation, operation, and experimental considerations*. En: *Gas Chromatography. A Practical Approach*. Ed.: Baugh, P.J. IRL PRESS, Oxford, UK. p. 15-70.
- Testing methods for evaluating solid waste, Method 3545, USEPA SW-846, 3<sup>a</sup> Ed., Update III**, (1995), Washington, DC.
- Thorsen, M., Jørgensen, P.R., Felding, G., Jacobsen, O.H., Spliid, N.H., y Refsgaard, J.C.** (1998). *Evaluation of a stepwise procedure for comparative validation of pesticide leaching models*. J. Environ. Qual., 27, 1183-1193.
- Thurman, E.M. y Aga, D.S.** (2001). *Detection of pesticides and pesticide metabolites using the cross reactivity of enzyme immunoassays*. J AOAC Int., 84, 162-167.
- Thurman, E.M., Goolsby, D.A., Meyer, M.T. y Kolpin, D.W.** (1991). *Herbicides in surface waters of the Midwestern United States: the effect of the spring flush*. Environ. Sci. Technol., 25, 1794-1796.
- Tiktak, A., van der Linden, A.M.A. y Swartjes, F.A.** (1994). *PESTRAS: A one-dimensional model for assessing leaching and accumulation of pesticides in soil*. Report no. 715501003, National Institute of Public Health and the Environment. Bilthoven, Holanda.
- Tomkins, B.A., Merriweather, R. y Jenkins, R.A.** (1992). *Determination of eight organochlorin pesticides at low nanogram/liter concentrations in groundwater using filter disk extraction and gas chromatography*. J. AOAC, 75, 1091-1099.
- Tomlin, C.D.S.** (1997). *The Pesticide Manual*. 11<sup>th</sup> Ed. British Crop Protection Council. UK. 1606 pp.
- Topp, E.** (2001). *A comparison of three atrazine-degrading bacteria for soil bioremediation*. Biol. Fertil. Soils, 33, 529-534.
- Topp, E. y Smith, W.** (1992). *Sorption of herbicides atrazine and metolachlor to selected plastics and silicone rubber*. J. Environ. Qual., 21, 316-317.



- Torrents, A., Anderson, B.G., Bilbouljan, S., Johnson, W.E. y Hapeman, C.J.** (1997). *Atrazine photolysis: mechanistic investigations of direct and nitrate-mediated hydroxy radical processes and the influence of dissolved organic carbon from the Chesapeake Bay*. Environ. Sci. Technol., 31, 1476-1482.
- Traub-Eberhard, U., Henschel, K-P., Kördel, W. y Klein, W.** (1995). *Influence of different field sites on pesticide movement into subsurface drains*. Pestic. Sci., 43, 121-129.
- Trevisan, M., Capri, E., Del Re, A.A.M., Vischetti, C., Marini, M., Businelli, M., Donnarumma, L., Conte, E. e Imbrogliani, G.** (1995). *Evaluation of pesticide leaching models using three Italian data-sets*. En: BCPC Monograph n° 62: Pesticide Movement to Water. Eds: Walker, A., Allen, R., Bailey, S.W., Blair, A.M., Brown, C.D., Gunther, P., Leake, C.R. y Nicholls, P.H. British Crop Protection Council, Farnham Surrey, RU, p. 269-274.
- Trevisan, M., Errera, G., Goerlitz, G., Remy, B. y Sweeney, P.** (2000). *Modelling ethoprophos and bentazone fate in a sandy humic soil with primary pesticide fate model PRZM-2*. Agric. Water Manage., 44, 317-335.
- Trevisan, M., Padovani, L., Vischetti, C. y Capri, E.** (2001). *Perspectivas de predicción de las concentraciones medioambientales de plaguicidas y cuestiones relacionadas*. Phytoma, 129, 68-71.
- Troiano, J., Garretson, C., Krauter, C., Brownell, J. y Hutson, J.** (1993). *Influence of amount and metered for irrigation water application on leaching of atrazine*. J. Environ. Qual., 22, 290-298.
- Tuinstra, L.G.M.Th., Van de Spreng, P. y Galkhorst, P.** (1995). *Ion trap detection for development of a multi residue/multi matrix method for pesticide residues in agricultural products*. Int. J. Environ. Anal. Chem., 58, 81-91.
- Tuominen, L. Kairesalo, T. y Hartikainen, H.** (1994). *Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment*. Appl. Environ. Microbiol., 60, 3454-3457.
- Turnern, A.H., y Houston, H.H.** (1992). *The market for industrial surfactants in the 1990s- an overview*. En: Spec. Publ. Industrial applications of surfactants III., N 107, Ed.: K.D.R., Cambridge: Royal Society of Chemistry, p. 3-19.
- U.S. Environmental Protection Agency.** (1990). National Survey of Pesticides in Drinking Water Wells, Phase I. Report. USEPA; Washington, DC.
- U.S. Environmental Protection Agency.** (1992). National Survey of Pesticides in Drinking Water Wells, Phase II. Report. USEPA; Washington, DC.
- UE (Council of the European Union)** (1997). *Proposal for a Council directive establishing annexe VI to directive 91/414/EEC concerning the placing of the plant protection products on the market*. Official Journal of the European Communities C240, p. 1-23.

- Urruty, L., Fournier, J. y Montury, M.** (2001). *SPME y el análisis de los residuos de los plaguicidas en fresas*. *Phytoma*, 129, 17-20.
- Utsunomiya, A., Watanuki, T., Matsushita, K., Nishina, M. y Tomita, I.** (1997). *Assessment of the toxicity of linear alkylbenzene sulfonate and quaternary alkylammonium chloride by measuring C-13-glycerol in *Dunaliella* sp.* *Chemosphere*, 3, 2479-2490.
- Valverde, A.** (1994). *Extracción con fluidos supercríticos: principios y aplicaciones al análisis de residuos de plaguicidas*. *Pesticide Residues '94*, Almería, España.
- van der Hoff, G.R., Pelusio, F., Brinkman, U.A.Th., Baumann, R.A. y van Zoonen, P.** (1996). *Automated solid-phase extraction coupled to gas chromatography with electron-capture detection: a combination of extraction and clean-up of pyrethroids in the analysis of surface water*. *J. Chromatogr. A*, 719, 59-67.
- van der Ploeg, R.R. y Beese, F.** (1977). *Model calculations for the extraction of soil water by ceramic cups and plates*. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 466-470.
- van der Velde, E.G., Dietvorst, M., Swart, C.P., Ramlal, M.R. y Kootstra, P.R.** (1994). *Optimization of supercritical fluid extraction of organochloride pesticides from real soil samples*. *J. Chromatogr.*, 683, 167-174.
- van Dijk, H.F.G. y Haan, F.A.M.** (1997). *Risk of pesticides to groundwater ecosystems*. *Human Ecol. Risk Assessment*, 3, 151-155.
- van Es, A.** (1992). *High Speed Narrow Bore Capillary Gas Chromatography*. Eds.: Bertsch, W., Frank, H., Jennings, P. y Sandra, P. Heilderberg, Hüthig.
- Vanclooster, M. y Boesten, J.J.T.I.** (2000). *Application of pesticide simulation models to the Vredepeel dataset - I. Water, solute and heat transport*. *Agric. Water Manage.*, 44, 105-117.
- Vanclooster, M., Boesten, J.J.T.I. y Trevisan, M.** (2000a). *Introduction*. *Agricultural Water Management*, 44, ix-x.
- Vanclooster, M., Ducheyne, S., Dust, M. y Vereecken, H.** (2000b). *Evaluation of pesticide dynamics of the WAVE-model*. *Agricultural Water Management*, 44, 317-335.
- Vaughan, P.P., y Blough, N.V.** (1998). *Photochemical formation of hidroxy radicals by constituents of natural waters*. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2947-2953.
- Veeh, R.H., Inskeep, W.P. y Camper, A.K.** (1996). *Soil depth and temperature effect on microbial degradation of 2,4-D*. *J. Environ. Qual.*, 25, 5-12.
- Vincze, A. y Yinon, J.** (1996). *Analysis of thermally labile pesticides by gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/tandem mass*

*spectrometry with a temperature-programmed injector. Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 10, 1638-1644.

**Vischetti, C., Scarponi, L., Perniola, M. y Tarantino, E.** (1998). *Field and lysimeter study on the leaching of bromide ion and the herbicides imazethapyr and bentazone in a clay loam soil in Southern Italy.* Fresenius Environ. Bull., 7a-8a, 641-648.

**Vischetti, C.M., Buselini, M., Marini, M., Capri, E., Trevisan, A.A.M., Del Re, L., Donnarumma, E. y Imbroglini, G.** (1997). *Characterization of spatial variability structure in the three separate field trials on pesticide dissipation.* Pestic. Sci., 50, 175-182.

**Wagner, J., Chen, H. Brownawell, B.J. y Westall, J.C.** (1994). *Use of cationic surfactants to modify soil surfaces to promote sorption and retard migration of hydrophobic organic compounds.* Environ. Sci. Technol., 28, 231-237.

**Walker, W.W., Cripe, C.R., Pritchard, P.H. y Bourquin, A.W.** (1988). *Biological and abiotic degradation of xenobiotic compounds in in vitro estuarine water and sediment/water systems.* Chemosphere, 17, 2255-2270.

**Wang, T.C., Lenahan, R.A. y Tucker, J.W.** (1987). *Deposition and persistence of aerially-applied fenthion in a Florida Estuary.* Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38, 226-231.

**Wang, X. y col.** (1997). *Removal of groundwater organic contaminants via soil modification by a cationic surfactant.* En: Transport of Contaminants in Vadose Zone and Prevention of Groundwater Pollution Workshop Proceedings, Nanjing (China), 18-26 March, 1997.

**Wang, Y., Jaw, Ch. y Chen, Y.** (1994). *Accumulation of 2,4-D and glyphosate in fish and water hyacinth.* Water, Air Soil Pollut., 74, 397-403.

**Wardle, D.A.** (1992) *A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil.* Biol. Rev., 67, 321-358.

**Washington Toxics Coalition and Cooperative Extension-Washington State University** (1994). *The State of Our Groundwater: A Report on Documented Chemical Contamination in Washington.* Washington State University, Pullman, WA, EB1756.

**Watts, D.W., Bogus, E.R., Hall, J.K. y Mumma, R.O.** (1994). *Simultaneous extraction of six pesticides using a dual-column extraction procedure.* J. Environ. Qual., 23, 383-386.

**Weber, J.B. y Whitacre, D.M.** (1982). *Mobility of herbicides in soil columns under saturated- and unsaturated-flow conditions.* Weed Sci., 30, 579-584.

**Weber, J.B.** (1986). *Research Methods in Weed Science* (3<sup>a</sup> Ed.). Ed.: Camper, N.D. Southern Weed Science Society, OR., USA.

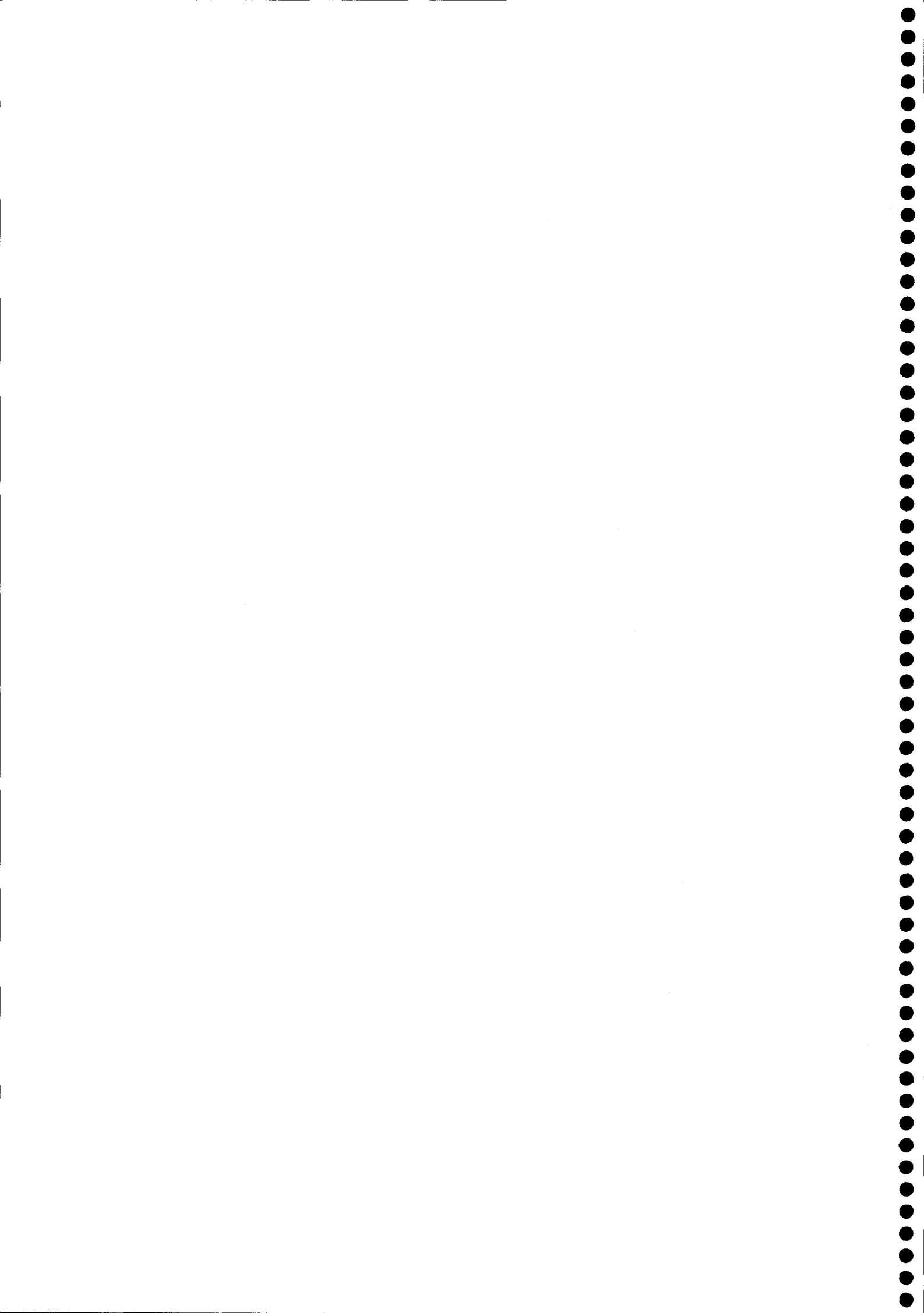
- Weber, J.B.** (1991). *Fate and behaviour of herbicides in soils*. Appl. Plant Sci., 5, 28-41.
- Webster, C.P., Sheperd, M.A., Goulding, K.W.T. y Lord, E.I.** (1993). *Comparison of methods for measuring the leaching of mineral nitrogen from arable land*. J. Soil Sci., 44, 49-62.
- Weichbrodt, M., Vetter, W. y Luckas, B.** (2000). *Microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction with ethyl acetate-cyclohexane before determination of organochlorines in fish tissue by gas chromatography with electron-capture detection*. J AOAC Int., 83, 1334-1343.
- Wells, D.** (2000). *Accessory products for SPE using 96-well plates*. LC-GC, 13, 158-172.
- Wells, D.A.** (1999). *96-Well plate products for solid-phase extraction*. LC-GC, 12, 704-715.
- Wells, D.E.** (1994). *Sampling persistent organic contaminants in sea water*. Trends in Anal. Chem., 13, 339-343.
- Werkheiser, W.O. y Anderson, S.J.** (1996). *Organic chemicals in the environment. Effect of soil properties and surfactant on primisulfuron sorption*. J. Environ. Qual., 25, 809-814.
- Wessel-Bothe, S., Patzold, S., Klein, C., Behre, G. y Welp, G.** (2000). *Sorption of pesticides and DOC on glass and ceramic suction cups*. J. Plant Nutrition Soil Sci., 163, 53-56.
- West, C. y Harwell J.** (1992). *Surfactants and subsurface remediation*. Environ. Sci. Technol., 26, 2324-2330.
- White, R. E., Dyson, J.S., Gerstl, Z. y Yaron, B.** (1986). *Leaching of herbicides through undisturbed cores of a structured clay soil*. Soil Sci. Soc. Am. J., 50, 277-283.
- Whittle, A.J.** (1994). *3-Aryl pyrimidinones: a novel class of potent insecticides*. En: Advances in the Chemistry of Insect Control III. Ed.: Briggs, G.G. royal Society of Chemistry, Cambridge (UK). p. 156-170.
- Wild, S.R., Waterhouse, K.S., McGrath, S.P. y Kevin, C.J.** (1990). *Organic contaminants in an agricultural soil with a known history of sewage sludge amendments: polynuclear aromatic hydrocarbons*. Environ. Sci. Technol., 24, 1706-1711.
- Williams, C.F., Nelson, S.D. y Gish, T.J.** (1999). *Release rate and leaching of starch-encapsulated atrazine in a calcareous soil*. Soil Sci. Soc. Am. J., 63, 425-432.
- Wilson, S.C. y Jones, K.C.** (1999). *Volatile organic compound losses from sewage sludge-amended soils*. J. Environ. Qual., 28, 1145-1153.

- Wise, S.A., Schantz, M.M., Benner, B.A., Hays, M.J. y Schiller, S.B.** (1995). *Certification of polycyclic aromatic hydrocarbons in a marine sediment standard reference material*. Anal. Chem., 67, 1171-1178.
- Wolf, D.C., Tao, T.H., Scott, H.D. y Lavy, T.L.** (1989). *Influence of sterilization methods on selected soil microbiological, physical, and chemical properties*. J. Environ. Qual., 18, 39-44.
- Wolfe, N.L., Mingelgrin, U. y Miller, G.C.** (1990). *Abiotic transformations in water, sediments, and soil*. En: Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling, Chapter 5. SSSA Book Series: 2. pp 103-169.
- Wood, E.J.** (1996). *Los insecticidas actuales y las perspectivas de los nuevos para el futuro*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, XXX, 357-369.
- Woodrow, J.E., Majewski, M.S. y Seiber, J.N.** (1986). *Accumulative sampling of trace pesticides and other organics in surface water using XAD-4 resin*. J. Environ. Sci. Health, B21, 143-164.
- Wopereis, M.C., Gascuel-Oudou, C., Bourrie, G. y Solignet, G.** (1988). *Spatial variability of heavy metals in soil on a one-hectare scale*. Soil Sci., 146, 113-118.
- WRC Guide to Analytical Quality Control for Water Analysis.** (1994). WCR, Medmenham, UK, 100 pp.
- Wright, B.W. y Smith, R.D.** (1985). *Rapid capillary supercritical fluid chromatographic analysis of carbamate pesticides*. J. HRC CC, 8, 8-11.
- Xiong, G., Tang, B., He, X., Zhao, M., Zhang, Z. y Zhang, Z.** (1999). *Comparison of microwave-assisted extraction of triazines from soils using water and organic solvents as the extractants*. Talanta, 48, 333-339.
- Xu, S. y Boyd, S.A.** (1995a). *Cationic surfactant sorption to a vermiculitic subsoil via hydrophobic bonding*. Environ. Sci. Technol., 29, 3022-3028.
- Xu, S. y Boyd, S.A.** (1995b). *Alternative model for cationic surfactant adsorption by layer silicates*. Environ. Sci. Technol., 29, 3022-3028.
- Yamane, A.N., Okado, M. y Sudo, R.** (1984). *The growth inhibition of planktonic algae due to surfactant used in washing agents*. Wat. Res., 18, 1101-1105.
- Yarita, T., Nomura, A., Horimoti, Y. y Yamada, J.** (1994). *Determination of chlorinated pesticides by packed column supercritical fluid chromatography/electron-capture detector*. Microchem. J., 49, 145-149.
- Yokley, R.A. y Cheung, M.W.** (2000). *Analytical method for the determination of atrazine and its dealkylated chlorotriazine metabolites in water using gas chromatography/mass selective detection*. J. Agric. Food. Chem., 48, 4500-4557.

- Young, M.S.** (1998). *Preparation of environmental samples for determination of sulfonylurea herbicides by solid-phase extraction using a polymeric sorbent.* J AOAC Int., 83, 74-78.
- Young, M.S., Phillips, D.J., Iraneta, P.C. y Kirol, J.** (2001). *Mixed-mode solid phase extraction and cleanup procedures for the liquid chromatographic determination of thiabendazole and carbendazim in fruit juices.* J. AOAC Int., 84, 556-562.
- Zafiriou, O.C., Jousset-Dubien, J., Zepp, R.G. y Zika, R.G.** (1984). *Photochemistry of natural waters.* Environ. Sci. Technol., 18, 358-371.
- Zang, Y., Zhong, Y., Luo, Y. y Kong, Z.M.** (2000). *Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm, Eisenia foetida.* Environ. Pollut., 108, 271-278.
- Zegers, B.N., Hogenboom, A.C., Dekkers, S.E.G., Lingeman, H. y Brinkman, U.A.Th.** (1994). *Packed capillary supercritical fluid chromatography of organophosphorus pesticides: selective detection and applications.* J. Microcol. Sep., 6, 55-62.
- Zehnder, H.J.** (1974). *Pool-Gammabestrahlungsanlage an der Eidg. Forschungsanstalt Wädenswil.* Alimenta, 13, 21-24.
- Zenon-Roland, L., Agneessens, R., Nangniot, P. y Jacobs, H.** (1984). *Analysis of pesticide residues by high resolution gas chromatography. Part.1: Comparison between packed and capillary columns in pesticide residue determinations for routine use of capillary gas chromatography.* J. HRC CC, 7, 480-484.
- Zepp, R.G.** (1988). *Environmental photoprocesses involving natural organic matter.* En: Humic Substances and their Role in the Environment. Eds.: Frimmel, F.H. y Christman, R.F., John Wiley & Sons. p. 193-214.
- Zepp, R.G. y Cline, D.M.** (1977). *Rates of direct photolysis in the aqueous environment.* Environ. Sci. Technol., 11, 359-366.
- Zepp, R.G., Schlotzhauer, P.F. y Sink, R.M.** (1985). *Photosensitized transformation involving electronic energy transfer in natural waters: role of humic substances.* Environ. Sci. Technol., 19, 74-81.
- Zhang, Z. y Pawliszyn, J.** (1993). *Headspace solid-phase microextraction.* Anal. Chem., 65, 1843-1852.
- Zhang, Z., Yang, M.J. y Pawliszyn, J.** (1994). *Solid-phase microextraction.* Anal. Chem., 66, 844A-853A.
- Zhang, Z.Z., Sparks, D.L., y Scrivner, N.C.** (1993). *Sorption and desorption of quaternary amine cations on clays.* Environ. Sci. Technol., 27, 1625-1631.
- Zlotorzynski, A.** (1999). *The application of microwave radiation to analytical and environmental chemistry.* Critical Rev. Anal. Chem., 25, 43-76.



# **Abreviaturas**





<b>a.C.</b>	Antes de Cristo
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterasa
<b>ASE</b>	Accelerated solvent extraction (extracción acelerado por disolventes)
<b>C.O.</b>	Carbono orgánico
<b>CC</b>	Capacidad de campo
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CE</b>	Captura electrónica
<b>CE</b>	Captura electrónica (detector)
<b>CFS</b>	Cromatografía de fluidos supercríticos
<b>CFS</b>	Cromatografía por fluidos supercríticos
<b>CG</b>	Cromatografía de gases
<b>CIC</b>	Capacidad de intercambio catiónico
<b>CL</b>	Cromatografía líquida
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Ión cloruro
<b>CLAR</b>	Cromatografía líquida de alta resolución
<b>cmc</b>	Concentración micelar crítica
<b>COH</b>	Compuestos orgánicos hidrófobos
<b>CR</b>	Curva de ruptura
<b>DBO</b>	Demanda bioquímica de oxígeno
<b>DDT</b>	Insecticida organoclorado
<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>DSI</b>	Direct sample injection (Introducción directa de la muestra)
<b>EC</b>	Electroforesis capilar
<b>EDAR</b>	Estación depuradora de aguas residuales
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay (test inmunológico enzimático)
<b>ELL</b>	Extracción líquido líquido

<b>EM</b>	Espectrometría de masas
<b>EM</b>	Espectrometría de masas
<b>EPA</b>	Agencia para la Protección del Medioambiente norteamericana
<b>ES</b>	Electrospray
<b>EU</b>	Estados Unidos
<b>EVACS</b>	Evaporative automatic concentration system (sistema de concentración evaporativo automático)
<b>FPD</b>	Detector fotométrico de llama
<b>FPD</b>	Flame photometric detector (detector fotométrico de llama)
<b>GABA</b>	Ácido gamma amino butírico
<b>GC</b>	Cromatografía de gases
<b>HAL</b>	Niveles de orientación de salud
<b>H<sub>c</sub></b>	Constante de Henry
<b>HT</b>	Hexano / tolueno
<b>IE</b>	Impacto electrónico
<b>INT</b>	Aceptor artificial de electrones (cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazolium)
<b>INTF</b>	Aceptor artificial de electrones (cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazolium), reducido
<b>IQN</b>	Ionización química negativa
<b>IQP</b>	Ionización química positiva
<b>K<sub>d</sub></b>	Coefficiente de partición suelo-agua
<b>K<sub>f</sub></b>	Constante de Freundlich
<b>K<sub>oc</sub></b>	Coefficiente de adsorción
<b>L</b>	Lodo de depuradora
<b>LAS</b>	Surfactante aniónico (sodio lauril sulfato)
<b>LMR</b>	Límites máximos de residuos
<b>LOD</b>	Límite de detección

<b>m.o.</b>	Materia orgánica
<b>MAE</b>	Microwave assisted extraction (extracción asistida por ordenador)
<b>MAYPA</b>	Ministerio de Agricultura y Pesca
<b>Met</b>	Metidation
<b>Mw</b>	Microondas
<b>nAChR</b>	Acetilcolina
<b>NAPLs</b>	Líquidos en fase no acuosa)
<b>NPD</b>	Detector de Nitrógeno y fósforo
<b>NPD</b>	Nitrogen phosphorus detector (detector de fósforo y nitrógeno)
<b>OCI</b>	Organoclorado
<b>OP</b>	Organofosforado
<b>P.I.</b>	Patrón Interno
<b>PB</b>	“Particle Beam” o haz de partículas
<b>PCBs</b>	Policlorobencenos
<b>PKa</b>	Constante de acidez
<b>R</b>	Factor de retardo
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>S</b>	Suelo (de la capa superficial)
<b>SI</b>	Suelo de la capa intermedia
<b>SIa</b>	Suelo de la capa intermedia autoclavado
<b>SL</b>	Suelo (de la capa superficial) enmendado con lodo de depuradora
<b>SLS</b>	Suelo (de la capa superficial) enmendado con lodo de depuradora y surfactante.
<b>SP</b>	Suelo de la capa profunda
<b>SPa</b>	Suelo de la capa profunda autoclavado
<b>SPE</b>	Solid phase extraction (extracción en fase sólida)
<b>SS</b>	Suelo (de la capa superficial) enmendado con surfactante
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tiempo de vida media

<b>T80</b>	Surfactante no iónico (Tween 80)
<b>TD50</b>	Tiempo que se requiere para que se disipe el 50% de la concentración inicial de un compuesto
<b>TDTMA</b>	Surfactante catiónico (bromuro de tetradeciltrimetil amonio)
<b>TS</b>	“Termospray” o pulverización térmica
<b>U.E.</b>	Unión europea
<b>UBV</b>	Ultra bajo volumen
<b>UE</b>	Unión europea
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>V<sub>0</sub></b>	Volumen de poro