

V.B.
A.P. la m

T
11
112

Universidad de Granada
Facultad de Ciencias



UTILIZACIÓN DE ALPERUJO NATURAL Y
BIOTRANSFORMADO COMO ENMIENDA
ORGÁNICA PARA MODIFICAR EL
COMPORTAMIENTO DE HERBICIDAS EN SUELO

TESIS DOCTORAL

Laura Delgado Moreno

Granada, 2006

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA	
GRANADA	
Nº Documento	<u>619596406</u>
Nº Copia	<u>121176978</u>



Universidad de Granada
COMISIÓN DE DOCTORADO

Curso de ____ / ____

Referencia: _____

ACTA DE GRADO DE DOCTOR

DOCTORANDO: LAURA DELGADO MORENO
LICENCIADO EN: LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES
PROGRAMA DE DOCTORADO: CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DEL MEDIO AMBIENTE
DEPARTAMENTO RESPONSABLE: EDAFOLOGIA Y QUIMICA AGRICOLA
TITULO DE LA TESIS: UTILIZACIÓN DE ALPERUJO NATURAL Y BIOTRANSFORMADO COMO ENMIENDA ORGÁNICA PARA MODIFICAR EL COMPORTAMIENTO DE HERBICIDAS EN SUELO
DIRECTORES/AS: ARANZAZU PEÑA HERAS

TRIBUNAL

PRESIDENTE: Dr. D. JOSE AGUILAR RUIZ (UGR)
VOCALES: Dr. D. GONZALO ALMENDROS MARTIN (CSIC)
Dr. DR.ª M.ª MARIA SOLEDAD ANDRADES RODRIGUEZ (ULR)
Dr. ANTONIO CASTILLO MARTIN (CSIC)
SECRETARIO: Dr. JUAN A. FERNANDEZ GARCIA

Reunido el día de la fecha el Tribunal para el Grado de Doctor de D^a LAURA DELGADO MORENO, éste procede al acto de mantenimiento y defensa de la Tesis Doctoral.

Terminado dicho acto y contestadas las objeciones formuladas por el Tribunal, éste otorgó la calificación de:

Sobresaliente "cum laude" por unanimidad

Granada, 5 de febrero de 2007

EL PRESIDENTE

Fdo.: José Aguilar Ruiz

EL SECRETARIO DEL TRIBUNAL

Fdo.: Juan A. Fernández García

EL DOCTORANDO

Fdo.: Laura Delgado Moreno

EL VOCAL

Fdo.: Gonzalo Almendros Martín

EL VOCAL

Fdo.: M.ª Soledad Andrades Rodríguez

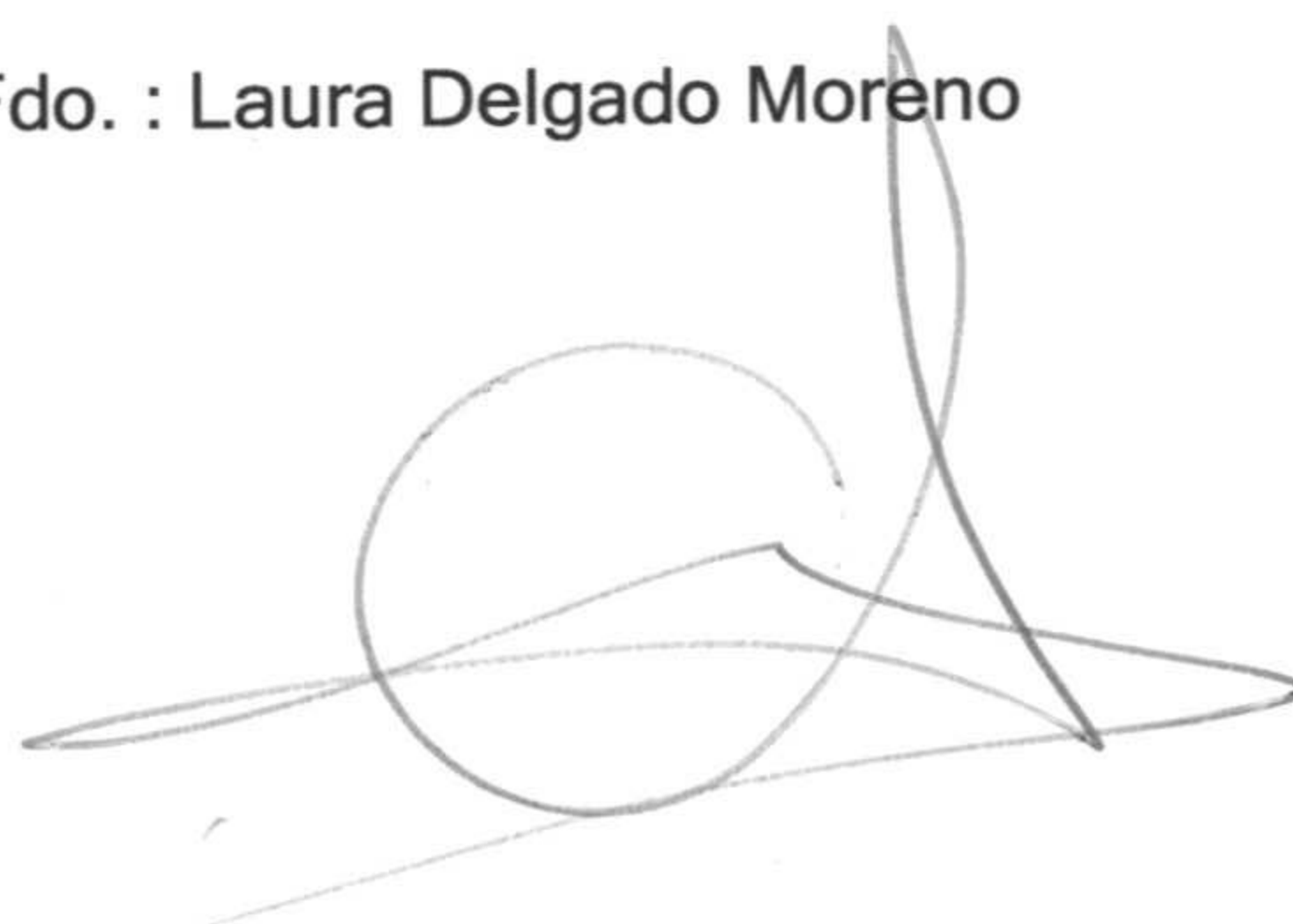
EL VOCAL

Fdo.: Antonio Castillo Martín

UTILIZACIÓN DE ALPERUJO NATURAL Y BIOTRANSFORMADO
COMO ENMIENDA ORGÁNICA PARA MODIFICAR EL COMPORTAMIENTO
DE HERBICIDAS EN SUELO

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias
Ambientales por la licenciada Laura Delgado Moreno a noviembre de 2006

Fdo. : Laura Delgado Moreno

A handwritten signature in black ink, consisting of a large circle followed by a vertical line and a horizontal line extending to the right.

Vº Bº

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized 'A' followed by several loops and a long horizontal line extending to the right.

Mª Aranzazu Peña Heras,
Investigador Científico de la
Estación Experimental del Zaidín.
CSIC. Granada

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Ciencias de la Tierra y Química Agrícola de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC), gracias a una beca predoctoral de formación de personal universitario (FPU).

ÍNDICE

OBJETIVOS	3
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	
1. PLAGUICIDAS	7
1.1. SITUACIÓN ACTUAL	7
1.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES	8
1.3. HERBICIDAS	10
1.3.1. Herbicidas triazínicos	11
1.3.1.a. Estructura química de las triazinas	12
1.3.1.b. Propiedades físico-químicas	13
1.3.1.c. Modo de acción y aplicaciones	13
1.3.2. Herbicidas derivados de la urea: sulfonilureas	14
1.3.2.a. Estructura química de las sulfonilureas	14
1.3.2.b. Propiedades físicas y químicas	15
1.3.2.c. Modo de acción y aplicaciones	17
1.4. DINÁMICA DE PLAGUICIDAS EN SUELO	17
1.5. FACTORES QUE AFECTAN A LA DINÁMICA DE PLAGUICIDAS EN SUELO	20
1.5.1. Características del plaguicida	20
1.5.1.a. Solubilidad	21
1.5.1.b. Volatilidad	21
1.5.1.c. Persistencia	22
1.5.1.d. Estado iónico	22
1.5.1.e. Características estructurales	23
1.5.2. Características del suelo	23
1.5.2.a. Estructura del suelo	23
1.5.2.b. Hidrología del suelo	24
1.5.2.c. Textura del suelo	24
1.5.2.d. Arcilla	25
1.5.2.e. Materia orgánica	26
1.5.2.f. Otros factores	30
1.5.3. Fenómenos de adsorción	30
1.5.3.a. Mecanismos de adsorción	31
1.5.3.b. Factores que afectan a la adsorción de plaguicidas en suelo	31
1.5.4. Degradación de los plaguicidas en suelo	34
1.5.4.a. Fotodegradación	35
1.5.4.b. Degradación microbiológica	35
1.5.4.c. Degradación química	36
1.5.5. Otros factores	37
1.6. MEDIDAS PREVENTIVAS DE LA CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS	37

2. RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL OLIVAR .	40
2.1. PROBLEMÁTICA DE LOS RESIDUOS GENERADOS POR LA SOCIEDAD	40
2.2. PRODUCCIÓN OLEÍCOLA	42
2.3. OBTENCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA	42
2.4. RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL OLIVAR	49
2.4.1. Residuos y/o subproductos líquidos	49
2.4.2. Residuos y/o subproductos sólidos	50
2.5. CARACTERÍSTICAS, PROBLEMÁTICA Y POSIBLES USOS DEL ALPERUJO	52
2.6. COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE	54
2.6.1. Compostaje	56
2.6.2. Vermicompostaje	56
2.6.3. Beneficios y efectos adversos del empleo de compost y vermicompost	57
2.6.4. Madurez del compost y vermicompost	60

CAPÍTULO II: HERBICIDAS Y SUSTRATOS

1. INTRODUCCIÓN	65
2. MATERIAL Y MÉTODOS	66
2.1. HERBICIDAS	66
2.1.1. Características principales de los herbicidas	66
2.1.1.a. Triazinas	66
2.1.1.b. Sulfonilureas	69
2.1.2. Métodos cromatográficos	72
2.1.2.a. Condiciones cromatográficas para triazinas	72
2.1.2.b. Condiciones cromatográficas para sulfonilureas	72
2.1.3. Preparación de soluciones patrón	73
2.1.3.a. Soluciones patrón de triazinas	73
2.1.3.b. Soluciones patrón de sulfonilureas	74
2.1.4. Curvas de calibrado	74
2.1.4.a. Curvas de calibrado para triazinas	74
2.1.4.b. Curvas de calibrado para sulfonilureas	74
2.1.4.c. Parámetros estadísticos de las curvas empleadas	75
2.2. SUELO Y ENMIENDAS	77
2.2.1. Descripción del suelo utilizado	77
2.2.1.a. Características del suelo de olivar	77
2.2.1.b. Características del suelo de la vega	78
2.2.2. Descripción de las enmiendas utilizadas	79
2.2.2.a. Alperujo	79
2.2.2.b. Compost de alperujo	79

2.2.2.c. Vermicompost de alperujo	79
2.2.3. Métodos analíticos de caracterización de suelo y enmiendas	79
2.2.3.a. Toma de muestras	79
2.2.3.b. Granulometría del suelo	79
2.2.3.c. Contenido de agua del suelo	80
2.2.3.d. Capacidad de campo del suelo	80
2.2.3.e. Carbonatos del suelo	80
2.2.3.f. Capacidad de intercambio catiónico del suelo	81
2.2.3.g. pH del suelo y enmiendas	81
2.2.3.h. Carbono orgánico	81
2.2.3.i. Contenido en nitrógeno de suelo y enmiendas	82
2.2.3.j. Fraccionamiento de la m.o. del suelo y enmiendas	82
2.2.3.k. Contenido en cenizas de los ácidos húmicos	84
2.2.3.l. Análisis elemental de los AH	85
2.2.3.m. Espectroscopia infrarroja	85
2.2.4. Preparación de suelos enmendados	86
2.2.5. Incubación de suelos	86
2.2.6. Esterilización de suelos y enmiendas	87
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
3.1. INFLUENCIA DEL pH DE LA FASE MÓVIL EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN DE BENSULFURÓN METILO	88
3.2. INFLUENCIA DEL pH DE LAS MUESTRAS EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN DE LOS HERBICIDAS SULFONILUREICOS	89
3.3. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE SUELOS Y ENMIENDAS	92
3.3.1. Suelos	92
3.3.2. Enmiendas	93
3.4. FRACCIONAMIENTO DE LA M.O. DEL SUELO Y ENMIENDAS	95
3.5. ANÁLISIS ELEMENTAL DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS	98
3.6. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA	100
3.6.1. Interpretación de los espectros de infrarrojo de los suelos	100
3.6.2. Interpretación de los espectros de infrarrojo de las enmiendas	103
3.7. SUELOS ENMENDADOS	107
3.8. ESTERILIZACIÓN DE SUELOS Y ENMIENDAS	108
 CAPÍTULO III: ADSORCIÓN	
1. INTRODUCCIÓN	115
1.1. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN. GENERALIDADES	116
1.2. ISOTERMAS DE ADSORCIÓN. GENERALIDADES	118

2. TRIAZINAS

2.1. MATERIAL Y MÉTODOS	127
2.1.1. Extracción líquido-líquido	127
2.1.2. Cinética de adsorción	127
2.1.3. Isotermas de adsorción/desorción	128
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	129
2.2.1. Extracción líquido-líquido de herbicidas triazínicos	129
2.2.2. Cinéticas de adsorción de triazinas	130
2.2.3. Adsorción de triazinas	133
2.2.3.a. Adsorción de triazinas en suelo de olivar sin enmendar	135
2.2.3.b. Adsorción de triazinas en suelo de olivar enmendado a distintas dosis ..	136
2.2.4. Adsorción en suelos y enmiendas incubados a distintos tiempos	141
2.2.5. Desorción de triazinas. Efecto del tiempo de incubación	147
2.2.6. Adsorción de triazinas en suelo al que se extraen distintas fracciones orgánicas	150
2.2.6.a. Suelo sin enmendar	150
2.2.6.b. Suelos enmendados	154

3. SULFONILUREAS

3.1. MATERIAL Y MÉTODOS	161
3.1.1. Cinéticas de adsorción	161
3.1.2. Isotermas de adsorción/desorción	163
3.1.3. Efecto de la fuerza iónica y del pH del suelo en la adsorción de sulfonilureas	164
3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	165
3.2.1. Cinéticas de adsorción de sulfonilureas	165
3.2.2. Adsorción de sulfonilureas en solución acuosa	168
3.2.3. Influencia del pH en la adsorción de sulfonilureas	170
3.2.4. Influencia de la fuerza iónica en la adsorción de herbicidas sulfonilureicos ..	173
3.2.5. Desorción de bensulfurón	175
3.2.6. Isotermas de adsorción/desorción en suelos incubados 3 meses	177

CAPÍTULO IV: DEGRADACIÓN

1. INTRODUCCIÓN	181
1.1. MODELOS DE DEGRADACIÓN	182
2. TRIAZINAS	
2.1. MATERIAL Y MÉTODOS	187
2.1.1. Extracción de triazinas en suelo	187
2.1.1.a. Diseño de experimentos	187

2.1.2.	Preincubación de suelo	189
2.1.3.	Incubación del suelo	190
2.1.4.	Actividad deshidrogenasa	191
2.1.5.	Análisis estadístico	191
2.2.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	192
2.2.1.	Extracción de triazinas en suelo	192
2.2.2.	Actividad deshidrogenasa	196
2.2.3.	Degradación de triazinas en suelo	198
2.2.3.a.	Degradación de triazinas en suelo de olivar sin enmendar	198
2.2.3.b.	Efecto de las enmiendas. Suelos no estériles	202
2.2.3.c.	Efecto de la adición de enmiendas. Suelos estériles	205
2.2.3.d.	Posibles mecanismos de degradación	208
2.2.3.e.	Ajuste de los datos a otros modelos matemáticos	215
3.	SULFONILUREAS	
3.1.	MATERIAL Y MÉTODOS	221
3.1.1.	Hidrólisis de sulfonilureas	221
3.1.1.a.	Efecto del pH en la hidrólisis de sulfonilureas	221
3.1.1.b.	Efecto de la temperatura en la hidrólisis de sulfonilureas a pH ácido	221
3.1.2.	Extracción de sulfonilureas en suelo	222
3.1.2.a.	Pérdidas al concentrar en rotavapor	222
3.1.2.b.	Recuperaciones del proceso de extracción	223
3.1.3.	Preincubación de suelo	223
3.1.4.	Incubación de suelo	223
3.1.5.	Actividad deshidrogenasa	223
3.1.6.	Análisis estadístico	223
3.2.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	224
3.2.1.	Hidrólisis de sulfonilureas	224
3.2.2.	Extracción de triazinas en suelo	228
3.2.3.	Actividad deshidrogenasa	232
3.2.4.	Degradación de sulfonilureas	233
3.2.4.a.	Degradación de sulfonilureas en suelo de vega sin enmendar	233
3.2.4.b.	Efecto de las enmiendas en suelos no estériles	236
3.2.4.c.	Efecto de la adición de enmiendas en suelos estériles	238
3.2.4.d.	Degradación de clorsulfurón	240
3.2.4.e.	Discusión	242
3.2.4.f.	Ajuste a otros modelos matemáticos	245

CONCLUSIONES	249
BIBLIOGRAFÍA	253
ANEXO I	i
ANEXO II	v



OBJETIVOS



Como consecuencia del elevado consumo de plaguicidas, de su amplio espectro de aplicación, y de sus propiedades físico-químicas, en la actualidad, existen numerosos suelos y aguas contaminados por plaguicidas. Estos hallazgos ponen de manifiesto que la capacidad depuradora del suelo es finita. Además el problema se agrava en áreas de la región mediterránea, puesto que como consecuencia de la sequía actual se hace cada vez más necesario el uso de aguas subterráneas para consumo. Por todo ello, la búsqueda de técnicas destinadas a prevenir o corregir la contaminación por plaguicidas ha tomado en los últimos tiempos especial relevancia. Una de estas técnicas consiste en la aplicación a los suelos agrícolas de enmiendas orgánicas.

La adición de enmiendas orgánicas para mejorar el rendimiento de los cultivos es una práctica usada desde tiempos ancestrales. El aporte de materia orgánica produce importantes beneficios en los suelos agrícolas: mejora la estructura del suelo, aumenta la velocidad de infiltración, mejora la conductividad hidráulica, reduce la escorrentía y disminuye la erosión. Pero además, la materia orgánica es uno de los factores principales que afectan al comportamiento de plaguicidas en suelos puesto que influye directamente en los fenómenos de adsorción y degradación de los mismos.

En este trabajo se usan como enmiendas orgánicas alperujo, residuo obtenido de la producción del aceite de oliva, y sus productos biotransformados, compost y vermicompost de alperujo.

El olivo es un cultivo característico del área mediterránea y supone el 11% de la superficie agrícola española. Su principal producción es el aceite de oliva que representa el 34% de la producción mundial. La elaboración del aceite de oliva genera conlleva la generación de diferentes residuos y/o subproductos sólidos y líquidos. Por cada 1000 kg de aceite de oliva se producen sobre 1560 kg de residuos orgánicos, entre ellos alperujo.

La valorización del alperujo como enmienda en suelos agrícolas supone un beneficio más para el medio ambiente y constituye una solución a uno de los problemas más importantes de la sociedad actual, la acumulación de una enorme cantidad de residuos.

Para el presente estudio se han usado dos familias de herbicidas, triazínicos y sulfoniluréticos. Ambos grupos de herbicidas son ampliamente usados en las zonas agrícolas en general y más particularmente en la Vega de Granada, zona de inminente uso agrícola en la que se encuentra uno de los acuíferos más importantes de Andalucía.

En el marco expuesto se desarrolla este trabajo de tesis doctoral que tiene como objetivo principal establecer el efecto de la aplicación de alperujo, compost y vermicompost de alperujo en el comportamiento de herbicidas triazínicos y sulfoniluréticos en dos suelos de la provincia de Granada. Este objetivo principal se concreta en una serie de objetivos específicos:

1. Poner a punto la metodología necesaria para la determinación en suelo de los herbicidas en estudio.
2. Estudiar la adsorción/desorción de los herbicidas en dos suelos de la provincia de Granada así como las modificaciones que en dicho proceso puede inducir la adición de alperujo, compost y vermicompost de alperujo.
3. Establecer la importancia de las distintas fracciones orgánicas en la adsorción de plaguicidas en los suelos estudiados, sin enmendar y enmendados con alperujo, compost y vermicompost de alperujo.
4. Estudiar el efecto sobre la adsorción/desorción de los herbicidas estudiados de suelos incubados durante distintos tiempos con alperujo, compost y vermicompost de alperujo.
5. Analizar las distintas formas de degradación de los herbicidas (microbiológica, química y fotoquímica) en los suelos anteriormente citados, como tal y enmendados con alperujo, compost y vermicompost de alperujo.
6. Simular mediante el empleo de modelos matemáticos el comportamiento de los herbicidas triazínicos y sulfoniluréticos en los dos suelos de la provincia de Granada, sin enmendar y enmendados con alperujo, compost y vermicompost de alperujo.
7. Verificar, mediante un ensayo de campo, los resultados obtenidos con el modelo de simulación para el herbicida sulfonilurético bensulfurón metilo en uno de los suelos estudiados.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN



1. PLAGUICIDAS

1.1. SITUACIÓN ACTUAL

Es un hecho ampliamente conocido que la producción agrícola sufre continuamente enormes pérdidas a escala mundial, debido a la actuación de un gran número de plagas que atacan plantas y animales, y causan enfermedades diversas.

A mediados de los años sesenta se admitía que un 30-35% de la cosecha potencial en todo el mundo se perdía anualmente por las plagas del campo: insectos, ácaros, hongos, bacterias, nematodos, etc, incluyendo también las malas hierbas, debido al efecto competitivo que ejercen sobre los nutrientes presentes o aportados al suelo. Se pensaba entonces que si éstas pudieran evitarse, sería muy posible que sólo por esta vía se asegurara el alimento de la población mundial hasta el año 2000.

En la actualidad la población mundial supera los 6 billones de habitantes. Las previsiones más optimistas indican un crecimiento de la población moderado, en el que el número de habitantes para el año 2050 se estima en 9 billones.

Aunque algunos autores (Pinstrup-Andersen y Pandya-Lorch, 1996) consideran que las técnicas actuales de producción no serán suficientes para abastecer a la población mundial en el futuro, el uso de los plaguicidas contribuiría a paliar en parte el problema, con la eliminación de diversas plagas en los cultivos.

La utilización de los plaguicidas agrícolas, entendidos como agentes químicos para proteger cultivos, es, en el momento actual, importante y necesaria. Sin esta defensa es indudable que se produciría un colapso en los rendimientos; muchos productos se convertirían en artículos de lujo, y los primeros afectados serían precisamente los sectores más pobres de la población.

Entre 1965 y 1981 se pasó de una producción de plaguicidas de las 800 – 900.000 t a más de 2 millones. La amplitud de esta utilización, bajo un punto de vista económico, queda también reflejada con las ventas mundiales de estos productos, las cuales han ido creciendo con un valor medio del 10% anual en términos reales. De acuerdo con Pimentel y Greiner (1997) en el mundo se aplicaban en 1990 2,5 t de plaguicidas al año y, sólo en EEUU, se usaban anualmente 500.000 t de 600 materias activas de distinto tipo (Pimentel et al., 1991) con un coste de 6,5 billones de dólares, incluyendo costes de aplicación.

Se calcula que actualmente se usan más de 3500 plaguicidas orgánicos, aunque el número de nuevos productos que salen al mercado se está reduciendo progresivamente puesto que los requisitos que deben reunir los compuestos antes de su comercialización son cada vez más exigentes. Los nuevos plaguicidas se han ido haciendo más potentes, más selectivos y más respetuosos con el medio, lo que hace que las dosis empleadas sean cada vez más bajas. En las

nuevas formulaciones se mejoran aspectos tales como biodisponibilidad y reducción del riesgo del manipulador.

Sin embargo, los residuos de estos compuestos pueden constituir, en algunos casos, una fuente importante de contaminación del aire, del agua, del suelo y de los alimentos. Las ideas predominantes que hasta la década de los sesenta se mantenían sobre la capacidad de autodepuración de la Tierra mediante la dilución de sus residuos en el suelo, aire y agua, no pueden aceptarse en el momento actual. Hoy se sabe que la naturaleza dispone de diversos mecanismos para concentrar estos contaminantes, que en determinados casos pueden provocar no sólo serias alteraciones en el equilibrio biológico, sino también efectos tóxicos en las diversas formas de vida sobre las que incide. Su movilidad a través del aire o del agua, su acumulación por repetidos tratamientos en los órganos y tejidos de los organismos expuestos a ellos, su posible acumulación en el medio donde se aplican, y finalmente su biomagnificación, constituyen sus características principales en cuanto a su posible toxicidad (Spacie y Hamelink, 1985; Navarro et al., 2000)

El impacto ambiental de muchos plaguicidas ha sido considerable. Existen numerosos estudios que evidencian contaminación de aguas superficiales y subterráneas ocasionada por plaguicidas (Frank y Logan, 1988; Leistra y Boesten, 1989; Frank et al., 1990; SKark y Zulleiseibert, 1995; Zhang et al., 2002; Gerecke et al., 2002; Cerejeira et al., 2003)

La contaminación del agua por plaguicidas viene afectando desde hace tres años y de modo periódico a diversas poblaciones andaluzas que han sufrido cortes en el suministro de agua debido a la contaminación de los pantanos de los que se abastecen, entre ellos, Zocueca, Dañador, Iznájar y Gualamena en los que han aparecido las materias activas simazina, terbutilazina y diurón, herbicidas usados en el cultivo del olivo (El País, 2004, Ideal, 2005, 2006).

El gran uso de plaguicidas así como los problemas ambientales y sus posibles incidencias en la salud humana han hecho necesaria la creación de leyes para su fabricación, comercialización y utilización (Real Decreto 3349/83 de 30 de noviembre) así como la fijación de contenidos máximos para los residuos de plaguicidas sobre y en los productos alimenticios de origen animal (Real Decreto 569/1990, de 27 de abril). La reciente aparición del Reglamento Comunitario 396/2005 permitirá la armonización total de la legislación sobre residuos de plaguicidas en los 25 países miembros de la Unión Europea.

1.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES

Con el término *plaguicida* se hace referencia a aquellos productos o compuestos químicos, y/o orgánicos, utilizados en las zonas agrícolas o en medios urbanos para combatir o aniquilar las plagas tales como insectos, hongos, bacterias, ácaros, moluscos, nemátodos, roedores y malezas.

Por *residuo de plaguicidas* entendemos cualquier sustancia específica, tóxica o contaminante, presente en suelo, agua, alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, como consecuencia del uso de plaguicidas. Dentro de esta definición se incluye cualquier derivado de un plaguicida, como productos de transformación o metabolitos e impurezas de importancia toxicológica.

Desde el punto de vista de su aplicación, los plaguicidas se pueden clasificar como: insecticidas (tóxicos para insectos); acaricidas (tóxicos para ácaros); nematocidas (tóxicos para nemátodos); fungicidas (tóxicos para hongos); antibióticos (inhiben crecimiento de microorganismos); herbicidas (atacan a las malas hierbas); molusquicidas (eliminan los moluscos); rodenticidas (causan la muerte a ratones y otros roedores); avicidas (causan la muerte a aves); atrayentes y repelentes de insectos.

Según su naturaleza química, en principio, pueden clasificarse en inorgánicos y orgánicos. Los primeros no plantean, en general, una problemática importante desde el punto de vista de su toxicidad y evolución en el suelo. Por el contrario, en lo referente a los orgánicos, a lo largo del tiempo se ha desarrollado una amplia gama de productos que ocasionan problemas de evolución en el complejo sistema del suelo.

Los plaguicidas orgánicos más importantes son (Barberá, 1976):

- **Derivados halogenados.** Compuestos orgánicos que contienen generalmente átomos de cloro en su molécula, y que poseen una alta toxicidad para los insectos.
- **Compuestos organofosforados.** Estos compuestos son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico y fosfínico. La mayor actividad de estos compuestos es insecticida, aunque algunos de ellos presentan actividad nematocida, fungicida y herbicida.
- **Derivados del ácido carbámico, tiocarbámico y ditiocarbámico.** Estos compuestos se usan como herbicidas (bajo la forma de carbamato o tiolcarbamato), como fungicidas (especialmente ditiocarbamatos) y como insecticidas.
- **Derivados de la urea.** Estos compuestos presentan principalmente propiedades herbicidas que aumentan notablemente con la presencia de átomos de halógeno en la molécula. Pertenecientes a este grupo son los herbicidas sulfonilureicos, *bensulfurón metilo*, *clorsulfurón* y *prosulfurón*, objeto de estudio del presente trabajo.
- **Compuestos heterocíclicos.** Constituyen un grupo de compuestos con gran actividad sobre todo herbicida. Pueden ser heterocíclicos de cinco o seis átomos y con uno, dos o tres heteroátomos en el anillo siendo los más importantes las triazinas sustituidas como la *simazina*, *terbutilazina*, *prometrina* y *cianazina*, estudiadas en este trabajo.

Otra última clasificación sería la que divide a los plaguicidas en químicos y biológicos o *bioplaguicidas*. En los últimos años se han lanzado al mercado productos que actúan como

plaguicidas aún cuando su naturaleza es esencialmente biológica, es decir, son compuestos obtenidos de animales, plantas y bacterias y se utilizan para el control de las plagas que afectan a los cultivos (Hall y Menn, 1999) .

Para que un plaguicida alcance un amplio uso en la práctica agrícola, debe reunir determinadas condiciones básicas como:

- ↗ **Efectividad**, debe ser efectivo en la destrucción de la plaga contra la que actúa.
- ↗ **Selectividad**, debe combatir únicamente los organismos dañinos sin perjudicar a la flora o a la fauna beneficiosas.
- ↗ **Economía**, la utilización de un plaguicida debe producir unos beneficios que superen el gasto que supone su utilización.
- ↗ **Seguridad**, no debe ser tóxico para las plantas útiles al hombre ni constituirse en un peligro para la salud del hombre ni de los animales domésticos.
- ↗ **Estabilidad**, debe conservar su capacidad de acción durante un tiempo suficiente.
- ↗ **Posibilidades de formulación**, debe ser compatible con algunos de los posibles soportes y diluyentes, dando lugar a formulaciones estables y efectivas.

1.3. HERBICIDAS

Los herbicidas se encuentran incluidos en la clasificación general de los plaguicidas. Son aquellas sustancias químicas capaces de controlar a las plantas (malas hierbas) que compiten en el desarrollo de los cultivos de importancia comercial.

Los herbicidas utilizados actualmente deben su aceptación a su selectividad, que les permite destruir malas hierbas sin afectar a los cultivos, y a su gran eficacia, que permite utilizar dosis muy pequeñas, con las cuales la aplicación resulta más económica.

La selectividad es una propiedad esencial de aquellos herbicidas que, por su empleo en los cultivos, deben destruir las malas hierbas sin afectar a las plantas cultivadas. Apoyándonos en esto, se puede hacer una primera clasificación de los herbicidas en "selectivos" y "no selectivos" o "totales", según presenten o no esta propiedad.

Aunque la naturaleza química del herbicida es el factor primordial, las causas de la selectividad en la acción herbicida son muy diversas y no siempre dependientes del producto mismo, sino que, en muchos casos, están ligadas a circunstancias que, en combinación con características peculiares de las distintas especies de plantas, proporcionan la selectividad al tratamiento. Esta puede depender:

- a) De las formas de aplicación:
 - herbicidas aplicados por vía foliar;
 - herbicidas aplicados al suelo.
- b) Del modo de acción:
 - por contacto.

- por traslocación y acción bioquímica.

También pueden clasificarse los herbicidas atendiendo a diferentes conceptos tales como el modo de acción y el sitio de acción.

El modo de acción de un herbicida se refiere a la razón biológica por la cual ocurre la muerte de la planta. En general, el modo de acción comprende todos los eventos que implican la absorción, el transporte y la acción tóxica del mismo.

El sitio de acción se restringe exclusivamente al nivel o ruta metabólica específica afectada por el herbicida.

Desde el punto de vista de su transporte, conviene recordar que los herbicidas se clasifican en sistémicos y de contacto.

Se habla de herbicidas sistémicos cuando, absorbidos por el tejido foliar o radical y transportados vía floema, xilema o ambos, alcanzan el sitio específico en donde ejercen su acción tóxica (generalmente los centros de crecimiento y elevada actividad metabólica). Los herbicidas sistémicos pueden ejercer su efecto por aplicación al suelo (y en ese caso se transportan vía xilema hacia las hojas) o aplicación foliar (y en ese caso se transportan vía floema hacia el resto de los tejidos aéreos y subterráneos).

Por el contrario, los herbicidas de contacto, una vez que atraviesan la cutícula se transportan muy limitadamente, ejerciendo su acción de forma muy rápida. La mayoría de los herbicidas de contacto actúan por vía foliar, aunque existen herbicidas de suelo que afectan tejidos radicales.

De acuerdo con su estructura química los herbicidas pueden clasificarse en los tipos enumerados a continuación:

- Fenoxiácidos y derivados
- Carbamatos
- Ácidos alifáticos clorados (o sus sales)
- Ácidos aromáticos halogenados.
- Ureas sustituidas.
- Cloroacetamidas sustituidas
- Anilidas sustituidas
- Triazinas
- Diazinas

1.3.1. HERBICIDAS TRIAZÍNICOS

Los herbicidas triazínicos constituyen un amplio grupo de sustancias que se encuentran entre los agroquímicos más utilizados en el control de malas hierbas. La historia de su uso se remonta a principios de 1952 cuando J.R. Geigy S. A sintetizó los primeros compuestos pertenecientes a este grupo. Desde ese momento, la gama de triazinas comercialmente

disponibles se ha ampliado enormemente, constituyéndose como los herbicidas selectivos más importantes. Sin embargo, se trata de compuestos persistentes en suelo, agua, plantas y animales, fácilmente lixiviables y por tanto perjudiciales para la ecología y salud humana, por lo que su uso ha sido prohibido en algunos países. En España la simazina lleva prohibida desde hace 4 años y, junto con la terbutilazina, ha sido detectada en embalses en repetidas ocasiones. Numerosos estudios manifiestan la presencia de estas y de otras triazinas en aguas subterráneas (Kolpin et al., 2002; Barbash et al., 2001; Vela et al., 2004). En Europa, dentro de la Directiva 98/83/CE (que revisa la Directiva 80/778/CE sobre Aguas de Consumo Humano) se ha elaborado una lista prioritaria de plaguicidas potencialmente contaminantes de aguas entre los que se encuentran los herbicidas triazínicos, atrazina, simazina, terbutilazina, prometrina, cianazina y terbutrina. Esta Directiva comunitaria sobre Calidad de Aguas Destinadas a Consumo Humano establece concentraciones máximas admisibles de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para un plaguicida y $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para la suma de todos los plaguicidas en agua. La Directiva comunitaria 76/464/CEE obliga a los estados miembros a adoptar las medidas necesarias para reducir la contaminación causada por ciertas sustancias contaminantes a los sistemas acuáticos. Por ejemplo, en España la legislación establece una concentración máxima en aguas residuales de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ para atrazina, simazina y terbutilazina individualmente (Boletín Oficial del Estado Español (BOE), 2000). En Estados Unidos, la Agencia de Protección Medioambiental (EPA) ha establecido niveles máximos de contaminación para unos 100 compuestos químicos dentro de los que se encuentran la atrazina y simazina (niveles máximos de contaminación permitidos para estos dos compuestos 3 y $4 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente).

A la vista de estos resultados resulta imprescindible la búsqueda de soluciones que eviten la entrada de estos contaminantes en aguas subterráneas y superficiales.

1.3.1.a) Estructura química de las triazinas

La estructura general de las triazinas se representa en la Figura I.1, y consiste en un anillo heterocíclico con átomos de N simétricamente colocados y con sustituyentes en las posiciones 2, 4 y 6.

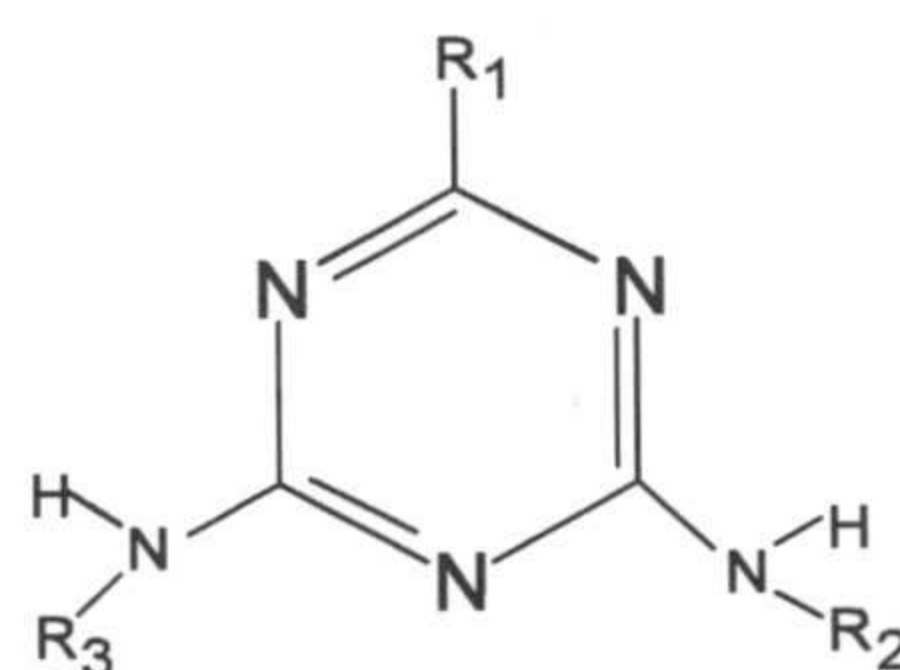


Figura I.1. Estructura química de los herbicidas triazínicos.

Las propiedades físico- químicas de las triazinas están principalmente determinadas por los sustituyentes en la posición 2 (R₁). Los más frecuentes son -Cl, "clorotirazinas" (simazina,

terbutilazina, cianazina, entre otras), $-SCH_3$, "tiometiltriasinas" (prometrina, entre otras) y $-OCH_3$, "metoxitriasinas" (prometrina, entre otras). Las propiedades de las clorotriasinas difieren considerablemente de las otras dos que presentan un comportamiento similar.

La posición 4 y 6 está normalmente ocupada por grupos aminos sustituidos y apenas tiene efectos en las propiedades de cada compuesto.

1.3.1.b) Propiedades físico-químicas

Los herbicidas triazínicos son poco solubles en agua. Las más solubles son las metoxitriasinas y las menos las clorotriasinas. Entre los derivados de las clorotriasinas aquéllos cuyos sustituyentes 4 y 6 sean simétricos presentan solubilidad menor que los compuestos con sustituyentes asimétricos (es el caso de la simazina, terbutilazina y cianazina, Tabla II.1). La polaridad de estos compuestos también es baja. A temperatura ambiente son sólidos cristalinos de color blanco, y su punto de fusión oscila entre los 28 °C y los 225°C (Primo Yúfera y Carrasco Dorrién, 1977).

En condiciones de almacenamiento son estables pero, por lo general se hidrolizan en medio alcalino o ácido, especialmente cuando se eleva la temperatura. La desalquilación también es importante en la degradación de estos herbicidas.

Son bases débiles, aumentando su basicidad en el sentido, clorotriasinas < tiometiltriasinas < metoxitriasinas. Los sustituyentes 4 y 6 afectan a la basicidad en un menor grado, sin embargo puede decirse que ésta aumenta al incrementarse el número de átomos de hidrógeno en los sustituyentes de los grupos amino y con el incremento en la longitud y las ramificaciones de la cadena alquílica (Pacáková, 1996).

Como se ha dicho anteriormente, las triazinas son compuestos muy estables permaneciendo en suelo, agua, animales y plantas meses e incluso, sus productos de degradación, pueden persistir durante años.

1.3.1.c) Modo de acción y aplicaciones

Estos compuestos se absorben a través de las raíces y circulan por el xilema hacia la parte superior de la planta, acumulándose en los bordes de las hojas. También pueden ejercer su acción por contacto, absorbiéndose a través de la cutícula de las hojas (Barberá, 1976).

Actúan por inhibición de la reacción de Hill, bloqueando la fotosíntesis. Sus efectos se traducen en clorosis, desecación de puntas, decaimiento y muerte de la planta. La germinación no se evita, y el efecto es lento, por continuar el crecimiento normal después de su aplicación, aunque la toxicidad es advertida al cabo de pocos días.

Dada la poca solubilidad en agua de las triazinas y su estabilidad química, los residuos de estos herbicidas son muy persistentes, por lo que se utilizan en campos donde se quiere realizar un control selectivo y prolongado de malas hierbas, empleándose, generalmente, en tratamientos de preemergencia (después de sembrar la cosecha y antes de la germinación de

las semillas) y, en algunos casos, de postemergencia (después de la germinación de las semillas). Se usan en cultivos frutales, de olivo, viñedos, avellano, etc. También en cultivos de maíz, algodón, espárragos, judías, guisantes, tomates, patatas, tabaco, fresas, zanahorias, entre otros (Tomlin, 2003).

1.3.2. HERBICIDAS DERIVADOS DE LA UREA: SULFONILUREAS

Las propiedades herbicidas de las sulfonilureas fueron descritas por primera vez en 1966. Se trataba de compuestos derivados de los herbicidas triazínicos que presentaban niveles de actividad herbicida similares a los de los compuestos de partida. A mediados de 1970, George Levitt sustituye la anilina de las primeras sulfonilureas por una aminopirimidina constituyéndose así los herbicidas sulfonilureicos tal y como los conocemos en la actualidad (Levitt, 1983) (Figura I.2). Estos compuestos supusieron un gran avance en la química agrícola moderna debido a que se pueden emplear para combatir un amplio espectro de malas hierbas a dosis bajas de producto (entre 2 y 100 g ha⁻¹), reduciéndose la cantidad de compuesto químico aplicada al campo entre 100 y 1000 veces respecto a un herbicida convencional. Otra ventaja es que su actividad herbicida es altamente específica de plantas, es decir, presentan baja toxicidad a especies animales y humanos y no son bioacumulables en tejidos orgánicos. Además, estos compuestos son degradados en suelo tanto por procesos químicos como biológicos y no son ambientalmente persistentes (Walker et al., 1989; Rouchaud et al. 1997; Menniti et al., 2003). Sin embargo, a pesar de que las detecciones de estos herbicidas en agua son escasas y a concentraciones del orden de nanogramos por litro (Bergstrom, 1990; Michael y Neary, 1993; Okamoto et al., 1998), existen estudios que indican que alguno de estos compuestos puede superar la zona radicular del suelo y entrar en las aguas subterráneas o en superficiales (Anderson y Humburg, 1987; Flury et al., 1995; Battaglin, 2000). Un estudio realizado por Afyuni et al. (1997) indica que entre el 1,1 y el 2,3% de las sulfonilureas, clorimuron etil y nicosulfurón, aplicadas al suelo se perdieron por escorrentía durante un evento de 24 h de lluvia simulada. Según lo anterior, el estudio de estos compuestos y de su comportamiento en el suelo es fundamental para evitar fenómenos de contaminación.

1.3.2.a) Estructura química de las sulfonilureas

Las sulfonilureas están compuestas por tres partes distintas: un grupo arilo, el puente de las sulfonilureas y un anillo heterocíclico que contiene átomos de Nitrógeno (Figura I.2).

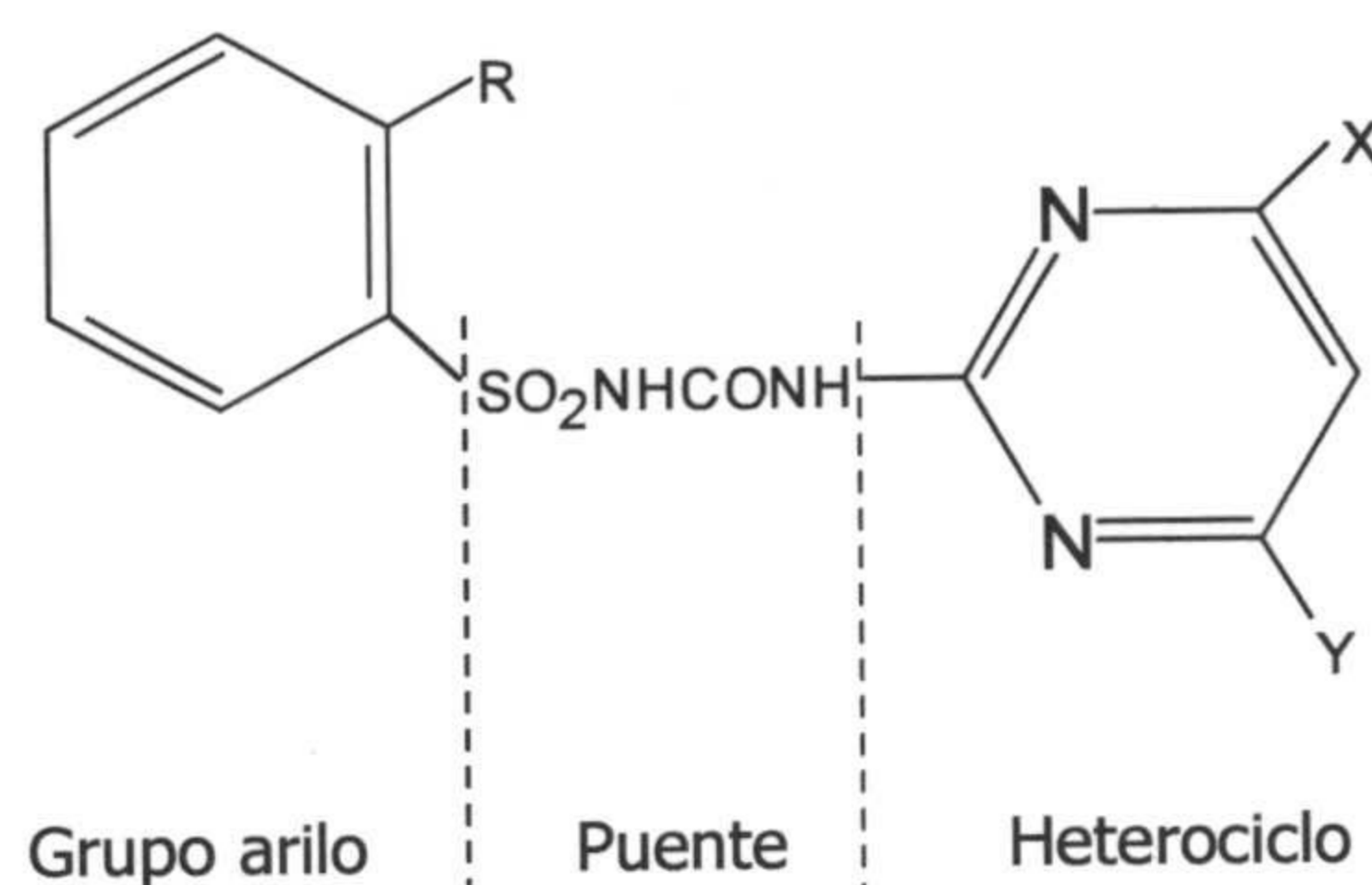


Figura I.2. Estructura química de los herbicidas sulfonilureicos. R puede ser un grupo activo (CO_2CH_3 , NO_2 , F, Cl, Br, SO_2CH_3 , $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, CF_3 , CH_2OCH_3 , OCF_3) o un grupo inactivo (COOH , OH); X= CH_3 ; Y= OCH_3 .

La actividad herbicida de las sulfonilureas vendrá determinada por los sustituyentes de las distintas porciones de su estructura. Así cuando la porción arílica es un grupo fenilo, la mayor actividad herbicida la poseen aquellas moléculas que tienen un sustituyente en posición orto respecto del puente. Dentro de estos sustituyentes orto, son más activos, en general, los grupos donadores y aceptores de electrones que potencian la actividad herbicida, con la excepción de los carboxilos y los hidroxilos. También las sulfonilureas con grupos arilos distintos de los fenilos presentan alta capacidad herbicida.

Si la porción heterocíclica de la molécula es una pirimidina o una triazina simétricas con bajo contenido en grupos alquilos, la sulfonilurea poseerá la capacidad herbicida más alta.

Las sulfonilureas con el puente inalterado son normalmente las más activas, pero compuestos con el puente modificado por grupos tales como $\text{CH}_2\text{SO}_2\text{NHCONH}$ (caso del bensulfurón metilo), $\text{OSO}_2\text{NHCONH}$ o $\text{SO}_2\text{NHCON}(\text{CH}_3)$ también resultan activas (Beyer et al., 1988).

1.3.2.b) Propiedades físicas y químicas

En general los herbicidas sulfonilureicos presentan puntos de fusión moderados, bajo coeficiente de partición octanol-agua a pH neutro, presión de vapor muy baja y de baja a moderada solubilidad en agua a pH neutro (Beyer et al., 1988).

Las sulfonilureas son ácidos débiles, generalmente con valores de pK_a comprendidos entre 3 y 5. Como todo ácido estos compuestos están sujetos a ionización (Figura I.3), pudiendo existir, en solución acuosa, la forma neutra y aniónica de la molécula. La cantidad relativa de cada forma vendrá determinada por el pK_a de la molécula y el pH del medio. Los herbicidas sulfonilureicos, en solución acuosa, se encontrarán en forma neutra cuando el valor del pH del medio esté por debajo del pK_a de la molécula, y en su forma aniónica cuando el valor de pH este por encima del pK_a . Así, en la mayoría de los suelos agrícolas, estos herbicidas se encontraran en forma aniónica, aumentando la concentración de su forma neutra a medida que disminuya el pH del medio (Sarmah y Sabadie, 2002).

La capacidad de ionización de las sulfonilureas afecta a sus propiedades físicas. Su solubilidad en agua y su coeficiente de partición octanol-agua son función del pH, si bien la relación entre la solubilidad en agua y el pH es positiva debido a que a mayor valor de pH la proporción de la forma aniónica más soluble aumenta. Del mismo modo es esperable una disminución del coeficiente de partición octanol-agua al aumentar el pH del medio.

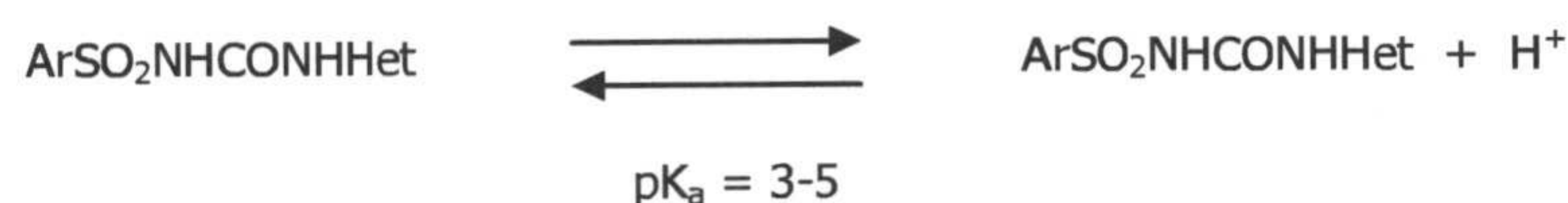


Figura I.3. Ionización de sulfonilureas.

Además de la ionización, las sulfonilureas están sujetas a dos reacciones principalmente, hidrólisis y formación de puentes salinos (Figura I.4).

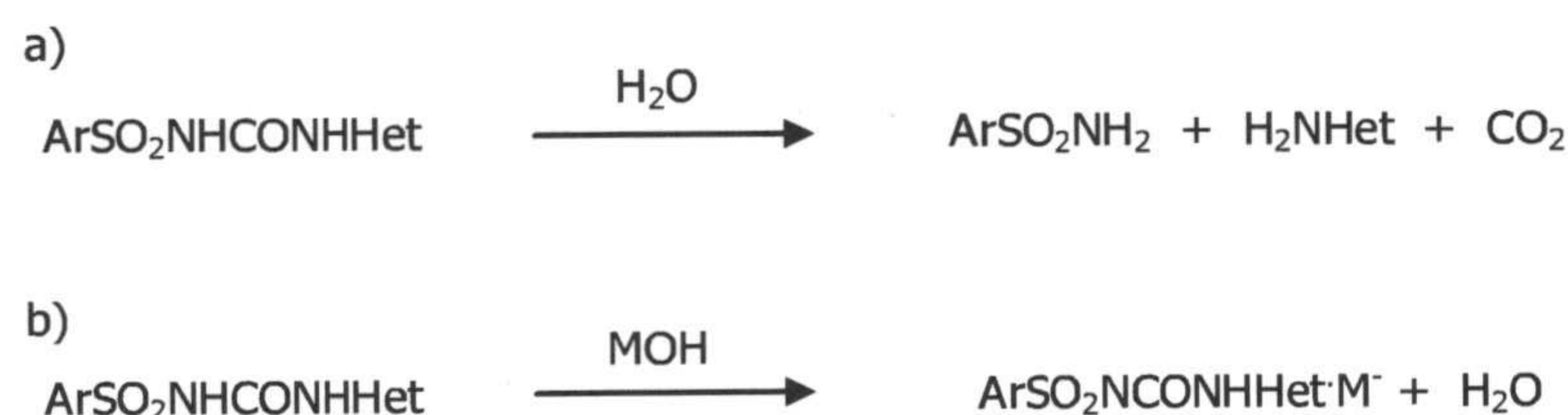


Figura I.4. Principales reacciones de las sulfonilureas. a) Hidrólisis; b) formación de sales.

En la hidrólisis de los herbicidas sulfonilureicos, tanto en agua como en suelo, el puente de la sulfonilurea se rompe dando lugar a una arilsulfonamida sin capacidad herbicida y una amina heterocíclica, susceptible de degradación química, y liberándose dióxido de carbono (Hay, 1990; Hemmamda et al., 1994; Braschi et al., 1997; Sarmah y Sabadie, 2002).

La velocidad de hidrólisis de las sulfonilureas es dependiente del pH. La forma neutra es al menos entre 250 y 1000 veces más susceptible de hidrólisis que la aniónica (Brown, 1990). En la reacción de hidrólisis de la molécula neutra el agua ataca el carbono carbonílico del puente sulfonilureico, lo que da lugar a la ruptura de la molécula. En el caso de la forma aniónica, la carga negativa está distribuida por todo el puente sulfonilureico, reduciendo la naturaleza electrofílica del carbono carbonílico. De este modo el pH controla la tasa de hidrólisis del puente sulfonilureico mediante su efecto en la ionización, siendo la hidrólisis más rápida a pH ácido. Por ejemplo, el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) por hidrólisis de clorsulfurón a pH 3 y pH 7,5 a 25 °C fue de 1 y >500 días, respectivamente (Beyer et al., 1987; Streck, 1998). Para bensulfurón metilo se encontró (Sabadie, 1996) que se hidroliza a 30°C con $t_{1/2}$ de 7 y 460 días a pH 5 y 8, respectivamente.

Sarmah y Sabadie (2002) hacen una revisión más exhaustiva sobre la hidrólisis de los herbicidas sulfonilureicos en suelos y soluciones acuosas.

En presencia de bases, hidróxidos o carbohidratos, las sulfonilureas forman sales metálicas estables. También pueden formar sales de amonio en presencia de amonio o aminas alifáticas. Tanto las sales metálicas como las sales de amonio presentan una solubilidad en agua moderada (Hay, 1990).

1.3.2.c) Modo de acción y aplicaciones

Las sulfonilureas son potentes inhibidores del crecimiento de la raíz y de los tallos de las plantas produciendo síntomas visuales como clorosis en las hojas, muerte de tallos terminales y necrosis varios días después del tratamiento. Sin embargo no tienen efecto sobre la germinación de las raíces (Beyer et al., 1988).

Estos herbicidas actúan por inhibición del ciclo de la acetolactato sintasa ALS (acetohidroxiácido sintasa AHAS) y su selectividad se basa en su rápida inactivación metabólica (Ray et al., 1982; Brown, 1990y 1991).

Se absorben fácilmente por las raíces y son transportados lentamente a las hojas, a través del xilema, acumulándose en los brotes.

La selectividad de estos herbicidas depende fundamentalmente de la tolerancia de ciertos cultivos y de la profundidad a que germinan las semillas o se desarrollan las raíces. Los cultivos cuyas semillas o raíces se desarrollan a mayor profundidad que las malas hierbas no son afectados por las aplicaciones superficiales; es en estos cultivos donde los herbicidas derivados de la urea se usan con frecuencia (arroz, cebada, trigo, centeno, avena, maíz, algodón, etc). Sin embargo, también se usan en cultivos anuales que sean tolerantes, como, por ejemplo, en los de cebollas.

Suelen aplicarse en tratamientos de preemergencia, postemergencia y, por su gran actividad y persistencia, también se utilizan como esterilizantes en suelos (Tomlin, 2003).

1.4. DINÁMICA 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 nematicidas 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 encuentran suspendidos en la atmósfera.

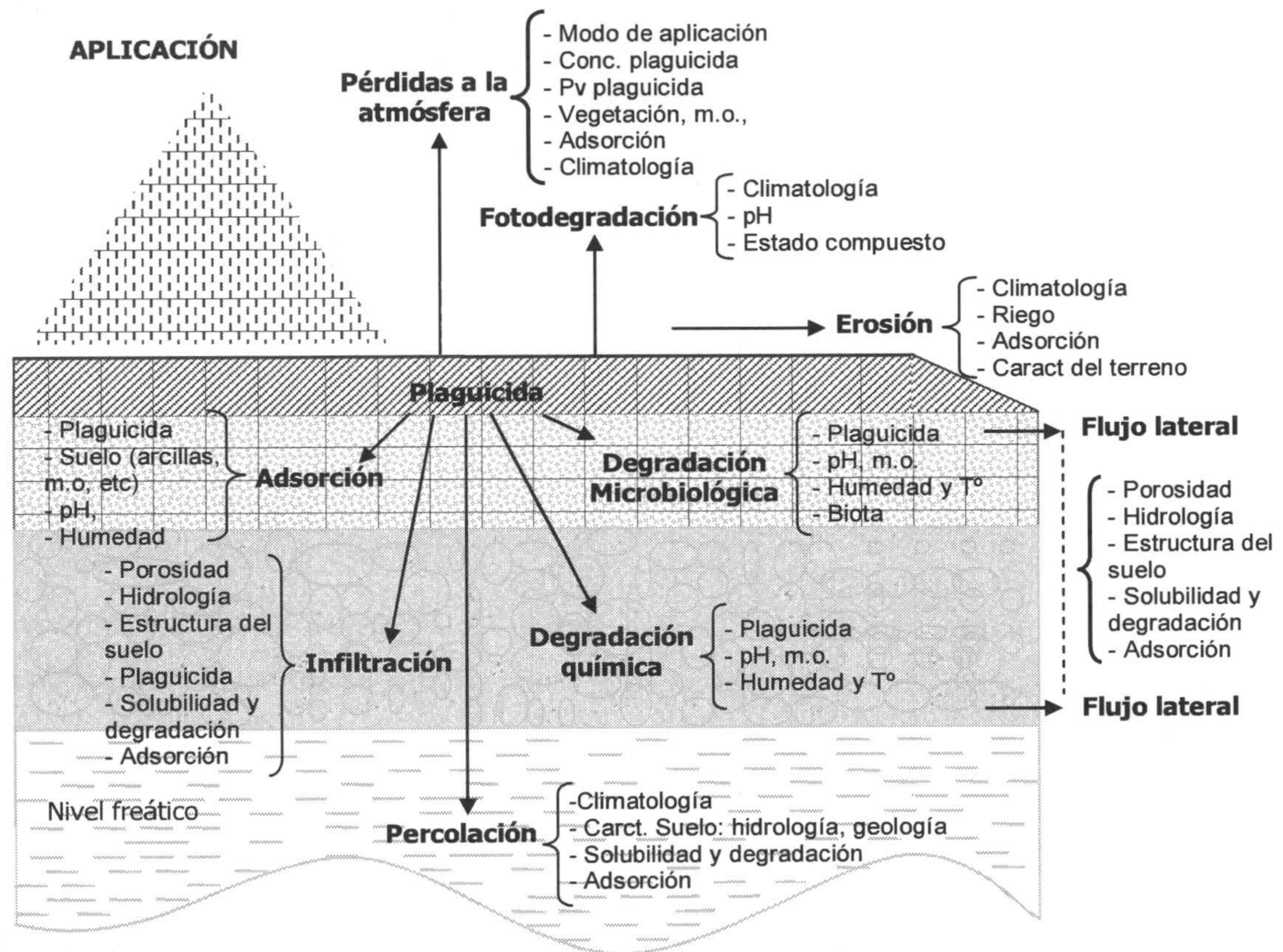


Figura 1.5. Procesos que afectan al transporte de plaguicidas en suelo (modificada de Sánchez, 2002).

Los plaguicidas son beneficiosos en el crecimiento de cultivos pero sólo durante su permanencia en la zona radicular del suelo. El abandono de este compartimento resulta en una disminución en su eficacia y en un peligro para el medio ambiente. Las principales vías por las que los plaguicidas pueden dejar la zona radicular son la volatilización a la atmósfera, la lixiviación hacia aguas subterráneas, la escorrentía hacia aguas superficiales y la absorción por las plantas (Figura I.5). Estos cuatro procesos pueden originar fenómenos indeseables ocasionados por la presencia de residuos de plaguicidas en aire, aguas potables y vegetales.

La **transferencia de plaguicidas a la atmósfera** ocurre por su dispersión durante la aplicación, por la erosión de las partículas de suelo que llevan adheridos a los plaguicidas o por evaporación del plaguicida desde la superficie del suelo a un estado gaseoso. El último proceso se denomina volatilización y, dado que depende principalmente de las propiedades físicas de cada compuesto, es el que presenta mayor interés desde el punto de vista del desarrollo de productos con actividad plaguicida más efectivos (permanecen más tiempo en la zona radicular) y menos contaminantes.

La volatilización de los plaguicidas desde el suelo es la transferencia de estos compuestos en forma gaseosa, a través de la interfase suelo-aire en condiciones ambientales. Este proceso ha sido infravalorado durante mucho tiempo ya que la mayoría de los plaguicidas

empleados presentan presiones de vapor bajas y por tanto las pérdidas por volatilización no son importantes. A modo de ejemplo, se han encontrado pérdidas por volatilización inferiores al 5% en 1 mes para atrazina y para simazina y alacloro del 1% y 26%, respectivamente, en 24 días (Taylor, 1995). Beyer et al. (1988) no encontraron evidencias de volatilización en ensayos realizados con sulfonilureas. Sin embargo, en el caso de plaguicidas persistentes con baja tasa de degradación en suelo, la volatilización es la principal vía de pérdidas de estos compuestos en el ecosistema terrestre y contribuye a la contaminación del aire y al transporte del plaguicida por este medio (Scheunert, 1992).

En general, las pérdidas por volatilización son mayores en suelos húmedos que en suelos secos, cuando las temperaturas son elevadas y cuando el plaguicida no se encuentra fuertemente adsorbido.

La **transferencia de plaguicidas a las aguas subterráneas y superficiales** ha constituido una de las causas de mayor preocupación en los últimos tiempos. Así, la predicción de velocidades de lixiviación de plaguicidas desde el suelo se ha convertido en la forma más importante de valorar la posible concentración de estos compuestos en aguas.

La movilidad de plaguicidas en el suelo y la transferencia a las aguas está relacionada con la adsorción y con los fenómenos de flujo de masas de la fracción disuelta. Los fenómenos de flujo de masas consisten en difusión, convección y dispersión y son función de la eliminación de plaguicidas de la solución del suelo por reacciones químicas y biológicas (Weber, 1972). Además estos procesos son retardados por la adsorción de los plaguicidas en el suelo.

La escorrentía, percolación y drenaje artificial son las principales formas del agua, y por tanto de los plaguicidas, para abandonar la superficie del suelo. Consecuentemente, estos procesos son contaminantes potenciales de ríos, lagos y aguas subterráneas con plaguicidas.

El fenómeno de **escorrentía** se produce cuando el agua aplicada a un suelo supera la capacidad de infiltración del mismo, de modo que el exceso de agua y los residuos de plaguicidas disueltos o unidos a finas partículas del suelo pueden moverse sobre la superficie del suelo. Las pérdidas de plaguicidas por escorrentía son normalmente del orden del 1% o 2% de la cantidad de compuesto aplicada o inferiores (Wauchope, 1978; Carter, 2000), aunque en condiciones desfavorables pueden alcanzar el 5% (Burgoa y Wauchope, 1995). Los riesgos de pérdidas de plaguicidas por escorrentía son mayores en los terrenos de pendientes más elevadas.

La **percolación** de plaguicidas a través del suelo se considera la principal causa de contaminación de aguas subterráneas por estos productos. El agua puede moverse en el suelo lateral o verticalmente a través de poros, grietas y fisuras. El tamaño y la cantidad de espacios ocupados por el agua en cada momento dependen de las características de drenaje del suelo y de la presión de agua en los poros. Se calcula que las pérdidas de plaguicidas por este proceso pueden llegar a ser del 5%, pero normalmente son inferiores al 1% (Flury, 1996). Las pérdidas mayores las encontramos en suelos con fisuras, grietas o macroporos por donde el agua circula

más rápidamente y los residuos de plaguicidas tienen menos posibilidad de disiparse (Brown et al., 1995; Carter, 1999b; Flury et al., 1994)

En general, las concentraciones de plaguicidas observadas en las aguas de escorrentía de una superficie agrícola son mayores que las encontradas en aguas subterráneas (Gaynor et al., 1992; Brown et al., 1995). Por ejemplo, en el peor de los casos, las aguas de escorrentía originadas en un evento de lluvia pueden llevar un 17% de la atrazina aplicada a un campo de cultivo (Wauchope, 1978), mientras que en el caso de la percolación esta cantidad sería considerablemente más pequeña. Así, Flury et al. (1995) muestran, que en condiciones extremas, las pérdidas de atrazina por percolación fueron del 4,4% de la cantidad de producto aplicada, alcanzando una profundidad de 0,5 m después de 90 mm de infiltración acumulada. Por su parte Hall et al. (1989) encontraron pérdidas por lixiviación de 8,4% para simazina y 9,6% para atrazina, llegando a una profundidad por debajo de los 1,22 m, después de 1000 mm de lluvia.

Para entender mejor los fenómenos de movimiento de plaguicidas desde el suelo hasta el aire o el agua es importante conocer los factores que les afectan. Entre los factores que afectan a la movilidad de plaguicidas, algunos de ellos descritos en párrafos anteriores, se encuentran:

- Las características del plaguicida.
- Las características del suelo.
- Interacciones del suelo con los plaguicidas: adsorción y degradación.
- Otros factores (vegetación, climatología, modo de aplicación, etc).

A continuación se describe con más detalle cada uno de estos factores.

1.5. FACTORES QUE AFECTAN A LA DINÁMICA DE PLAGUICIDAS EN SUELO

1.5.1. 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. En la Tabla I.1 se recogen algunas de las características de los plaguicidas más relevantes desde el punto de vista de su potencial para percolar, así como los valores críticos de estos parámetros que favorecerían este fenómeno (Cleveland, 1996).

Tabla I.1. Criterios de percolación en un plaguicida (Cleveland, 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

1.5.1.a) 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 mg L^{-1} son considerados como poco móviles. Por el contrario, valores superiores a 30 mg L^{-1} poseen un riesgo potencial de alcanzar las aguas subterráneas, a no ser que su velocidad de degradación y coeficiente de adsorción al suelo sean altos.

Según este parámetro, todas las sulfonilureas estudiadas en este trabajo (bensulfurón, clorsulfurón y prosulfurón) serían susceptibles de percolación (Tabla II.2). Por su parte entre las triazinas objeto de estudio (simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina), tan sólo la prometrina y cianazina poseen valores de solubilidad superiores a 30 mg L^{-1} y por tanto, presentarían riesgo de percolación hacia las aguas subterráneas (Tabla II.1). Sin embargo, la solubilidad de un soluto en "agua pura" puede considerarse como una constante física ambigua ya que depende de la coexistencia de otras sustancias en solución, de modo que la solubilidad aparente y el estado físico de un soluto puede ser modificado por las interacciones con otros solutos. Estas modificaciones podrían afectar el comportamiento del soluto en aguas naturales (Chiou et al., 1986) y su movilidad en el suelo, por ejemplo, la solubilidad de los compuestos orgánicos es un factor primordial en su capacidad de adsorción mediante interacciones de tipo hidrófobo.

En general en los estudios de transporte de plaguicidas en suelo, se utiliza el llamado coeficiente de partición octanol/agua, K_{ow} , para expresar la hidrofobicidad de un compuesto.

1.5.1.b) Volatilidad

La volatilidad es el potencial que tiene un producto químico 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 de vapor sea alta. La constante de Henry, H_a , se usa como referencia de la volatilidad de un plaguicida en suelo, y se obtiene

dividiendo la presión de vapor por la solubilidad del producto en agua. Un valor alto de 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.

Diversos autores encuentran pérdidas por volatilización de simazina, terbutilazina inferiores al 1% de la cantidad de producto aplicada, e incluso nulas (Blumhorst y Weber, 1992; Taylor, 1995; Schroll et al., 1999). Por otro lado, las sulfonilureas son herbicidas no volátiles con valores de presión de vapor a 25 °C entre $1,3 \times 10^{-10}$ a $5,5 \times 10^{-16}$ mmHg, por lo tanto, en estudios de laboratorio no se han encontrado evidencias de volatilización de estos compuestos (Beyer et al., 1988).

1.5.1.c) 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 es a través del tiempo de vida media ($t_{1/2}$) entendido como el tiempo que se requiere para que su concentración se reduzca a la mitad. 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 y/o subterráneas.

La persistencia de un compuesto en el medio depende de muchos factores, como la estructura química del compuesto, temperatura, características del suelo, cantidad de luz solar (en el caso de que sufra degradación de tipo fotoquímica) y fenómenos de degradación química y biológica.

En general los herbicidas triazínicos se consideran compuestos persistentes en el medio, al contrario de lo que ocurre con las sulfonilureas.

1.5.1.d) Estado iónico

El estado iónico de un compuesto (catiónico, aniónico, ácido o base) es una propiedad fundamental en los estudios de adsorción. Generalmente, los plaguicidas aniónicos son menos adsorbidos que los catiónicos, ya que son repelidos por las cargas negativas de la m.o. y de la arcilla, y por tanto, son más susceptibles a fenómenos de percolación en el suelo (Koskinen et al., 1996; Dubus et al. 2001). El carácter ácido o básico de un compuesto influye en que éste se encuentre en el medio en forma iónica o neutra en función del pH del medio y de la constante de disociación del ácido o de la base.

Las sulfonilureas son ácidos débiles (pKa entre 3 y 5), de modo que a los valores de pH normales del suelo, se encontrarán mayoritariamente en su forma aniónica, mientras que las triazinas al ser bases débiles se encontraran, principalmente, en forma neutra.

1.5.1.e) Características estructurales

Es importante conocer la naturaleza de los grupos funcionales: carboxilo (-COOH), carbonilo (=C=O), hidroxilo (-OH) y amino (-NH₂). Estos últimos son especialmente reactivos, ya que pueden protonarse con relativa facilidad. También ejerce una notable influencia la posición estérica de unos grupos frente a otros, y la presencia y magnitud de insaturaciones en la molécula, que pueden afectar el balance hidrófilo-hidrófobo.

La naturaleza de los átomos constituyentes de la molécula de plaguicida y de los grupos funcionales determina su estructura electrónica. La distribución de carga de la molécula de plaguicida juega un papel muy importante en los tipos de enlace entre los componentes del suelo y los plaguicidas. Así, la presencia de cargas en la molécula permite la adsorción por intercambio iónico. Las moléculas pueden estar permanentemente cargadas, ionizadas de acuerdo al pH del medio o bien ser neutras. La ionización depende de la estructura molecular. La posibilidad de que una molécula esté o no ionizada explica por qué las interacciones entre el suelo y los plaguicidas están tan influenciadas por el pH del medio. Calvet (1989) hace una revisión sobre como la carga eléctrica de las moléculas de plaguicidas afecta a su adsorción en el suelo.

1.5.2. 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 (arena, limo y arcilla) y orgánicos, que dejan un espacio de huecos (poros, galerías, grietas y otros) en el que se hallan las fases líquida y gaseosa. Los plaguicidas en el suelo, pueden encontrarse en cualquiera de las tres fases, pero su distribución y concentración relativa en cada una de ellas dependerá de distintos factores ambientales. Entre las características del suelo que afectan al movimiento de plaguicidas cabe destacar las que se describen a continuación.

1.5.2.a) Estructura del suelo

La estructura de un suelo describe la forma de agregarse las partículas individuales del suelo en unidades de mayor tamaño (agregados) y el espacio de huecos asociado a ellas, determinando las vías de movimiento del agua y de las sustancias solubles como plaguicidas y la cantidad de interacciones entre el suelo y el plaguicida. El grado de agregación de las partículas de suelo, la actividad biológica, el contenido de m.o., el clima y las prácticas de cultivo son factores que afectan el desarrollo de la estructura del suelo.

El agua y los herbicidas solubles circulan por los espacios vacíos del suelo pudiendo pasar a la matriz principal y evitando así su disipación. Por otra parte, la presencia de grietas o canales en el suelo origina fenómenos de flujo preferencial (Roth et al., 1991; Logan et al.,

1994; Flury et al., 1995; Jarvis, 1998; Kordel y Klein, 2006) muy importantes en el transporte de plaguicidas hacia capas profundas del suelo. Estos fenómenos de flujo preferencial tienen más importancia en suelos bien estructurados, de tipo limoso o arcilloso con capacidad para hincharse y deshincharse aunque cada vez existen más evidencias de movimiento preferencial en suelos arenosos, particularmente en aquellos que presentan características hidrófobas (Flury et al., 1994) o cuando existen discontinuidades hidrológicas como cambios en la textura del suelo (Brown et al., 1999) La actividad de la fauna del suelo, por ejemplo topos y lombrices, también puede originar canales por los que el agua y los herbicidas solubles son transportados con mayor rapidez hacia capas más profundas del suelo.

1.5.2.b) Hidrología del suelo

Para determinar la cantidad y dirección del agua y el movimiento de solutos es fundamental conocer aspectos dinámicos del contenido en agua, el estado energético y los flujos de agua en el perfil del suelo.

Al ser el suelo un medio poroso, el agua puede ocuparlo y moverse a través de él, con ello entra en contacto con las superficies de las partículas que constituyen la matriz sólida, con las que interacciona, quedando sometida a un conjunto de fuerzas. Por otro lado, toda la masa de agua se halla en el campo gravitatorio, y además los iones en disolución también interaccionan con ella. En definitiva, las fuerzas actuantes derivan, fundamentalmente, de la acción de la matriz del suelo, del campo gravitatorio, y de la presencia de iones en solución.

El conocimiento de estas fuerzas a nivel cuantitativo resulta difícil, no siendo operativo en la práctica, al no ser posible identificar la magnitud y la dirección de las fuerzas que la componen. Por ello se recurre al concepto de estados energéticos. El estado energético en el suelo viene determinado por su energía potencial en cada punto, expresada como una diferencia de potencial, de modo que podemos afirmar que el agua se mueve por diferencias de potencial hidráulico entre distintos puntos. En un sistema en equilibrio, el potencial hidráulico del agua tiene el mismo valor en todos sus puntos. En los demás casos habrá procesos de transferencia de agua que pueden tener lugar como flujo saturado, en suelos donde el espacio poroso está lleno de agua y flujo no saturado.

Los efectos de las características hidrogeológicas de un suelo, contenido en agua, estado energético y flujos de agua dependen fundamentalmente de la textura del mismo, por eso se habla con más detalle de estos términos en el apartado siguiente.

1.5.2.c) Textura del suelo

Las fracciones granulométricas que podemos encontrar en un suelo se pueden clasificar en gravas (>2 mm), arenas (0,2 mm– 50 μm), limos (50 – 2 μm) y arcillas (< 2 μm).

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) poseen poros de gran tamaño

por los que el agua y los solutos pueden circular rápidamente. Por tanto, estos suelos presentan una alta capacidad de infiltración, y el agua se infiltra antes de que se produzcan fenómenos de escorrentía superficial. Cuando los poros más gruesos han sido drenados, el agua tiene que circular por los poros de tamaños inferiores a una velocidad más lenta.

Los suelos con texturas finas, como los arcillosos y franco arcillosos, presentan menos cantidad de poros gruesos que los arenosos y por tanto, tienen menor capacidad de infiltración, pudiéndose producir fenómenos de escorrentía superficial. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, en los suelos arcillosos es frecuente la aparición de grietas y canales por los que el agua y los plaguicidas solubles circulan más rápidamente.

Otro factor importante a tener en cuenta, es el contenido inicial de agua en el suelo. Existen evidencias de que los efectos del contenido en agua del suelo dependen de la textura. Así, cuando los plaguicidas son aplicados bajo condiciones de sequedad, su percolación es menor en suelos arenosos que en arcillosos, al contrario de lo que ocurre cuando los plaguicidas se aplican en suelos ya húmedos (Shipitalo et al., 1990; Edwards et al., 1993; Isensee y Sadeghi, 1994; Flury et al., 1995; Brown et al., 1995).

1.5.2.d) Arcilla

Las partículas más finas del suelo constituyen la fracción conocida como "arcilla" y juegan un papel muy importante en los fenómenos de adsorción (Wolfe et al., 1990; Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano, 1991; Lair y Sawhney, 2002). Los compuestos que integran esta fracción aparecen como resultado del proceso de edafización de algunas rocas, especialmente constituidas por feldespatos y micas, las cuales, después de haber experimentado diversas acciones físicas, sufren una serie de procesos químicos y microbiológicos que reducen su diámetro a menos de 2 micras, dando lugar a un material muy complejo, integrado en su mayor parte de silicatos alumínicos hidratados, y en menor proporción de óxidos de hierro y aluminio, residuos muy finos de cuarzo y caliza, generalmente precipitada.

Estos silicatos, a pesar de poseer una estructura cristalina, están dotados, en un alto porcentaje, de propiedades coloidales, debido a la finura de sus partículas. Presentan una gran superficie externa y, aparte de su forma particular, cada una está constituida por un gran número de unidades planas o láminas formadas por tetraedros de sílice y octaedros de alumina. En algunos casos, estas unidades estructurales pueden sufrir una expansión, tal como ocurre al mojarse, pudiendo aparecer entonces, debido a esta hinchazón anormal, una superficie interna entre las láminas expansionadas. Esta posibilidad depende del tipo de arcilla.

Por tanto, la gran superficie que caracteriza a las arcillas silíceas, está producida no sólo por su fino estado de división, sino además por la estructura laminar que, tal como se ha indicado, permite, en muchos casos, la aparición de superficies internas por expansión de la red.

La característica principal que presenta esta gran superficie de las arcillas es que ordinariamente soportan una gran carga negativa. La partícula coloidal constituye, por así decirlo, un enorme anión, en cuya superficie, tanto interna como externa, se acoplan gran número de partículas positivas formando un verdadero enjambre. Además hay también un gran aumento de moléculas de agua aportadas por los cationes adsorbidos, ya que muchos son hidratados.

En resumen, las partículas de arcilla coloidal presentan un sistema compuesto de dos partes distintas: una micela grande e insoluble cargada negativamente, y un enjambre adosado de cationes o partículas positivas. Dado que estos cationes adsorbidos son fácilmente desplazables, podrán también llamarse iones intercambiables. Este reemplazamiento, denominado también cambio catiónico, es uno de los fenómenos más importantes que se producen en el suelo.

1.5.2.e) Materia orgánica

La m.o. del suelo procede de la acumulación y degradación de restos y residuos de plantas y animales y desempeña, al igual que la arcilla, un importante papel en la adsorción y degradación de los plaguicidas (Ahmad et al., 2001). Su contenido en el perfil del suelo disminuye conforme nos alejamos de la superficie (Shapir y Mandelbaum, 1997; Sánchez Moreno, 2002; Sánchez et al., 2003 y 2006) y puede variar desde menos de un 1% en suelos de regiones áridas a más del 10% en suelos de pradera y más del 30% en todos los horizontes de suelos orgánicos.

La m.o. de un suelo se compone de:

➤ ***Materia orgánica fresca o no humificada:*** materia prima para la formación de las sustancias húmicas. Está integrada por:

- *Biomasa vegetal* (mayoritaria) y *animal*, constituida por biomasa senescente (necromasa) procedente de la parte aérea de la vegetación y raíces, y de restos, deyecciones y secreciones de animales.
- *Biomasa microbiana*, constituida por la masa de microorganismos y microfauna menores de $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}$. Está muy poco o nada alterada y no se encuentra unida a la fracción mineral.

➤ ***Humus:*** se encuentra constituido por sustancias resultantes de la alteración (desnaturalización, desorganización y cambios en la funcionalidad) de productos sintetizados por las plantas y los microorganismos. Presenta uniones débiles con la fracción mineral. El humus lo podemos clasificar en:

- *Sustancias no húmicas*, que incluyen aquellos materiales orgánicos cuyas características químicas resultan todavía identificables con los compuestos

biológicos de partida, tales como carbohidratos, proteínas, péptidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, purinas, pirimidinas, grasas, ceras, resinas, pigmentos y otras sustancias orgánicas de bajo peso molecular (Schnitzer y Khan, 1972). La mayoría de estos compuestos son fácilmente biodegradables por enzimas específicas por lo que permanecerán poco tiempo en el suelo.

- *Sustancias húmicas*, engloban una serie de productos de biosíntesis o diagénesis que se encuentran ampliamente distribuidos tanto en los suelos actuales como en los distintos tipos de recursos orgánicos fósiles. Las sustancias húmicas suponen entre un 60 y un 80% de la m.o del suelo, constituyendo la mayor reserva de carbono de la biosfera. Además se trata de la fracción más activa de la m.o. en suelos agrícolas. Son sustancias macromoleculares, de color oscuro, con carácter coloidal e hidrófilo marcado, con propiedades de superficie y carga variable, con pesos moleculares elevados, con alta capacidad de intercambio iónico y que engloban compuestos aromáticos y alifáticos en sus estructuras (Schnitzer, 1978). Al igual que las arcillas, tienen un elevado número de cargas negativas que proceden de la disociación de los grupos carboxílicos, fenólicos y enólicos, y también de otros de carácter ácido. Al hablar de humificación, se está hablando de la transformación de las sustancias orgánicas. Esta transformación implica una resistencia creciente a la biodegradación por su mayor complejidad y porque la mayoría de las sustancias húmicas se encuentran unidas, en diversas formas, a la fracción mineral del suelo.

Una estimación de la composición química de la m.o. del suelo, utilizando porcentajes promedios y teniendo en cuenta que varían en función de las condiciones ambientales, sería: 10% de carbohidratos, 10% de compuestos nitrogenados, 15% de lípidos (alcanos, ácidos grasos, ceras, resinas, etc) y 65% de sustancias húmicas (Schnitzer, 1991).

La matriz orgánica del suelo posee una actividad fisicoquímica variable que se atribuye a sus grupos funcionales más externos (fundamentalmente carboxilos y fenólicos) (Wagner y Stevenson, 1965; Tsutsuki y Kuwatsuka, 1978; Wershaw, 1985; Porta et al., 1986), que son más o menos reactivos a diferentes valores de pH (Stevenson, 1982). En condiciones naturales la m.o del suelo influye en la movilidad del agua y de la práctica totalidad de las especies químicas inorgánicas (iones minerales) y orgánicas sencillas del suelo, por ejemplo, plaguicidas. Los suelos con alto contenido en m.o. tienen un bajo potencial de infiltración y de pérdidas superficiales.

Sustancias húmicas

La clasificación de las sustancias húmicas se basa en criterios de solubilidad (Schnitzer y Khan, 1972). De este modo, entre las fracciones extraíbles por reactivos alcalinos, se pueden

distinguir: **ácidos fúlvicos** (solubles en ácidos y en álcalis), **ácidos húmicos** (solubles en álcalis e insolubles en ácido) y las **huminas** (insolubles a todos los valores de pH).

Desde el punto de vista químico, las fracciones húmicas difieren en el contenido y naturaleza de los grupos funcionales y unidades estructurales. Éstas se asocian, a su vez, mediante distintos tipos de enlaces, lo que se traduce en unas características químicas y físicas variables y como consecuencia, una diferente reactividad en el suelo.

Los estudios llevados a cabo sobre la composición elemental y naturaleza de los grupos funcionales de los ácidos húmicos y fúlvicos muestran que:

- a) los ácidos húmicos contienen más C pero menos O que los ácidos fúlvicos,
- b) los ácidos húmicos contienen más H, N y S que los ácidos fúlvicos,
- c) la acidez total y el contenido de grupos -COOH es superior en los ácidos fúlvicos que en los ácidos húmicos,
- d) los ácidos fúlvicos son más ricos en grupos fenólicos, alcohólicos y cetónicos que los ácidos húmicos, aunque éstos tienen mayor proporción de C=O quinónicos, y
- e) los ácidos húmicos presentan pesos moleculares superiores a los de los ácidos fúlvicos (Stevenson, 1982; Schnitzer, 1991).

La humina es la fracción de sustancias húmicas más fuertemente ligada a la fracción mineral del suelo.

En general, 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.9 y I.10). Estas sustancias intervienen en las reacciones de intercambio catiónico, presentando una elevada capacidad de cambio catiónico (CIC) (de 100 a 300 $\text{cmol}(+) \text{kg}^{-1}$) (Porta et al., 2003). Además 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 et al., 2003). Las investigaciones medioambientales sobre la estructura y reacciones de la matriz orgánica del suelo suelen concentrarse en las propiedades de superficie de estos constituyentes que, inmovilizados junto con la matriz mineral, regulan la actividad tanto de solutos minerales como de compuestos orgánicos (procesos de intercambio iónico, quelación, fuerzas de van der Waals, interacciones hidrófobas, transferencias de carga, etc) (Wershaw, 1989). Además, las sustancias húmicas pueden interaccionar con los plaguicidas de diversas formas que incluyen la adsorción, la solubilización, catálisis en hidrólisis y dealquilación y la fotosensibilización (Senesi y Chen, 1989). Todos estos procesos tienen implicaciones claras en la movilidad y comportamiento de los plaguicidas en el suelo afectando a su degradación, detoxificación, persistencia, movilización y transporte, biodisponibilidad y fitotoxicidad, y bioacumulación. El fenómeno de adsorción representa, probablemente, el modo más importante de interacción entre los ácidos húmicos y los plaguicidas y controla la

concentración de los últimos en la fase líquida del suelo. El papel de los ácidos húmicos en la adsorción de los plaguicidas se tratará posteriormente.

Lípidos del suelo

Los lípidos del suelo son una mezcla heterogénea de numerosos compuestos que tienen en común el ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos (cloroformo, hexano, éter, benceno, etc). Pueden representar entre el 2 y el 10% del carbono orgánico total (Simoneit y Mazurek, 1982). Esta fracción incluye desde compuestos relativamente sencillos como los alcanos y ácidos grasos, hasta otros más complejos como terpenos, ceras, resinas, clorofilas y esteroides. Los lípidos que más abundan en los suelos son las grasas, ceras y resinas.

La mayor parte de los lípidos del suelo son productos que proceden de los residuos de plantas, animales y microorganismos. El contenido en lípidos del humus varía en función de la vegetación, el pH o la combinación de ambos factores.

La presencia de grupos funcionales oxigenados y de numerosas insaturaciones hace que los compuestos lipídicos sean reactivos y formen parte en los procesos de condensación biológica y química (Almendros et al., 1996, 2001). Estos procesos hacen que parte de los lípidos se condensan en macromoléculas y otros se incorporen a las estructuras de las sustancias húmicas o a polímeros lipídicos derivados de las plantas superiores, tendiendo a acumularse en los suelos en formas mucho más resistentes a la biodegradación.

Los lípidos ejercen una gran influencia en las propiedades del suelo y en el crecimiento de las plantas (Braids y Millar, 1975; Friadland, 1982). Por su carácter hidrófobo pueden afectar a las propiedades físicas de los suelos. Si se hallan a baja concentración pueden mejorar la estabilidad de los agregados y con ello la estructura del suelo, al influir sobre las propiedades de superficie de los agregados, a los que impermeabilizan, evitando con ello la entrada de agua por capilaridad y el colapso de los mismos (Dinel et al., 1990). Además pueden influir en la adsorción de plaguicidas.

Materia orgánica disuelta (MOS)

La MOS de un suelo está compuesta principalmente por ácidos orgánicos (Cook y Allan, 1992) y representa, normalmente, menos del 1% de la m.o total del suelo. Juega un papel muy importante en los ecosistemas. Así, por ejemplo Burford y Bremner (1975) encontraron una estrecha relación entre el contenido en carbono orgánico disuelto y la capacidad de mineralización y desnitrificación en una amplia variedad de suelos. Además, el movimiento de la m.o disuelta desde la superficie hacia las capas profundas del suelo representa la principal vía de traslocación de nutrientes y energía a través de los distintos comportamientos de un ecosistema (Qualls y Haines, 1991), controlando el reciclado de nutrientes y el desarrollo de la población microbiana (Dinwoodie y Juma, 1988). Ambas propiedades influyen de forma indirecta en la degradación de plaguicidas y por tanto en su persistencia en el suelo. Pero

también la m.o disuelta puede influir más directamente en el movimiento de plaguicidas en suelo. Los plaguicidas pueden interaccionar con la fracción soluble de la m.o. del suelo. La extensión y naturaleza de esta interacción dependen de factores tales como el peso molecular y la polaridad del plaguicida (Maqueda et al., 1993; Spark y Swift, 1994, 2002).

Numerosos estudios evidencian que la MOS produce un aumento en el transporte de plaguicidas asociados a ella, a través del medio poroso, hacia capas más profundas del suelo (Kan y Tomson, 1990; Baskaran et al., 1996; Gao y col, 1997; Celis et al., 1998; Businelli, 1997; Gigliotti et al., 2005). Este transporte puede ser el resultado de la formación de interacciones estables entre la m.o disuelta y el plaguicida (Barriuso et al., 1992, 1995; Businelli, 1997) o de un fenómeno de competencia por los sitios activos del suelo (Lee et al., 1990).

Por otra parte, la m.o disuelta puede ser inmovilizada por el suelo a través de complejas interacciones con las superficies minerales (Jardine et al., 1989-222). La unión entre la fracción sólida del suelo y la m.o disuelta se produce a través de fenómenos físicos debidos a cambios de entropía principalmente y en menor medida, a intercambio aniónico, secundariamente (Jardine et al., 1989 y Baham y Sposito, 1994). Esta interacción puede originar nuevos sitios de adsorción para los plaguicidas disminuyendo, por tanto, su lixiviación hacia aguas subterráneas (Celis et al., 1998).

Que la m.o disuelta favorezca o perjudique la lixiviación de los plaguicidas dependerá del pH, la presencia de óxidos de Fe y Al (poner en abreviaturas), la m.o. y los minerales de la arcilla (McDowell y Word, 1984; Jardine et al., 1989; Dalva y Moore, 1992), factores que controlan la adsorción de la m.o disuelta al suelo, y también de las características del plaguicida y de la propia naturaleza de la m.o disuelta.

1.5.2.f) Otros factores

Además de la estructura, la hidrogeología, la textura, contenido en m.o. y composición mineralógica del suelo, hay otros factores importantes como el pH del suelo (Smith et al., 1978; Laird et al., 1992; Matallo et al., 1998), topografía, temperatura, etc.

La importancia del pH dependerá de la naturaleza de los compuestos (apartado I.6.1.1.B) y del tipo de enlaces involucrados en la adsorción (Werkheiser y Anderson, 1996).

1.5.3. FENÓMENOS DE ADSORCIÓN

La adsorción de plaguicidas por los coloides del suelo es uno de los principales procesos determinantes de la distribución de un compuesto químico entre la fase sólida, líquida y gaseosa. El grado en el que un herbicida se encuentra en una fase u otra afectará a otros aspectos de su comportamiento en el suelo. La adsorción, por tanto, determinará si el compuesto persiste o no en el medio, si es transportado convirtiéndose en potencial

contaminante de aguas subterráneas o si es eficaz en la lucha contra plagas. La necesidad de establecer el impacto de la adsorción en el comportamiento de plaguicidas en el sistema agua-suelo ha incrementado rápidamente en los últimos años debido a que la contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas es un hecho frecuente.

La adsorción de plaguicidas en el suelo y sus constituyentes ha sido objeto de revisiones por varios autores (Hamaker y Thompson, 1972; Calvet, 1980-29, 1989; Green y Karickhoff, 1990; Koskinen y Harper, 1990; Wauchope et al., 2002).

Según la IUPAC (1972), adsorción es el enriquecimiento (adsorción positiva) o reducción (adsorción negativa) de una o más especies químicas en una interfase. Calvet (1989) define la adsorción como el paso de un soluto desde la fase acuosa hasta la superficie de un sólido que actúa como sorbente y la desorción como el proceso contrario. El soluto puede ser una molécula neutra o una especie iónica y el proceso puede tener lugar en los macroporos o microporos del medio.

El grado de asociación de un plaguicida al suelo es uno de los factores que más influyen en su lixiviación (Mazzoncini y Bonari, 1997), ya que cuanto menor sea la adsorción de un plaguicida al suelo, mayor será su movilidad (Liu et al., 1995). Sin embargo una vez adsorbidos pueden ser transportados por procesos de erosión superficial o escorrentía (Cohen et al., 1995) o desorberse y lixiviar hacia las aguas subterráneas por fenómenos de flujo preferencial (Flury, 1996).

1.5.3.a) Mecanismos de adsorción

No resulta fácil determinar los mecanismos de adsorción de plaguicidas en las partículas del suelo. Dada la complejidad de la matriz sólida del suelo podrán existir distintos mecanismos de adsorción dependiendo de la naturaleza de la asociación organo-mineral. Aún así, el conocimiento sobre los coloides del suelo y las características fisico-químicas de los plaguicidas permite especular sobre los mecanismos predominantes, entre los que se encuentran enlaces de tipo fisicoquímico como las fuerzas de van der Waals, puentes de H, interacciones dipolo-dipolo, intercambio iónico, enlaces covalentes, protonación, interacciones con cationes metálicos y enlaces de tipo hidrófobo. En la literatura se pueden consultar distintas revisiones que explican con detalle cada uno de los posibles mecanismos implicados en la adsorción de plaguicidas en el suelo (Khan, 1980; Burchill et al., 1981; Calvet, 1989; Koskinen y Harper, 1990).

1.5.3.b) Factores que afectan a la adsorción de plaguicidas en suelo

Distintos factores afectan a la adsorción de compuestos químicos orgánicos en suelo y sedimentos. Las propiedades de los compuestos adsorbidos, las propiedades del adsorbente y las características de la fase líquida (composición y contenido en agua).

La adsorción también depende de otros factores como el pH del suelo, la humedad y la temperatura. Este último evidenciado por descripciones termodinámicas y cinéticas (Wauchope y Koskinen, 1983; Koskinen y Harper, 1990; Travis y Etnier, 1981; Calvet, 1989). Un aumento en la temperatura generalmente produce una disminución de la cantidad adsorbida y un aumento de la velocidad de adsorción y desorción.

Las propiedades de los plaguicidas que influyen en su adsorción en el suelo se han descrito con anterioridad. Nos centraremos, en este momento, en describir de forma más detallada la importancia de los principales componentes del suelo implicados en la adsorción de plaguicidas, arcilla y m.o.

Arcilla

Los adsorbentes minerales responsables de los procesos de adsorción de compuestos orgánicos en suelo son las arcillas, óxidos e hidróxidos. Las arcillas y los minerales de la arcilla juegan un gran papel en la adsorción de cationes orgánicos, pero también son capaces de adsorber compuestos orgánicos no iónicos. Los plaguicidas no-iónicos se retienen en las superficies minerales del suelo por medio de interacciones electrostáticas relativamente débiles, tales como fuerzas de van der Waals-London, puentes de H y puentes por medio de cationes o agua (Barriuso et al., 1994). El potencial que presentan las arcillas para la adsorción de plaguicidas es debido, principalmente, a su elevada superficie específica (Dios et al., 1992; Romero et al., 1997)

El efecto de la fracción mineral sólo es dominante en suelos con alto contenido en arcilla y bajo contenido en m.o, concretamente cuando la razón arcilla/m.o es superior a 30 (Khan et al. 1979; Hasset et al., 1981; Karickhoff , 1984).

Los minerales de la arcilla más estudiados desde el punto de vista de la adsorción son la montmorillonita, caolinita e illita. Sus propiedades de adsorción son diferentes y no existe una regla general que explique su capacidad de adsorción.

La adsorción en las arcillas ocurre en la superficie de las partículas y es principalmente debida a intercambio catiónico.

Los cationes intercambiables en la superficie de las partículas de arcilla pueden actuar de tres maneras:

- Compitiendo por los sitios de adsorción con las moléculas orgánicas positivamente cargadas.
- Actuando directamente como sitios de adsorción a través de la formación de enlaces de coordinación. También los cationes pueden actuar indirectamente cuando están hidratados con moléculas de agua, pudiendo éstas establecer una variedad de enlaces con los compuestos orgánicos, por ejemplo, uniones por puente de hidrógeno y enlaces iónicos (Figura I.6).

- Los cationes como Al^{3+} y Fe^{3+} pueden formar hidróxidos en la superficie de las arcillas. Este hecho puede resultar en un gran incremento de la capacidad de adsorción del mineral (Dubus et al., 2001).

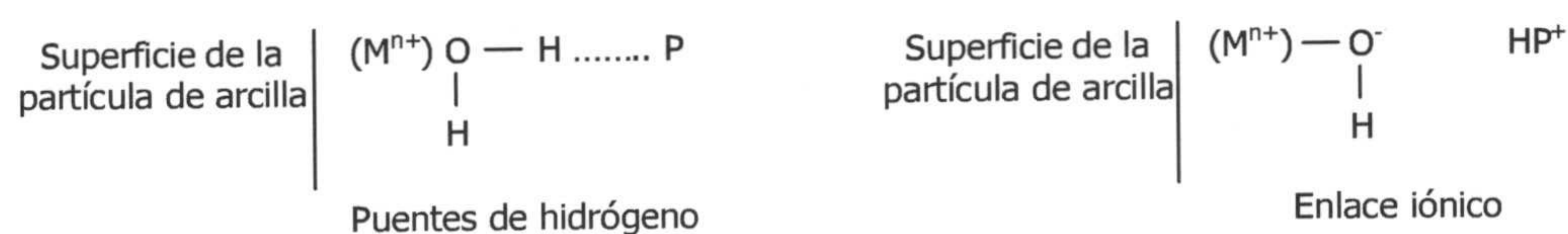


Figura I.6. Ejemplos de uniones entre una molécula orgánica, por ejemplo un plaguicida (P) y un catión (M) hidratado de la superficie de las partículas de arcilla

Materia orgánica

Muchos trabajos muestran que la adsorción de los compuestos químicos no iónicos en suelo y sedimentos es debida, principalmente, a la m.o. Se pueden consultar distintas revisiones en este sentido (Hayes, 1970; Hamaker y Thompson, 1972; Stevenson, 1972; Calvet, 1989; Senesi, 1992).

Al tratar de describir el fenómeno de adsorción en la m.o. surgen dos dificultades fundamentales. En primer lugar, la necesidad de conocer y entender la estructura y propiedades de los constituyentes orgánicos. En segundo lugar, la posible confusión entre la adsorción real y la fijación química. Esta última está liderada por la retención de moléculas mediante enlaces covalentes, un fenómeno bastante frecuente (Khan, 1980).

La adsorción de plaguicidas varía de forma importante en función de la naturaleza de la m.o. Los suelos difieren enormemente en el contenido en m.o. pero también en la composición de la misma. Por ejemplo, el porcentaje de grasas, ceras y resinas puede variar desde el 2% en unos suelos al 20% en otros. El porcentaje de proteínas puede variar desde el 15% al 45% y el de carbohidratos desde el 5% al 20%. La m.o. humificada representa tres cuartas partes de la m.o. total en unos suelos y menos de un tercio en otros. Estas diferencias en la composición de la m.o. tienen implicaciones en los estudios de correlación de la adsorción de herbicidas con el contenido de m.o..

Como se vio en el apartado 1.5.2.e relativo a la m.o, tanto las sustancias húmicas como las no-humificadas pueden participar en la adsorción de compuestos orgánicos, sin embargo es difícil establecer una regla general que defina su comportamiento. Algunos autores (Hayes, 1970; Senesi, 1992; Martín-Neto et al., 2001; Kulikova et al., 2002) sugieren que los ácidos húmicos son más efectivos en la adsorción de herbicidas que los ácidos fúlvicos. Stevenson, (1982), considera que debido al bajo peso molecular y la gran acidez de los ácidos fúlvicos, éstos pueden actuar como agentes transportadores para ciertos plaguicidas en suelo y aguas naturales. Las sustancias no húmicas como lípidos, ceras, resinas y polisacáridos se consideran

con baja capacidad de adsorción de plaguicidas (Stevenson, 1982), mientras que existe controversia en el papel que desempeña la MOS en el fenómeno de adsorción como se indicó anteriormente.

A pesar de que hasta ahora la capacidad de adsorción de arcilla y m.o.se ha descrito por separado, no podemos olvidar que en el suelo las sustancias húmicas se encuentran siempre asociadas con la fracción mineral. Esto, unido al hecho de que los constituyentes minerales y orgánicos del suelo no son estables sino que están sujetos a transformaciones por procesos químicos y biológicos, explica por qué es difícil predecir la capacidad de adsorción de un suelo. A pesar de esta consideración, desde un punto de vista práctico, es habitual intentar relacionar la adsorción de plaguicidas con los componentes del suelo.

Con objeto de describir el fenómeno de adsorción es necesario obtener información sobre:

- ✓ La relación, en el equilibrio, entre la cantidad adsorbida y la que permanece en solución en contacto con el adsorbente. Para ello se emplean isothermas de adsorción y desorción.
- ✓ Las energías que caracterizan el equilibrio entre la superficie del sólido y la fase líquida. El tratamiento termodinámico de los datos de adsorción permite obtener estos valores.
- ✓ La velocidad a la cual se produce el equilibrio y la magnitud de las energías implicadas. Estos datos son obtenidos mediante estudios cinéticos.

En el capítulo de esta tesis destinado a adsorción se muestran las ecuaciones utilizadas para describir este fenómeno.

1.5.4. DEGRADACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN EL SUELO

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:

- **Reacciones fotoquímicas** o descomposición por exposición a la luz del sol. Estas reacciones se denominan de fotólisis.
- **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 (CO₂).
 - *Cometabolización*, o proceso de transformación en otros compuestos químicos.

- **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 móviles que el producto de partida (Squillace et al., 1993). En estos procesos influyen tanto las características del plaguicida, como las del suelo, las condiciones de aplicación y condiciones climatológicas e hidrológicas.

1.5.4.a. Fotodegradación

La fotodegradación es el proceso por el que la luz ultravioleta (UV) o visible transforma a algunos compuestos, entre los que se encuentran los plaguicidas (Crosby, 1970).

Cuando la radiación absorbida 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 et al., 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 et al., 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 fotólisis en suelos dependerá de la profundidad (Herbert y Miller, 1990), de la textura del suelo, y del contenido en m.o. (Takahashi et al., 1985a y b; Zepp, 1988; Romero et al., 1998), de la humedad del suelo (Smith et al., 1978; Burkhard y Guth) y de la temperatura (Liberti et al., 1978).

1.5.4.b. 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 degradación microbiológica es la principal forma de degradación de los plaguicidas en el suelo (Bourne, 1978; Alexander, 1994; Robertson y Alexander, 1994; Tisis et al., 1997; Cullington y Walter, 1999; Crecchio et al., 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 éstos o incluso que sea poco eficaz su efecto (Suett et al., 1996; Bending et al., 2001).

Este tipo de degradación dependerá tanto de las características del suelo como de las del compuesto. En suelo y agua se verá afectada por condiciones climatológicas (temperatura, precipitación, viento e iluminación (Dakhel et al., 2001), características del suelo (m.o., pH, superficies minerales, nutrientes) (Wardle, 1992; Malcomes, 1992, 1993 y 2001) y 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 β - oxidación, desalquilación oxidativa, oxidación de tioéteres, descarboxilación, epoxidación, hidroxilación aromática, rotura de anillos aromáticos heterocíclicos y no heterocíclicos, hidrólisis y reacciones de halogenación.

1.5.4.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. Los procesos de oxidación e hidrólisis son los más frecuentes, y los que dan lugar a un mayor número de transformaciones (Hill, 1978). Otros procesos que también pueden ocurrir son reacciones de reducción, isomerización, deshalogenación, desalquilación y reacciones con radicales libres.

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

- *Naturaleza del plaguicida.* Por ejemplo, los plaguicidas de carácter ácido se degradan más fácilmente en su forma aniónica que en la forma neutra
- *pH.* El efecto del pH dependerá de las características del compuesto. Así, las sulfonilureas se degradan más fácilmente a pH ácido.
- *La materia orgánica.* El papel que juega la m.o. dependerá del compuesto que se esté estudiando. Por un lado puede aumentar la adsorción del plaguicida y protegerlo de esta forma de la degradación (Romero et al., 1998). Por otro lado, si el plaguicida está débilmente adsorbido, puede catalizar reacciones que favorezcan su degradación (Buser y Müller, 1995a).
- La presencia de arcillas (Mingelgrin et al., 1977; Yaron, 1975; Saltzman et al., 1976), óxidos metálicos, iones metálicos y la superficie de las sustancias húmicas, así como otros materiales orgánicos (Grosby, 1970) pueden catalizar las reacciones de degradación, o por el contrario retardarlas.

1.5.5. 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 mismo. Una frecuencia de aplicación alta, unida a una alta irrigación, son dos hechos que pueden aumentar la lixiviación hacia las aguas subterráneas (White et al., 1986; Ghodrati y Jury, 1990; Troyano et al., 1993).

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 et al., 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 ésta 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.

1.6. MEDIDAS PREVENTIVAS EN LA CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS: ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS

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 aplicación (Reus et al., 2000). La creación de métodos para evaluar el riesgo del empleo de agroquímicos es necesaria debido a su elevado consumo a nivel mundial 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 et al., 2000a; 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 et al., 2000).

Hay numerosos trabajos sobre cómo recuperar suelos contaminados con compuestos orgánicos, incluyendo los plaguicidas (Cole et al., 1995). 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 en laboratorio la adición de bacterias y otros microorganismos para la degradación de plaguicidas en suelos y aguas (Hallas et al., 1992; Gisi et al., 1997; Kök et al., 2000; Bordjiba et al., 2001; Topp, 2001). Sin embargo, la aplicación de estos métodos en campo presenta actualmente numerosos problemas.

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 el acuífero (Honeycutt et al., 1994). La mayoría de estas medidas se basan en programas de aplicación directa y buen uso de los plaguicidas. Algunos estudios recientes obtenidos en programas de seguimiento de la contaminación de aguas subterráneas (Chiron et al., 1995a y b; de la Colina, 1996; Lacorte y Barceló, 1996) muestran la presencia ocasional de residuos de plaguicida en dichas aguas, y que las contaminaciones se originan por problemas puntuales debidos fundamentalmente a las características geográficas de la zona o a un mal uso y aplicación de los plaguicidas (Honeycutt et al., 1994).

Entre las principales medidas podemos destacar:

- La aplicación de las dosis adecuadas, respetando los plazos establecidos (de Liñan, 2000).
- Lavado del equipo de aplicación 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, clausurando 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.).

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 et al., 1994). La m.o. exógena y los surfactantes (Sánchez-Camazano et al., 1995 y 2000; Iglesias-Jiménez et al., 1996; Werkheiser y Anderson, 1996; Matallo, 1997; Matallo et al., 1999), han sido dos elementos utilizados para aumentar la adsorción al suelo y retardar la migración de los compuestos orgánicos hidrófobos. Andrades et al. (2001) proponen el uso de residuos del proceso de obtención de vino como un nuevo tipo de m.o. exógena que disminuya la movilidad de fungicidas en suelo. Tengo que poner más cosas.

Recientemente se ha observado un interés creciente por las consecuencias de la aplicación de m.o. exógena en el comportamiento de plaguicidas en suelo (Bellim et al., 1990; Barriuso et al., 1995; Baskaran et al., 1996; Businelli, 1997; Cox et al., 1997; Gan et al., 1998; Sánchez-Camazano et al., 2000, todas en 66; Sánchez y col., 2003a y b; Albarrán y col., 2003 y 2004; Undabeytia y col., 2004). Se ha postulado que las enmiendas orgánicas pueden alterar de forma importante el comportamiento de plaguicidas en suelo, al ser la m.o. un componente determinante en los procesos de adsorción, degradación y movimiento de plaguicidas en suelo.

2. RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL OLVIAR

2.1. PROBLEMÁTICA DE LOS RESIDUOS GENERADOS POR LA SOCIEDAD

A medida que la sociedad prospera y se hace más productiva, la demanda de productos aumenta y el ciclo de vida de éstos disminuye. El resultado de todo este proceso es un considerable crecimiento en la generación de residuos.

La producción de grandes cantidades de desechos orgánicos plantea problemas medioambientales (olores desagradables, contaminación de aguas subterráneas y suelo) por lo que la eliminación de estos residuos se ha convertido en un tema de importancia para mantener un medioambiente sano (Garg et al. 2006).

Los vertederos autorizados están cada vez más abarrotados. Los metales pesados y las toxinas se pueden filtrar al suelo y la capa freática. Aún más grave es el número, desconocido pero indudablemente altísimo, de vertederos ilegales y los riesgos, imposibles de cuantificar, que suponen.

Por otra parte, la eliminación de residuos es sólo un aspecto del problema. La cantidad de residuos que producimos es el resultado de un estilo de vida insostenible. Las pautas actuales de producción y consumo tienen que adaptarse para reducir la presión sobre los recursos terrestres (no renovables). En pocas palabras: la producción de residuos es un indicador infalible para medir el grado de sostenibilidad de nuestro desarrollo.

A modo de ejemplo, la Comunidad Europea genera cada año prácticamente 2.000 millones de toneladas de residuos, de los cuales más de cuarenta millones están clasificados como peligrosos. En los últimos seis años, la cantidad de residuos generados aumentó un 10% cada año.

De acuerdo con nuestra legislación (Ley 10/1998, sobre Residuos. BOE número 96 de 22 de abril de 1998) se entiende por residuos *“cualquier sustancia u objeto perteneciente a alguna de las categorías que figuran en el anejo de esta Ley, del cual su poseedor se desprenda o del que tenga la intención u obligación de desprenderse”*. En todo caso tendrán esta consideración los que figuren en el Catálogo Europeo de Residuos (CER), aprobado por las Instituciones Comunitarias.

Definido el concepto de residuo, el calificativo de sólido es siempre impreciso, ya que la mayoría de los efluentes líquidos y gaseosos, son realmente suspensiones de sólidos en otros medios.

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

- a) *Sector primario (agricultura y ganadería)*: representan el 80% del total de residuos generados incluyendo los residuos agrícolas, residuos ganaderos y residuos forestales.
- b) *Sector secundario (transformación)*: representan el 10% del total de residuos generados e incluyen a los residuos industriales, residuos asimilables a urbanos, residuos inertes, residuos tóxicos y peligrosos y residuos mineros.
- c) *Sector terciario (servicios)*: representan el 10% restante, incluyéndose los residuos sólidos urbanos y las aguas residuales urbanas.

Los residuos industriales, tanto por su heterogeneidad en los procesos de generación como por las dificultades para su clasificación y valoración, constituyen de todos los residuos los más incontrolados (Lobo, 1985).

En España, el conjunto de los residuos generados en actividades agrícolas, ganaderas y forestales representan alrededor del 53% del total de residuos (orgánicos e inorgánicos), el resto proviene de desechos urbanos, industriales y mineros (Climent et al., 1996).

Por todo ello, la gestión (recogida, almacenamiento, transporte, tratamiento y eliminación) de las enormes cantidades de residuos que se generan ha avanzado de forma simultánea a la mayor concienciación ciudadana y al interés medioambiental por las administraciones públicas y privadas. En este marco, se presenta la estrategia comunitaria sobre residuos de 1996, plasmada en la Directiva 96/61/CE del consejo, de 24 de septiembre de 1996, relativa a la prevención y al control integrado de la contaminación. Los principios en los que se rige este plan de gestión son:

1. Prevención de la generación de residuos.
2. Reciclado y reutilización.
3. Optimización de la eliminación definitiva y mayor control.
4. Reducción de traslados de residuos y mejora de la normativa al respecto.
5. Nuevos y mejores instrumentos de gestión de residuos (instrumentos reglamentarios y económicos, estadísticas fidedignas y comparables sobre residuos, planes de gestión de residuos, vigilancia de cumplimiento de la legislación).

Aunque la mayoría de los residuos son comunes y simultáneamente generados en diferentes áreas del mundo, en algunas áreas, la existencia de una agricultura y ganadería específica así como una minería e industria particular, conlleva la producción de residuos de naturaleza peculiar, cuya gestión constituye un problema añadido. Tal es el caso de los residuos y/o subproductos generados por la industria del olivar, industria específica localizada fundamentalmente en los países de la cuenca mediterránea.

2.2. PRODUCCIÓN OLEÍCOLA

La historia del aceite de oliva se desarrolla de forma paralela a la del cultivo del olivo. El olivo (*Olea europaea* L.) es un árbol que pertenece a la familia botánica Oleaceae, y dentro de esa familia es la única especie con fruto comestibles.

Existen dos hipótesis sobre el origen del olivo, una que postula que proviene de las costas de Siria, Líbano e Israel y otra que lo considera originario de Asia menor. La llegada a Europa probablemente tuvo lugar de mano de los fenicios hacia 1050 a.C., en tránsito por Chipre, Creta e Islas del Mar Egeo, pasando a Grecia y más tarde a Italia. Sin embargo el olivo no alcanzó gran desarrollo hasta la llegada de Escipión (212 a.C.) coincidiendo con el dominio romano, aunque fueron posteriormente los árabes los que impulsaron su cultivo en Andalucía (Blázquez, 1996)

El hábitat del olivo se concentra entre las latitudes 30° y 45° tanto en el Hemisferio Norte como en el Sur, en todas aquellas regiones con un clima Mediterráneo, el cual se caracteriza por un verano seco y cálido, concentrándose en los países de esta región el 98% del área mundial cultivada (Consejo Oleícola Internacional, 1995).

Actualmente, España es el país que posee más superficie dedicada al cultivo de olivar (2.410.000 Ha) y mayor número de olivos productores (215.000.000) (MAPA 2000), siendo, por tanto, el principal país productor y exportador de aceite de oliva a nivel mundial con una producción de aceite que supone un 34% de la producción mundial, aunque este porcentaje varía dependiendo de la campaña oleícola (Figura I.7).

A nivel nacional, el mayor volumen de producción de aceite de oliva se encuentra en la región de Andalucía (aprox. un 80%), seguido de Castilla la Mancha (6-7%), Extremadura (5%) y Cataluña (4%), estando el resto (4%) integrado principalmente por la Comunidad Valenciana y Aragón. Dentro de Andalucía las principales provincias olivares son Jaén y Córdoba, cuya producción de aceite ha aumentado en los últimos años (Tabla I.1).

Dentro del conjunto de aceite y grasas vegetales, el consumo de aceite de oliva a nivel mundial representa sólo el 3,3%, poco significativo, pero responde a un patrón de calidad que lo distingue cada vez más. En España es el aceite más consumido, ya que representa el 53% del consumo per capita del aceite vegetal (11,71 L año⁻¹ sobre un total de 22,2 L año⁻¹) (Parras y Torres, 1994).

2.3. OBTENCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA

El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso de las aceitunas separado de los demás componentes, cuando se obtiene por sistemas de extracción adecuados y procede de frutos frescos y de buena calidad, sin defectos ni alteraciones, y con la adecuada madurez. El aceite de oliva posee características excepcionales de aspecto, fragancia y sabor, siendo

prácticamente el único de los aceites vegetales que puede consumirse crudo. Conserva inalterables todos los componentes y propiedades de las aceitunas, destacando su valor nutritivo y su contenido en vitaminas y ácidos grasos esenciales (Alba, 1998).

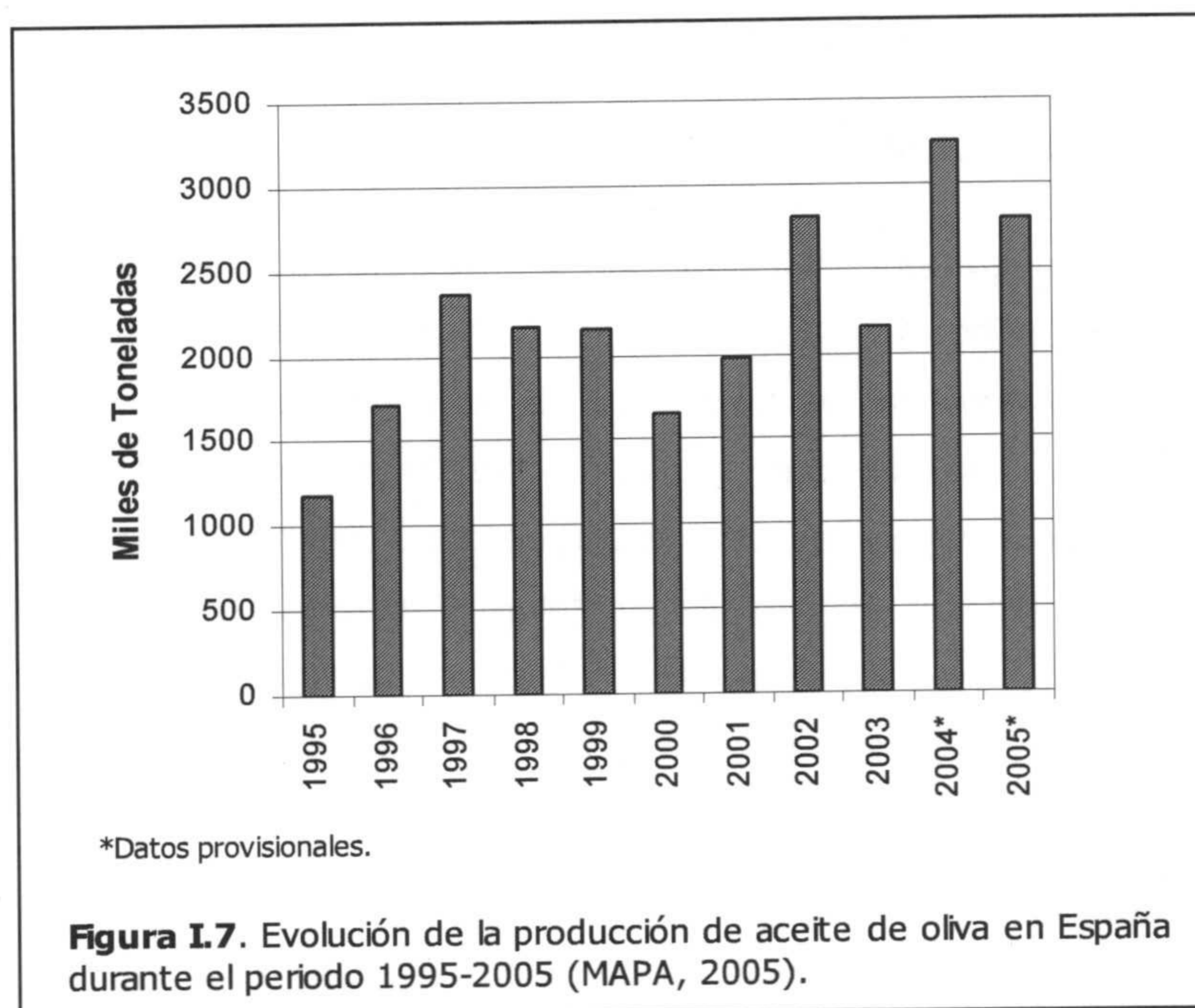


Tabla I.2. Producción en miles de toneladas de aceite de oliva de las principales provincias andaluzas (MAPA, 2006).

	CAMPAÑAS				
	1982/1986	1992/1994	1997/2000	2000/2002	2002/2003
Jaén	206	217	342	539	374
Córdoba	96	120	157	242	162
Granada	29	36	61	91	78
Málaga	27	34	52	61	42
Otras	37	31	66	79	52

Los sistemas para la obtención del aceite de oliva han experimentado en las últimas décadas una profunda transformación dirigida fundamentalmente a mejorar los rendimientos y la productividad de la industria oleícola, obtener aceites de oliva de gran calidad, reducir los consumos de agua y energía y evitar en lo posible la generación de subproductos o residuos,

algunos de los cuales presentan un elevado potencial contaminante. Estos cambios sobre todo se han circunscrito al método de extracción, pasando del tradicional sistema de molinos y prensas al sistema de centrifugación de 3 fases y posteriormente al de 2 fases.

Las operaciones fundamentales del proceso de elaboración del aceite de oliva virgen extra son las siguientes (Alba, 1998):

A) LIMPIEZA Y LAVADO

Las primeras operaciones a las que son sometidas las aceitunas antes de la extracción son la eliminación de las hojas y el lavado. Estas operaciones son realizadas, en este orden, por máquinas automáticas provistas de un sistema de aspiración de las hojas y otros materiales menos pesados y de una pila con circulación forzada de agua para la solubilización y separación de cuerpos más pesados. La finalidad de estos tratamientos es limpiar los frutos de impurezas de origen vegetal, como hojas y ramillas, y mineral, como polvo, tierra, piedras y otros cuerpos sólidos, además de posibles restos de contaminantes agrícolas, como los plaguicidas, que pueden representar entre el 5 y 10% del peso del fruto en el momento de entrar en la almazara.

B) MOLIENDA

Consiste en la molturación de las aceitunas para romper los tejidos vegetales, dejando libres los glóbulos de aceite que van uniéndose entre sí para formar gotas de tamaño variable que se encuentran en contacto directo con el agua de vegetación y el agua procedente de los tratamientos previos (lavado de las aceitunas).

C) BATIDO

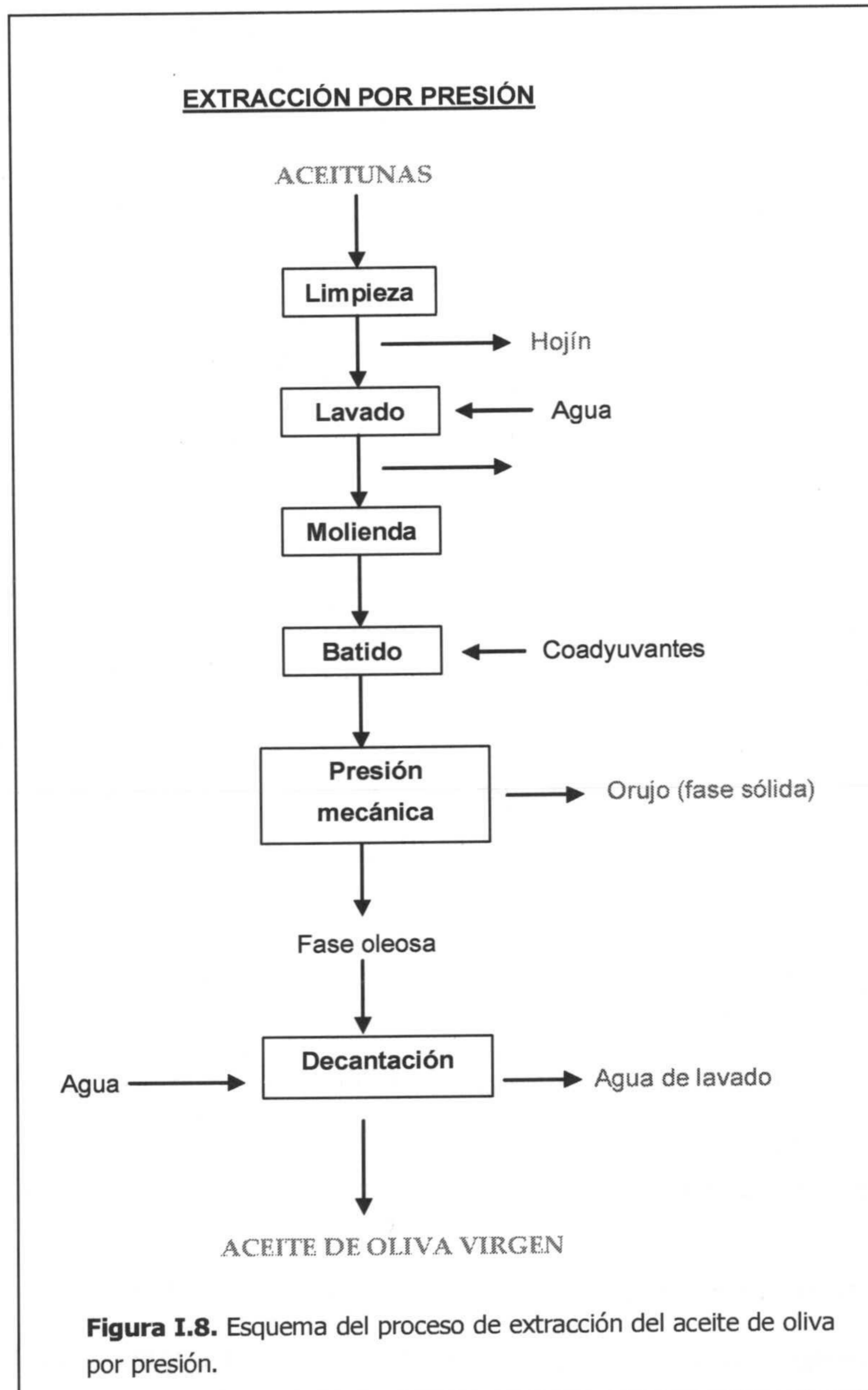
Esta operación tiene por finalidad romper la emulsión aceite/agua y facilitar la reunión de las minúsculas gotas de aceite en gotas de mayor tamaño. La operación de batido de la pasta de aceitunas consiste en un removido lento y continuo de la misma que se efectúa en recipientes de acero inoxidable (batidoras) de forma semicilíndrica o semiesférica, provistos de un sistema de calentamiento apropiado. En este proceso el control de la temperatura es fundamental debido a las alteraciones que se pueden producir en el aceite a temperaturas superiores a 25°C que hacen que los componentes volátiles que contribuyen al aroma se pierdan o se degraden rápidamente. Se suelen usar coadyuvantes inocuos para facilitar la rotura de la emulsión y preparados enzimáticos complejos para disgregar la membrana.

D) EXTRACCIÓN

Es la etapa fundamental para la extracción del aceite y se basa en la separación de los líquidos contenidos en la pasta de aceituna. Actualmente se realiza por los sistemas de

extracción por presión (sistema tradicional) y extracción por centrifugación de pasta (sistema continuo) (Civantos et al., 1992).

Del proceso de centrifugación sólido/líquido se obtienen dos productos, un subproducto sólido y una fase sólida líquida oleosa que contiene el aceite mezclado con agua. La separación del aceite del agua se realiza por centrifugación líquido/líquido, obteniéndose el aceite de oliva virgen y un residuo líquido (Figura I.8).



D.1) Separación por presión

La extracción por presión es el procedimiento más antiguo y utilizado para obtener el aceite de oliva. El instrumental usado son prensas hidráulicas. La pasta procedente de la aceituna molida se coloca en capas finas sobre discos de material filtrante denominados capachos y se somete a presión. Los productos que se obtienen son una fase *líquida oleosa*, *orujo* y *alpechín*. La fase líquida oleosa no sólo contiene aceite sino que es una mezcla del mismo con el agua de vegetación que contiene el fruto. La extracción de un aceite de oliva virgen extra exige su separación del agua para lo cual se utilizan varios procedimientos entre los que destacan la decantación natural, la centrifugación o sistemas compuestos por combinación de ambos procesos. El esquema del proceso se recoge en la Figura I.8.

Este sistema permite obtener aceites excelentes gracias a las bajas temperaturas a lo largo del proceso. Sin embargo los principales inconvenientes para la aplicación práctica de este sistema son los elevados costes de mano de obra, la discontinuidad del proceso y los gastos inherentes al empleo de materiales filtrantes en condiciones óptimas. Actualmente estos sistemas han sido casi desplazados por los sistemas de centrifugación que mejoran los rendimientos y la productividad oleícola.

D.2) Sistema continuo por centrifugación

La extracción del aceite se realiza por la acción de la fuerza centrífuga recurriendo a máquinas que giran a gran velocidad denominadas decantadores. Los decantadores son centrifugadoras horizontales que permiten la separación sólido/líquido y consisten en un tambor cilindro-cónico que puede girar de 3.000 a 4.000 revoluciones por minuto y lleva en su interior un cuerpo hueco, de forma similar, con resalto helicoidal. Merced a una pequeña diferencia entre la velocidad de rotación del tambor y del tornillo sin fin (más rápido), la fase sólida sale por un extremo de la centrifugadora y el aceite y el agua por el opuesto. Existen dos sistemas de centrifugación de pastas:

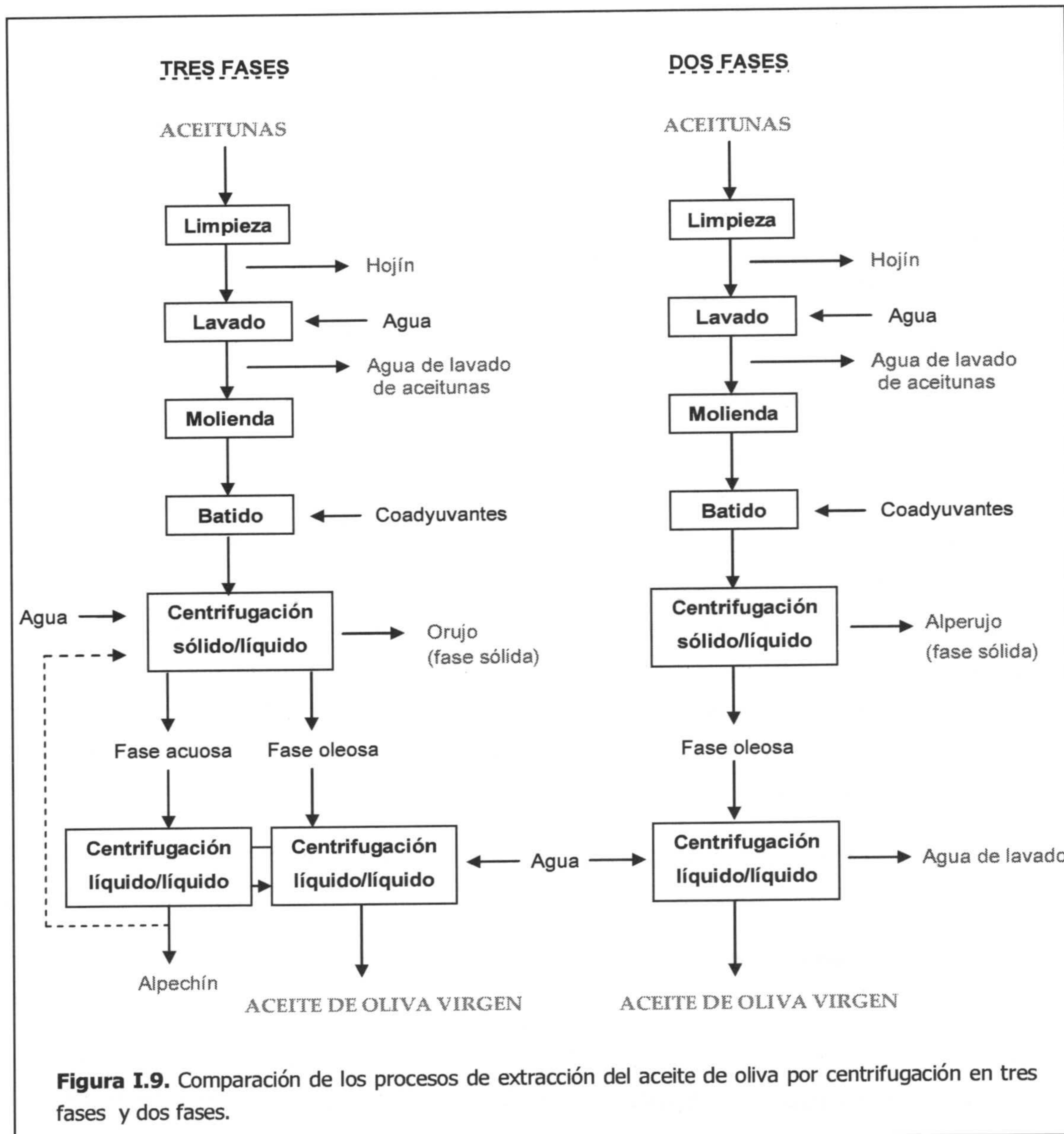
D.2.1) Sistema de tres fases.

Por efecto de la velocidad y mediante la adición de agua, el aceite y el agua se separan de la fase sólida (orujo). Los mostos oleosos obtenidos (aceite con poca agua y agua con poco aceite) son separados definitivamente en las centrifugadoras verticales de descarga automática (Figura I.9).

De este sistema salen dos productos con características muy distintas (Alba, 1998):

- ✦ ***Fase sólida u orujo***, es la pasta residual de la aceituna que queda después de haber sido centrifugada siendo su composición variable. Contiene cierta cantidad de aceite (3-4%) y presenta una humedad generalmente inferior al 50%.

➤ **Fase líquida acuosa o alpechín**, se trata de un residuo de color rojizo debido fundamentalmente a la presencia de pigmentos antociánicos. Esta fase líquida se degrada rápidamente por varios factores como son temperatura, sustancias orgánicas y reacciones enzimáticas, hasta convertirse en alpechín, con alta carga contaminante, valorada por la DQO (70 kg DQO t^{-1} de aceituna), cuyo vertido a los cauces públicos afecta negativamente el desarrollo biológico de la flora y fauna autóctonas (Alba et al., 1994, 1995). En términos generales se produce aproximadamente $1 \text{ m}^3 \text{ t}^{-1}$ de aceituna.



Los sistemas de tres fases tuvieron gran auge frente a los de presión por los siguientes motivos:

- Menor necesidad de mano de obra
- Mejor calidad del aceite, generalmente con menor acidez que el obtenido por los sistemas de presión.
- Aumento de la capacidad de producción de las industrias con operaciones automatizadas.
- El sistema continuo garantiza la perfecta higiene del proceso.
- No se emplean capachetas

Pero también presentan un gran inconveniente, como es la necesidad de un elevado aporte de agua caliente para la fluidificación, lo que trae consigo un aumento en el volumen de alpechín producido, que por su elevada carga contaminante genera una especial problemática medioambiental. Por otro lado, también se produce un mayor consumo de energía, debido a que el agua necesaria para conseguir la separación de las dos fases líquidas (aceite y agua de vegetación o alpechín) requiere más de 500 litros de agua caliente por tonelada de aceituna (Sequeiros et al., 1995).

D.2.2) Sistema de dos fases.

En la campaña oleícola 1991-1992 investigadores españoles de la firma Fuentes Cardona, S.A., asociados con especialistas de Westfalia Separador desarrollaron un nuevo decantador denominado de dos fases o dos salidas, que sin necesidad de fluidificar o reduciendo notablemente la cantidad de agua necesaria, permitía la separación del aceite de oliva con rendimientos similares a los obtenidos con el sistema de tres fases. Así se reducía notablemente el caudal de producción y contaminación de los efluentes. Además el aceite extraído presenta una mayor calidad y tiene una mayor capacidad antioxidante, ya que las sustancias fenólicas que posee protegen el aceite del ataque del oxígeno del aire impidiendo así su enranciamiento (Sequeiros et al., 1995, Uceda et al., 1995).

Los productos generados en la separación sólido/líquido por el sistema de dos fases son:

- ***Fase líquida oleosa***, que se introduce en las centrifugadoras verticales de descarga automática separándose el agua de lavado por un lado y el aceite de oliva virgen por otro.
- ***Fase semisólida o alperujo u orujo de dos fases***, residuo constituido por la parte sólida y el agua de vegetación de la aceituna procesada. Se caracteriza por tener un menor contenido en aceite (1-3%) que el orujo procedente de los sistemas

tradicionales y de tres fases y un mayor grado de humedad (55-60%) (Alba et al., 1992).

Un esquema de este sistema se presenta en la Figura II.9.

Otra ventaja de la centrifugación por dos fases es que se ha reducido el tiempo de almacenamiento de las aceitunas en las almazaras, con lo cual se han disminuido los problemas de atrojado que es el principal motivo de alteración en la calidad del aceite de oliva. Además se ha producido un aumento en la capacidad de elaboración que ha pasado de 26.000 t 8h⁻¹ a 50.000 t 8h⁻¹ (Uceda et al., 1995).

Desde un punto de vista ambiental, el sistema de dos fases reduce el volumen de vertidos (hasta un 75%) y evita la producción de alpechín (García Ortiz y Frías Ruíz, 1994,). Otros factores a tener en cuenta son el ahorro de energía (hasta un 20%), ya que no es necesario calentar el agua para la separación de las fases, y el menor consumo de agua (hasta 1 m³ t⁻¹ de aceite) (Sequeiros et al., 1995).

Por estas razones, el sistema de dos fases se ha generalizado desde que se implantó en la campaña 91-92 en todos los países productores de aceite de oliva. Así, en España casi un 90% de la extracción del aceite de oliva se lleva a cabo por el sistema de dos fases, el 7% mediante el sistema de tres fases y el 3% restante por medio de las prensas tradicionales.

Entre las desventajas de este sistema están una considerable disminución de la capacidad de centrifugación requerida, una reducción de aproximadamente el 7% de la cantidad y calidad del aceite de oliva y la generación de un residuo, alperujo, con mayor contenido en humedad lo que dificulta los posibles tratamientos posteriores (Vlyssides et al., 2004).

2.4. RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL OLIVAR

La elaboración del aceite de oliva conlleva obligatoriamente la generación de diferentes residuos y/o subproductos sólidos y líquidos que contienen determinadas cantidades de aceite debido a que con los sistemas existentes no se consigue su completa extracción. Vlyssides et al. (2004) establecen que por cada 1000 kg de aceite de oliva se producen sobre 1560 kg de residuos orgánicos. A continuación se describen brevemente estos residuos y/o subproductos, su problemática y su posible uso.

2.4.1 RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS LÍQUIDOS

Dentro de este grupo se incluyen las aguas de lavado de aceitunas, los alpechines, las aguas de lavado del aceite y las aguas de limpieza general de la almazara.

Las **aguas de lavado de aceitunas, de lavado de aceite y de limpieza de almazaras** pueden ser utilizadas en riego, aunque para ello deben ajustarse en su composición a una serie de valores (pH entre 6 y 9, sólidos en suspensión $\leq 600 \text{ mg kg}^{-1}$, DBO $\leq 2000 \text{ mg kg}^{-1}$ y DQO $\leq 2500 \text{ mg kg}^{-1}$) y cumplir el requisito de aviso previo y una limitación al esparcimiento en el terreno de $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ cada siete días.

Generalmente, las aguas de lavado de aceitunas y de limpieza de almazaras están por debajo de los valores de referencia de los parámetros de control establecidos a diferencia de las aguas de lavado del aceite que superan los valores de referencia (Martínez Nieto et al., 2005). La oxidación química de las aguas de lavado del aceite con diferentes oxidantes (permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno en presencia de sales ferrosas) permiten reducir la DQO de este residuo, la salinidad y el contenido en polifenoles así como equilibrar el pH (Martínez Nieto y col, 2005).

Los **alpechines** presentan una elevada carga contaminante y su eliminación siempre ha constituido un grave problema medioambiental. En los sistemas tradicionales se produce una relación aproximada de 0,5 L de alpechín por cada kg de aceituna. En los sistemas continuos de tres fases la relación aumenta a $1,5 \text{ L kg}^{-1}$. Vlyssides et al. (2004) establecen que por 1kg de aceite de oliva se producen 7,5 kg de alpechín que contienen 0,7 kg DQO, 0,08 kg de compuestos fenólicos, 0,5 kg de emisiones gaseosas y 1,26 kg de residuos sólidos. El alto contenido en compuestos fenólicos y DBO₅ de estos residuos, así como la alta relación DQO/DBO (2,05-2,35) indican que este tipo de efluentes no son aptos para un tratamiento biológico.

2.4.2 RESIDUOS Y/O SUBPRODUCTOS SÓLIDOS

Dentro de este grupo se incluyen el hojín, los orujos procedentes de los sistemas de extracción de aceite de oliva por prensa o por centrifugación de tres fases y los orujos húmedos o alperujos procedentes del sistema de centrifugación de dos fases.

El **hojín** se genera durante la limpieza de las aceitunas en las almazaras. Puede ser utilizado en alimentación animal o como materiales estructurantes en procesos de compostaje y vermicompostaje. También se puede aplicar en los olivares para reducir la pérdida de humedad del suelo y proteger los suelos de la erosión y compactación.

El **orujo** es un residuo sólido formado por fragmentos de piel, pulpa y hueso de la aceituna. Tradicionalmente estos residuos han sido transportados a las orujeras donde son sometidos a una extracción con solventes (generalmente hexano) con objeto de extraer el denominado "aceite de orujo". Tras este proceso se genera un nuevo residuo denominado orujo seco y extractado u orujillo que ha sido usado como combustible en las propias orujeras.

El **alperujo** presenta un contenido en humedad muy superior al de los orujos lo que lo hace inapropiado para la extracción con hexano. Dado que el alperujo es uno de los materiales

usados en esta tesis sus características, problemática y posibilidades de uso se describen con más profundidad en el apartado siguiente.

En la Tabla I.3 se recoge la comparación realizada por Vlyssides et al. (2004), entre las características fisico-químicas y composicionales de los residuos sólidos obtenidos por los sistemas de presión, centrifugación en tres fases y centrifugación en dos fases.

Tabla I.3. Características de los residuos sólidos producidos en los diferentes procesos de extracción del aceite de oliva (Vlyssides y col., 2004).

	ORUJO		ALPERUJO
	PRESIÓN	3 FASES	2 FASES
Humedad (%)	27,2 ± 1,05	50,23 ± 1,23	56,80 ± 2,19
Grasas y aceites (%)	8,72 ± 3,25	3,89 ± 1,45	4,65 ± 1,74
Proteínas (%)	4,77 ± 0,02	3,43 ± 0,02	2,87 ± 0,01
Azúcares totales (%)	1,38 ± 0,02	0,99 ± 0,01	0,83 ± 0,01
Celulosa (%)	24,10 ± 0,28	17,37 ± 0,20	14,54 ± 0,17
Hemicelulosa (%)	11,00 ± 0,61	7,92 ± 0,44	6,63 ± 0,37
Cenizas (%)	2,36 ± 0,14	1,70 ± 0,10	1,42 ± 0,09
Lignina (%)	14,10 ± 0,29	10,21 ± 0,21	8,54 ± 0,18
NKT (%)	0,71 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,43 ± 0,01
Fósforo como P₂O₅ (%)	0,07 ± 0,005	0,05 ± 0,004	0,04 ± 0,003
Compuestos fenólicos (%)	1,14 ± 0,06	0,33 ± 0,03	2,43 ± 0,15
Potasio como K₂O (%)	0,54 ± 0,45	0,39 ± 0,03	0,32 ± 0,03
Calcio como CaO (%)	0,61 ± 0,06	0,44 ± 0,04	0,37 ± 0,04
COT (%)	42,9 ± 3,42	29,03 ± 2,32	25,37 ± 2,02
C/N	60,7 ± 5,35	57,17 ± 5,33	59,68 ± 5,25
C/P	588,70 ± 51,25	552,90 ± 48,20	577,20 ± 50,31

NKT: nitrógeno Kjendahl total; COT: carbono orgánico total.

2.5. CARACTERÍSTICAS, PROBLEMÁTICA Y POSIBLES USOS DEL ALPERUJO

Las principales características físico-químicas del alperujo así como sus principales componentes se recogen en las Tablas I.3 y I.4, respectivamente, donde se muestran los rangos de variación de estos parámetros obtenidos por Albuquerque et al., (2004) en un estudio con veinte muestras de alperujo de diferentes provincias españolas durante tres campañas sucesivas en el periodo 1997-2000. Estos resultados muestran que el alperujo tiene un contenido en humedad superior al 56%, lo que junto con su pequeño tamaño de partícula lo convierte en un material poco poroso, plástico y susceptible de compactación. Estas características dificultan y encarecen su almacenamiento y transporte. Su pH es ligeramente ácido (valor medio 5,32, Tabla I.4).

Tabla I.4. Principales características físico-químicas del alperujo (Albuquerque y col., 2004).

	Media	Rango	CV (%)
Humedad (% peso fresco)	64,0	55,6 - 74,5	7,6
pH^a	5,32	4,86 - 6,45	6,6
EC^a (dS m⁻¹)	3,42	0,88 - 4,76	33,9
Cenizas (g kg⁻¹)	67,4	24,0 - 151,1	42,5
COT (g kg⁻¹)	519,8	495,0 - 539,2	2,8
C/N	47,8	28,2 - 72,9	22,1
NT (g kg⁻¹)	11,4	7,0 - 18,4	24,5
P (g kg⁻¹)	1,2	0,7 - 2,2	29,7
K (g kg⁻¹)	19,8	7,7 - 29,7	34,2
Ca (g kg⁻¹)	4,5	1,7 - 9,2	57,3
Mg (g kg⁻¹)	1,7	0,7 - 3,8	58,7
Na (g kg⁻¹)	0,8	0,5 - 1,6	36,6
Fe (mg kg⁻¹)	614,0	78,0 - 1462,0	74,9
Cu (mg kg⁻¹)	17,0	12,0 - 29,0	28,8
Mn (mg kg⁻¹)	16,0	5,0 - 39,0	70,2
Zn (mg kg⁻¹)	21,0	10,0 - 37,0	36,3

C.V: coeficiente de variación; ^aextracto en agua 1:10.

Como era de esperar, el alperujo es especialmente rico en K (Tabla I.4), lo cual es una característica común en los residuos y subproductos de la industria olivarera. Sin embargo presenta poco contenido en P, Ca y Mg comparado con los residuos sólidos urbanos y con los lodos de depuradora, aunque similar al de otros residuos vegetales y estiércoles (Cegarra et al., 1993, Pascual et al., 1997). Su contenido en N, principalmente orgánico, es relativamente bajo comparado con otros residuos. El principal micronutriente del alperujo es el Fe (Tabla I.4). Excepto en el caso del K, generalmente las concentraciones de macro y micronutrientes en el alperujo son bajas en comparación con otros materiales empleados como fertilizantes o enmendantes del suelo, al contrario de lo que ocurre con el contenido en m.o. y el contenido en carbono orgánico total que presentan valores (Tabla I.4) superiores a los de otros residuos orgánicos.

Los principales constituyentes orgánicos del alperujo son lignina, celulosa y hemicelulosa (Tabla I.5). Lynch (1993) observa que un alto contenido en lignina y un alto grado de unión de este componente a los constituyentes orgánicos en el material lignocelulósico puede dificultar la capacidad de los microorganismos y sus enzimas para degradar el alperujo.

Otros constituyentes orgánicos importantes son las grasas, los carbohidratos hidrosolubles y las proteínas. Los dos primeros pueden actuar como sustrato para el crecimiento inicial de microorganismos durante el compostaje del alperujo. Mientras que el último apenas está disponible debido a su unión con la fracción lignocelulósica (Valiente et al., 1995; Molina Alcalde et al., 2001).

Tabla I.5. Principales componentes de la fracción orgánica del alperujo (g kg^{-1} de muestra seca) (Alburquerque y col., 2004).

	Media	Rango	CV (%)
Materia orgánica total	932,6	848,9 - 976,0	3,1
Lignina	426,3 [45,8]	323,0 - 556,5	16,0
Hemicelulosa	350,8 [37,7]	273,0 - 415,8	12,7
Celulosa	193,6 [20,8]	140,2 - 249,0	14,8
Grasas	121,0 [13,0]	77,5 - 194,6	28,9
Proteínas	71,5 [7,7]	43,8 - 115,0	24,5
Carbohidratos solubles	95,8 [10,1]	12,9 - 164,0	50,0
Fenoles solubles	14,2 [1,5]	6,2 - 23,9	41,0

C.V: coeficiente de variación; Los datos entre corchetes representan el porcentaje de cada componente respecto al contenido de materia orgánica total.

El contenido en sustancias fenólicas y la fracción lipídica del alperujo han sido relacionadas con su efecto fitotóxico y antimicrobiano.

La consistencia del alperujo junto con su contenido en azúcares, sólidos finos, ácidos grasos y otras sustancias disueltas, que antes se eliminaban con el alpechín (García-Ortíz y Frías, 1995), dificultan su manipulación en la industria orujera.

Se puede estimar que en la campaña 2003 se generaron más de 5×10^3 t de alperujo. Dar una salida a esta enorme masa supone un coste creciente para las almazaras. Sin embargo, por sus propiedades el alperujo constituye una excelente fuente potencial de m.o. y nutrientes, que podría servir para regenerar los suelos agrícolas, que se están viendo progresivamente empobrecidos por cultivos intensivos sin que se apliquen los retornos adecuados de biomasa vegetal (Albiach et al., 2001). Sin embargo, la aplicación directa de este producto al suelo debería prohibirse debido a su potencial fitotóxico, por lo que debe ser valorizada mediante su uso en otras propuestas, entre las que cabe destacar: a) el aprovechamiento del alperujo (y orujos) como fuente de proteínas para alimentación animal (Martín et al., 2003; Molina et al., 2003); b) la separación de los componentes del alperujo en pulpa y piel, huesos triturados de aceituna y alpechín concentrado. Los huesos pueden ser usados para la obtención de carbón activo. Mientras que de la pulpa y piel y el alpechín se están investigando como materiales para otros usos; c) obtención de energía.

Pese a los avances conseguidos en los últimos años, la gran generación de alperujo y su previsible aumento en los próximos años exigen la búsqueda de más soluciones que permitan su completa valorización y eviten su abandono. Una posible vía sería su uso en agricultura para lo cual este subproducto debe ser previamente estabilizado y biotransformado con objeto de obtener enmiendas orgánicas estables, que eviten los efectos nocivos sobre el suelo y los cultivos vegetales que el alperujo puede generar (Nogales et al., 1998). Entre otros tratamientos de estabilización tienen un gran interés aquéllos de bajo coste como es el caso del compostaje (Cegarra et al., 2000; Sánchez y Pajarón, 2000) y vermicompostaje (Benítez et al., 2002).

2.6. COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE

Los agricultores desde tiempos ancestrales, han reconocido los importantes beneficios de la m.o. del suelo en la producción de cultivos, entre los que destacamos (Stevenson, 1982, MacCarthy et al., 1990):

- ✓ Aporta N, P y S para la nutrición de las plantas y el crecimiento microbiano.
- ✓ Ayuda a mantener el régimen de agua del suelo debido a su gran capacidad de almacenamiento de agua.

- ✓ Actúa como un sistema tamponador frente a los cambios de pH del suelo y permite la formación de complejos y quelatos con metales, óxidos metálicos, hidróxidos y arcillas.
- ✓ Su color oscuro contribuye a la adsorción de la energía solar con el consiguiente calentamiento del suelo.
- ✓ Actúa como un cemento entre las partículas de arcilla lo que favorece la estabilidad de los agregados del suelo y su resistencia contra la erosión.
- ✓ Favorece la aireación del suelo y la resistencia al encostramiento.
- ✓ Retiene y moviliza, en formas asimilables, los cationes imprescindibles para las plantas, generando unas condiciones adecuadas para su crecimiento.
- ✓ Debido a sus propiedades de intercambio catiónico, la m.o. es capaz de disminuir la concentración de sales e iones tóxicos en la solución del suelo, contribuyendo a prevenir problemas de toxicidad en plantas (Müller-Wegener, 1988)
- ✓ Estimula la actividad biológica, proporcionando energía y nutrientes para la flora y fauna del suelo.

La m.o. de los suelos sufre importantes cambios debido a la actividad humana. Generalmente, la m.o. de un suelo disminuye cuando éste es cultivado.

Investigaciones anteriores muestran que la pérdida de N y m.o. de un suelo es grande bajo cultivos sucesivos y continuados en el tiempo. La disminución del contenido en N y m.o. de un suelo de cultivo se puede atribuir a dos causas fundamentales, la reducción en la cantidad de residuos vegetales disponibles para la síntesis de humus y la estimulación de la actividad biológica debido a la mejora de la aireación del suelo y a la exposición de m.o. que previamente no era accesible al ataque microbiológico (Stevenson, 1982).

Resultados de numerosos estudios ponen de manifiesto que para la mayoría de los suelos agrícolas, la m.o. sólo puede ser mantenida a altos niveles por la inclusión de una cubierta herbácea en la secuencia de cultivo o por la adición de grandes cantidades de residuos orgánicos.

La aplicación a suelos agrícolas de residuos procedentes de actividades agrícolas, ganaderas, municipales e industriales constituye una práctica habitual en agricultura. Sin embargo, la aplicación directa de estos residuos puede tener consecuencias ambientales negativas debido a su contenido en patógenos, metales pesados, sales solubles y otros compuestos contaminantes.

En el caso concreto del alperujo existen estudios que demuestran un efecto negativo de este producto sobre la estabilidad estructural del suelo (Golod, 1968; Tejada et al., 1997), la germinación de las semillas (Pare et al., 1997), el crecimiento de las plantas (Solbraa, 1979) y la actividad microbiológica. González et al. (1990) y Riffaldi et al. (1993) atribuyen los efectos

fitotóxicos y antimicrobiológicos del alperujo a su contenido en fenoles, ácidos grasos y ácidos orgánicos.

Los procesos de compostaje y vermicompostaje son considerados una buena herramienta para la estabilización de los residuos orgánicos y la humificación parcial de la m.o., mediante la transformación biológica de compuestos orgánicos fácilmente degradables a otros menos reactivos o menos sujetos a descomposición biológica sin poder fitotóxico.

2.6.1. COMPOSTAJE

Baca et al. (1992) definen el **compostaje** como el "proceso por el que la m.o. fresca es parcialmente oxidada y los compuestos lábiles transformados en un material biológicamente estable enriquecido en sustancias húmicas".

Durante el proceso de compostaje, el sustrato orgánico heterogéneo evoluciona a través de 3 fases principales:

a) Fase inicial, en la que se degradan los compuestos fácilmente degradables

b) Fase termofílica, durante la cual materiales celulósicos y similares se degradan gracias a la alta actividad biooxidativa de los microorganismos con producción de CO₂, H₂O y especies inorgánicas, liberación de fitotoxinas, destrucción de patógenos animales y vegetales y mantenimiento de los compuestos orgánicos originales más estables.

c) Fase de maduración y estabilización, caracterizada por un descenso de la temperatura, una disminución de la tasa de descomposición y una recolonización de la masa por microorganismos mesofílicos que conducen a una m.o. estabilizada de naturaleza de la de los AHs.

2.6.2. VERMICOMPOSTAJE

El vermicompostaje es un proceso de biooxidación y estabilización de la m.o. mediada por la acción combinada de lombrices y microorganismos, mediante el cual se obtiene un producto denominado vermicompost. Esta práctica de biotransformación aprovecha varias de las ventajas derivadas de la actividad de ciertas especies epigeas de lombrices, las cuales aceleran la descomposición y humificación de la m.o. (Edwards y Lofty, 1972; Riffaldi y Levi-Minzi, 1983), ya sea de un modo directo (alimentación detritívora y desplazamiento a través de galerías) o indirecto (estímulo de la actividad microbiana). Por otro lado, mejoran la estructura del producto final, al provocar la ruptura de los materiales orgánicos, reduciendo su tamaño de partículas y favoreciendo la formación de agregados estables (Hartenstein, 1986; Elvira et al., 1998). Además la actividad de estos detritívoros aumenta el contenido de nutrientes, convirtiéndolos a través de la actividad microbiana, en formas solubles y asimilables por los

cultivos (Edwards y Burrows, 1988; Elvira et al., 1998). Asimismo, mediante este proceso se favorece la producción de sustancias que pueden actuar con acción fitohormonal sobre las plantas (Tomati et al., 1987). Por último, el proceso de vermicompostaje posibilita la explotación de las lombrices como fuente proteica para consumo animal (Sabine, 1988).

2.6.3. BENEFICIOS Y EFECTOS ADVERSOS DEL EMPLEO DE COMPOST Y VERMICOMPOST

El compostaje y vermicompostaje se han empleado para la biodegradación de un gran número de residuos orgánicos, debido fundamentalmente a la necesidad cada vez mayor de eliminar la gran cantidad de residuos que diariamente se generan en todo tipo de actividades de la sociedad. Se trata de tecnologías limpias, sin impacto ambiental y cuyos costes de inversión, energéticos y de mantenimiento son moderadamente bajos.

Entre los efectos positivos que el compost y vermicompost ejercen sobre el suelo y la planta caben destacar:

1. La presencia en los composts y vermicomposts de elevados contenidos en m.o. (entre 20-60%), parte de la cual se encuentra parcialmente humificada y el carácter coloidal de estos materiales y su baja densidad que influyen positivamente sobre las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo provocando los siguientes efectos:

- Mejoran la estructura del medio edáfico, al aumentar la formación y estabilidad de los agregados del suelo, permitiendo una mayor resistencia a los procesos de erosión.
- Reducen la densidad aparente y aumentan el tamaño de los poros del suelo, lo que favorece la penetración de agua y la permeabilidad del aire, estimulando de esta forma el crecimiento del sistema radicular en plantas.
- Aumentan la capacidad de retención de agua, favoreciendo la resistencia de los suelos a los periodos de sequía.
- Aumentan la capacidad de intercambio catiónico del suelo.
- Favorecen un aumento del pH en los suelos ácidos y una disminución del mismo en los suelos alcalinos. La capacidad tampón de los compost y vermicompost impide por una parte la movilización de metales pesados en suelos ácidos y por otro, aumenta la asimilación de nutrientes en suelos alcalinos.
- Aumentan los niveles de m.o. total y humificada del suelo, lo que favorece el incremento de su actividad biológica, debido al aumento del número de microorganismos (totales y funcionales) y de la actividad enzimática.
- Las sustancias húmicas afectan a la permeabilidad de membrana, facilitando el transporte de elementos esenciales dentro de la raíz mediante la activación de proteínas carrier.

Asimismo, las moléculas húmicas del terreno crean un microambiente idóneo para la proliferación de numerosos microorganismos, ya que contribuyen a sostener energéticamente el sistema, filtrando y neutralizando las sustancias tóxicas.

2. Los composts y vermicomposts de residuos orgánicos contienen nutrientes a concentraciones variables. Por lo general, estos materiales presentan niveles de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, respectivamente 5, 7, 11, 1,5 y 3 veces superiores a los registrados en suelos de cultivo. Y por tanto su aplicación al suelo aumenta los niveles totales y asimilables de estos elementos en el medio edáfico lo que se traduce en un aumento de los mimos en los cultivos.

3. Los composts y vermicomposts pueden presentar concentraciones elevadas de micronutrientes esenciales para la planta (Fe, Mn, Cu, Zn, B), por lo que su aplicación agronómica produce aumentos de éstos tanto en el suelo como en la planta.

4. También presentan sustancias con carácter fitohormonal, como giberelinas, citoquininas y auxinas, de esta manera estimulan el crecimiento de los cultivos.

5. Otra característica de los composts y vermicomposts es su elevada capacidad para fijar metales pesados no esenciales para la planta. Esto evita la posible entrada de los mismos en la cadena trófica (vía planta) y la aparición de toxicidad en el medio.

Por los efectos anteriormente indicados, los composts y vermicomposts de residuos orgánicos se emplean en agricultura para aumentar el rendimiento de las cosechas. A pesar de que este es su uso más frecuente también pueden usarse para biorremediar el suelo contaminado con ciertos compuestos orgánicos, tales como explosivos (William y Keehan, 1993), residuos industriales (Mays et al., 1989), hidrocarburos del petróleo y xenobióticos (Zbytniewski y Buszewski, 2002; Antonious et al., 2005), entre otros. El uso de estas enmiendas orgánicas para modificar el comportamiento de plaguicidas en suelo constituye un objetivo del presente estudio.

A continuación se expone un breve resumen de la bibliografía consultada relativa a los efectos positivos del compost y vermicompost explicados en los párrafos anteriores: (Muller y Gooch, 1982, Hoitink y Kuter, 1984; Giusquinai et al., 1988; Phae et al., 1990; He et al., 1992; Woodbury, 1992; Ozores-Hampton et al. 1994; Stratton et al., 1995; González et al., 1996).

La aplicación de los composts y vermicomposts al suelo puede presentar efectos adversos como:

1. Efectos sobre la calidad del agua y el aire debido a la mineralización del N de compost y vermicompost a NO_3^- y la lixiviación de los nitratos hacia las aguas subterráneas.

2. También la aplicación continuada de compost y vermicompost al suelo puede contaminarlo con metales pesados como Zn, Ni y Cd, que pueden alcanzar la capa freática (Fiskell y Pritchett, 1980).

3. La presencia de polvo orgánico que contiene actinomicetos, bacterias, hongos, artrópodos y protozoos, puede afectar negativamente la calidad del aire que puede ser inhalado y provocar desórdenes del aparato respiratorio en algunas personas (Richerson, 1994; Millner et al., 1994).

4. La posible presencia de metales y contaminantes orgánicos (pesticidas, HPA, BPC, etc) en el compost y vermicompost ha dado como resultado mayores concentraciones de Cu, Pb y Zn en suelos tratados, metales que pueden ser fitotóxicos o acumularse en alimentos o en plantas (Chaney, 1980; Ozores-Hampton et al., 2005).

5. También se pueden provocar efectos adversos en el suelo y las cosechas (Hunt et al. 1973; Sabey y Hart, 1975). Uno de los aspectos más estudiados son la inmadurez del compost y vermicompost y sus efectos supresivos sobre el crecimiento vegetal como consecuencia de la liberación de sustancias fitotóxicas; de la inmovilización de N asimilable del suelo, lo que provoca deficiencias del mismo en la planta (Duggan y Wiles, 1976); de la disminución del oxígeno del suelo, con la consiguiente creación de condiciones reductoras en el medio edáfico que pueden desembocar en un aumento de la asimilación de metales pesados por parte de la planta (Cottenie, 1981).

6. Un último efecto se refiere a la salinización de los suelos adicionados con compost o vermicompost (Gallardo-Lara y Nogales, 1987; Bevacqua y Mellano, 1993), aunque estas sales lixivian fácilmente (Chong et al., 1991 a y b).

Debido a estos posibles efectos, existen en la legislación española normativas que especifican los contenidos mínimos de principios activos, nutrientes y elementos pesados exigidos en los composts (Normativa del Reino de España, 1998 y 1999) (Tabla I.6). En el caso de los vermicomposts no existe normativa que los regule. Para obviar esta deficiencia, en España se utilizan las normativas aplicables a los composts.

La mayoría de los efectos adversos pueden atribuirse a un manejo o control pobre del proceso de compostaje, a una mala elección de la zona de compostaje, a la aplicación de composts inmaduros y a la sobreaplicación de composts.

Tabla I.6. Contenidos mínimos en principios activos exigibles en compost para uso agrícola (Orden Ministerial del 2 de junio de 1998 y del 2 de noviembre de 1999 sobre fertilizantes y afines).

N orgánico	> 1%
Materia orgánica total	> 25%
Humedad	< 40%
P ₂ O ₅ (recomendado)	> 1%
K ₂ O (recomendado)	> 1%
<i>E. coli</i>	< 1000 NMP g ⁻¹ compost
<i>Salmonella</i>	Ausente en 25 g de compost
El 90% de las partículas pasarán por malla de 25 mm.	

2.6.4. MADUREZ DEL COMPOST Y VERMICOMPOST

La madurez de los composts y vermicomposts obtenidos a partir de residuos orgánicos se define como el grado de estabilidad de estos materiales en función de sus propiedades físicas, químicas y biológicas (He et al., 1992). La madurez constituye un importante factor a considerar, antes de la aplicación agrícola de estos materiales, con objeto de evitar efectos adversos sobre el suelo y la planta, como los descritos anteriormente, así como un impacto negativo sobre el medio ambiente agrícola (Nogales et al., 1995).

La madurez del compost y vermicompost está relacionada con su contenido en ácidos húmicos (Tiquia, 2005). Los ácidos húmicos se generan normalmente en el último estadio del compostaje o vermicompostaje (Veeken et al., 2000), que requiere de varias semanas a unos cuantos meses. Se trata de componentes del suelo extremadamente importantes porque constituyen una fracción estable de carbono, regulando así el ciclo de carbono y la liberación de nutrientes, que incluye entre otros N, P y S (Stevenson, 1982). Además la presencia de sustancias húmicas mejora la capacidad de retención de agua y el tamponamiento del pH y estimula las actividades de la microflora y la microfauna.

Durante el compostaje se produce un marcado incremento en grupos fenólicos, carboxílicos y carbonílicos en los ácidos húmicos (Sánchez Monedero et al., 2002). Chen et al. (1996) encontraron que la fracción de ácidos húmicos extraída de un compost maduro contenía más estructuras aromáticas y grupos carboxílicos y menos carbohidratos que la de un compost inmaduro.

En general, los ácidos fúlvicos predominan sobre los húmicos en compost inmaduros. Como consecuencia del proceso de descomposición la fracción de ácidos fúlvicos decrece mientras que se producen ácidos húmicos.

Establecer la cuantía de la estabilización en el compost y vermicompost es tarea difícil, si se toma en consideración la comprensión incompleta de los parámetros que pueden indicar el grado de humificación. La mayor parte de los criterios usados para evaluar el proceso de compostaje y la estabilidad del compost (madurez) y del vermicompost se basan en parámetros físicos y químicos del material orgánico, cuyo comportamiento refleja la actividad metabólica de los microorganismos implicados en el proceso de compostaje y vermicompostaje (Tiquia, 2005). Entre estos parámetros se pueden destacar una disminución de la temperatura del compost y vermicompost (Flynn y Wood, 1996), el grado de capacidad de autocalentamiento (Rynk et al. 1992), consumo de oxígeno (Tiquia et al., 1996), ensayos de fototoxicidad (Contreras-Ramos et al., 2004), capacidad de intercambio catiónico (Harada e Inoko, 1980), contenidos en MO y nutrientes (Ait-Baddi et al., 2004), proporción C/N (Grigatti et al., 2004; Kaushik y Grag, 2004) y actividades enzimáticas (Tiquia et al., 2005). Sin embargo, los más fiables se basan en la separación de la MO lábil (no humificada) y la MO estabilizada (ácidos húmicos y fúlvicos) (Tomati et al., 1995). En este sentido, se han propuesto parámetros como la relación ácidos húmicos (AH)/ ácidos fúlvicos (AF) (C_{AH}/C_{AF}), el índice de humificación (C_{AH}/C_{org}), el porcentaje de ácidos húmicos ($C_{AH}/C_{hum} \times 100$) y la tasa de humificación ($C_{hum}/C_{org} \times 100$), entre otros (Senesi, 1989,203).





CAPÍTULO II

HERBICIDAS Y SUSTRATOS



1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo se planteó con siete herbidas pertenecientes a dos familias diferentes: sulfonilureas y triazinas. La elección de los herbidas está basada fundamentalmente en dos motivos:

- Su amplio uso a nivel mundial y más concretamente en la provincia de Granada. En la zona agrícola de estudio los herbidas triazínicos se usan en el cultivo del olivar y los sulfonilureicos en el cultivo de cereales.
- su potencial para lixiviar hacia aguas subterráneas.

Para el estudio del comportamiento de los herbidas en suelo se usaron dos suelos agrícolas distintos, uno para cada familia de herbidas, en función del uso agrícola de cada uno de ellos. Los suelos pertenecen a dos localizaciones de la Vega de Granada (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. 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). Hay en ella, en la actualidad, una treintena de poblaciones, incluida Granada capital, en las que se concentra una población estable de 400.000 habitantes. Alrededor de 40.000 personas dependen exclusivamente del abastecimiento de aguas subterráneas, y existe una intensa explotación agrícola que abarca una superficie de regadío de más de 15.000 ha. 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.

El acuífero detrítico de la Vega de Granada cuenta con unos recursos hídricos de 18000 $\text{hm}^3 \text{ ha}^{-1}$ y unas reservas explotables de 1000 hm^3 . 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.

Para modificar el comportamiento de los herbidas elegidos en los suelos de la Vega de Granada, éstos se enmendaron con tres subproductos de la agroindustria del olivar: alperujo, compost y vermicompost de alperujo a distintas dosis y tiempos de incubación. Con la aplicación de estos productos se pretende favorecer la adsorción y degradación de los herbidas triazínicos y sulfonilureicos en el suelo y disminuir el riesgo de contaminación de las aguas del acuífero de la Vega.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. HERBICIDAS

2.1.1. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LOS HERBICIDAS

Se emplearon siete herbicidas pertenecientes a dos familias distintas, sulfonilureas y triazinas.

2.1.1.a) TRIAZINAS

Los herbicidas triazínicos constituyen un amplio grupo de sustancias mayoritariamente usadas en la agricultura. Según Pacáková et al. (1996), representan el 30% del empleo agrícola de herbicidas. Esta familia de plaguicidas es usada frecuentemente en el cultivo del olivo, que constituye el 11% de la superficie agrícola de España (<http://www.mapya.es>). Son muy estables químicamente por lo que su persistencia en suelo, agua, plantas y animales es considerable, desde varios meses hasta varios años en el caso de los productos de degradación de estos compuestos, a menudo, más tóxicos. Numerosos episodios de contaminación de aguas subterráneas por esta familia de herbicidas se han producido a lo largo del tiempo en diferentes lugares del mundo (Ritter, 1990; SKark y Zulleiseibert, 1995- en 118; poner más referencias). En Andalucía, y más concretamente en las provincias de Córdoba y Jaén, se viene detectando, año tras año, la presencia de herbicidas triazínicos (simazina, terbutilazina y diuron) (El País, 2004, Ideal, 2005, Ideal, 2006).

Los herbicidas triazínicos estudiados son:

- ↻ **Terbutilazina**, $N_9H_{16}ClN$ (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 99,3%, nomenclatura según la IUPAC: *N*²-*tert*-butil-6-cloro-*N*⁴-etil-1,3,5-triazina-2,4-diamina.
- ↻ **Prometrina**, $N_{10}H_{19}N_5S$ (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 100%, nomenclatura según la IUPAC: *N*²,*N*⁴-di-isopropil-6-metiltio-1,3,5-triazina-2,4-diamina.
- ↻ **Simazina**, $C_7H_{12}ClN_5$ (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 100%, nomenclatura según la IUPAC: 6-cloro-*N*²,*N*⁴-dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina.
- ↻ **Cianazina**, $C_9H_{13}ClN_6$ (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 97,7%, nomenclatura según la IUPAC: 2-(4-cloro-6-etilamino-1,3,5-triazin-2-ilamino)-2-metil propionitrilo.

En la Tabla II-1 se recogen las características más relevantes de estos herbicidas.

Tabla II.1. Características más relevantes de los herbicidas triazínicos estudiados (Tomlin, 2003).

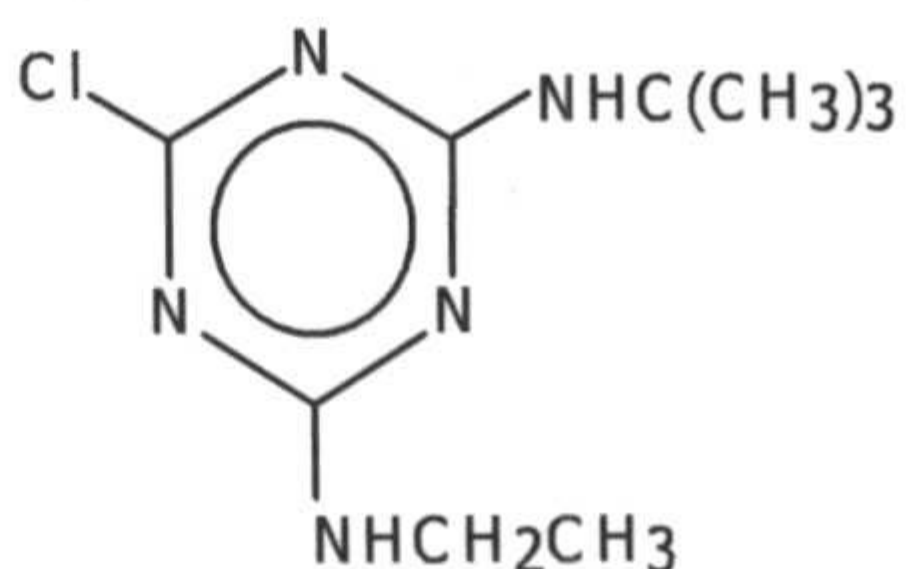
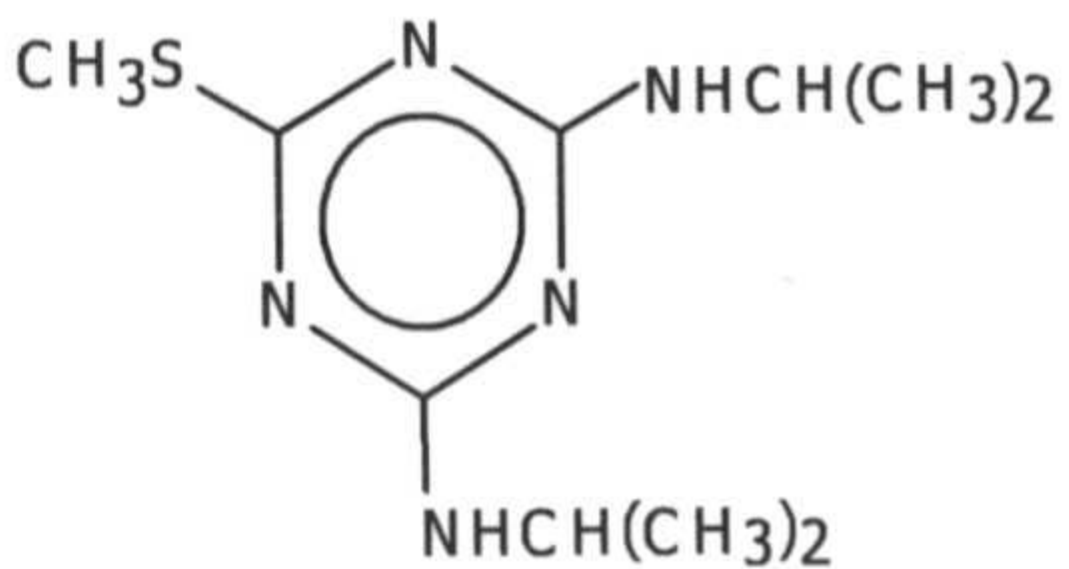
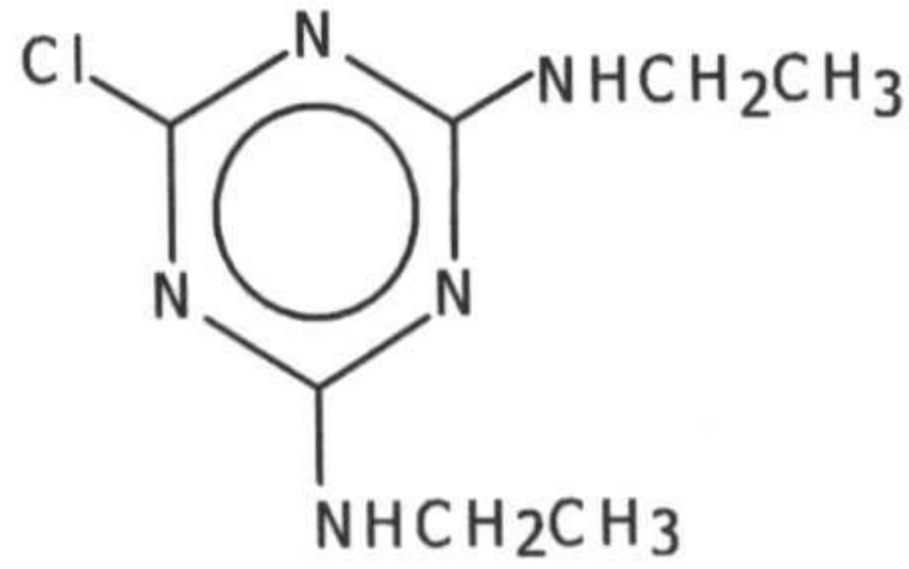
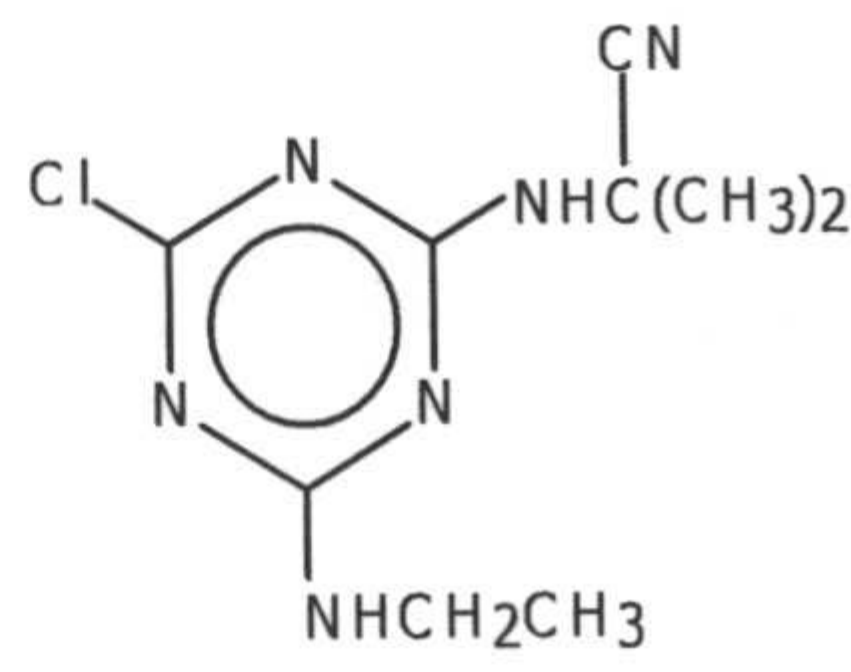
	TERBUTILAZINA (Tz)	PROMETRINA (Pr)	SIMAZINA (Sz)	CIANAZINA (Cz)
ESTRUCTURA QUÍMICA				
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS				
P_m	229,7	241,4	201,7	240,7
P_f (°C)	177-179	118-120	225-227	167,5-169
P_v (mPa) (25 °C)	15 x 10 ⁻²	16,5 x 10 ⁻²	29,4 x 10 ⁻⁴	2 x 10 ⁻⁴
K_{ow} (25 °C)	3,21	3,1	2,1	-2,1
Solubilidad en agua (pH 7) (20 °C) (mg L⁻¹)	8,5	33 (25 °C)	6,2	171 (25 °C)
Solubilidad en acetona (25 °C) (g L⁻¹)	41	300	1,5	195
Solubilidad en hexano (25 °C) (g L⁻¹)	0,36	6,3	3,1 x 10 ⁻³	15
Solubilidad en tolueno (25 °C) (g L⁻¹)	-	200	0,13	

Tabla II.1. Características más relevantes de los herbicidas triazínicos estudiados (continuación).

	TERBUTILAZINA (Tz)	PROMETRINA (Pr)	SIMAZINA (Sz)	CIANAZINA (Cz)
APLICACIONES				
Efectos sobre la planta	Inhibición del transporte electrónico en la fotosíntesis.	Inhibición del transporte electrónico en la fotosíntesis.	Inhibición del transporte electrónico en la fotosíntesis.	Inhibición del transporte electrónico en la fotosíntesis.
Modo de acción	Herbicida de tipo sistémico absorbido por hojas y follaje con rápido desplazamiento a través del xilema y acumulación en el tejido meristemático.			
Usos	Se aplica en pre y post-emergencia en cultivos de maíz, árboles frutales, viñas, olivos, patatas, soja y en cultivos forestales de reciente plantación.	Usado en pre y post emergencia en cultivos de algodón, girasoles, calabacín, patatas, zanahorias, judías, guisantes.	Se emplea para el control de malas hierbas en cultivos de árboles frutales, viñas, olivos, maíz, guisantes, café y plantas ornamentales entre otros.	Se aplica en pre-emergencia en cultivos de maíz, guisantes y alubias y en post-emergencia en cultivos de cebada y trigo. Otros cultivos en los que se usa son: olivar, algodón, patatas, caña de azúcar, etc.
Dosis (kg ha⁻¹)	0,6-3	0,8-2,5 (pre-emergencia) 0,8-1,5 (post-emergencia)	1,5-3	1-3 (pre-emergencia) 0,26-0,33 (post-emergencia)
TOXICIDAD				
Clase toxicológica según la EPA	III Tóxico por vía oral y dérmica.	III Tóxico por vía oral y dérmica	IV Ligeramente peligroso. Irritación de la piel a las 72 h de contacto.	II Toxicidad severa por vía oral y dérmica

Los herbicidas triazínicos seleccionados pueden ser divididos en dos grupos: terbutilazina, simazina y cianazina (Cl- triazinas), y prometrina con un grupo SCH₃ (S-triazinas) (Tabla II.1). Los sustituyentes de las triazinas afectan al carácter básico del átomo de N y a la acidez de los enlaces N-H de la molécula de herbicida y consecuentemente a la forma de interaccionar con los adsorbentes.

2.1.2.b) SULFONILUREAS

El empleo de herbicidas sulfonilureicos se ha extendido notoriamente en la agricultura actual debido a su elevada actividad herbicida a dosis bajas de producto (10-100 g ha⁻¹) y su alta selectividad. Además presentan una toxicidad extremadamente baja para humanos y otros animales (Store, 1995; Carabias-Martínez et al., 2004) y fototoxicidad debida a la inhibición de un único enzima (acetolactato sintasa). Estas características los hacen candidatos ideales para reemplazar herbicidas tradicionales en un esfuerzo por reducir la cantidad de productos químicos empleados, por eliminar herbicidas con una toxicidad relativamente alta para animales y por reemplazar compuestos tales como la atrazina que han contaminado las aguas subterráneas en numerosos agroecosistemas (Fletcher et al., 1993).

La aplicación de dosis bajas de estos compuestos representa una ventaja desde el punto de vista ambiental. Sin embargo, su alta solubilidad y su baja adsorción en suelos los convierten en compuestos muy móviles. Además, dado su carácter ácido (pK_a comprendido entre 3,3 y 5,2) un incremento en el pH del suelo y una disminución en el contenido en m.o. pueden favorecer su movilidad y persistencia en el medio edáfico (Cavanna et al., 1998, Koskinen et al., 1996) con las consecuentes incidencias ambientales.

Los herbicidas sulfonilureicos estudiados son:

- **Bensulfurón metilo.** C₁₆H₁₈N₄O₇S (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 98,5%, nomenclatura según la IUPAC: benzoato de metilo y de 2((4,6-dimetoxipirimidin-2-il)aminocarbonil)aminosulfonil metil.
- **Clorsulfurón.** C₁₂H₁₂ClN₅O₄S (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 99,5%, nomenclatura según la IUPAC: 1-(2-clorofenilsulfonil)-3-(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il)urea.
- **Prosulfurón.** C₁₅H₁₆F₃N₅O₄S (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemania), pureza del 99,0%, nomenclatura según la IUPAC: 1-(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il)-3-[2-(3,3,3-trifluoro-propil)fenilsufonil]urea.

En la Tabla II.2 se recogen las características más relevantes de estos herbicidas.

Tabla II.2. Características más relevantes de los herbicidas sulfonilureicos estudiados (Tomlin, 2003).

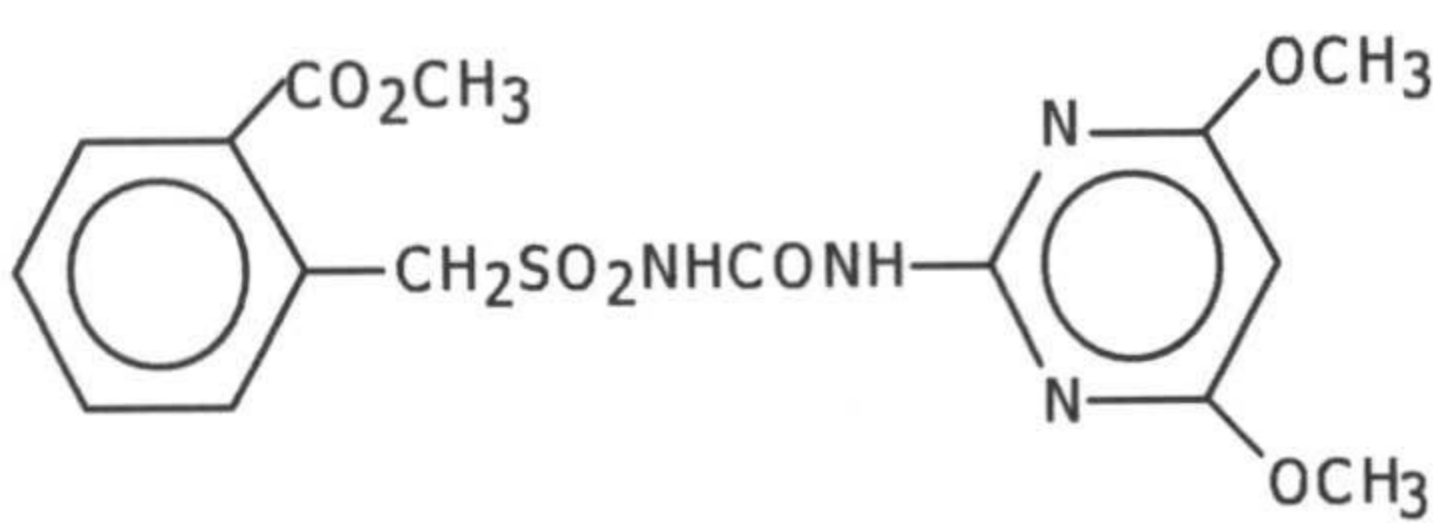
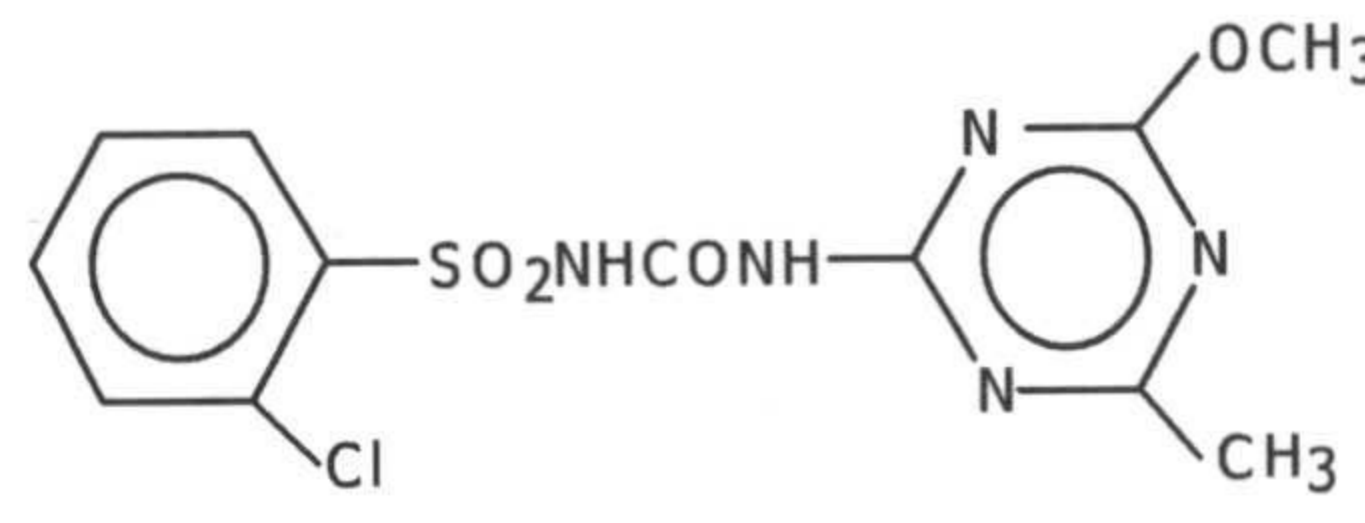
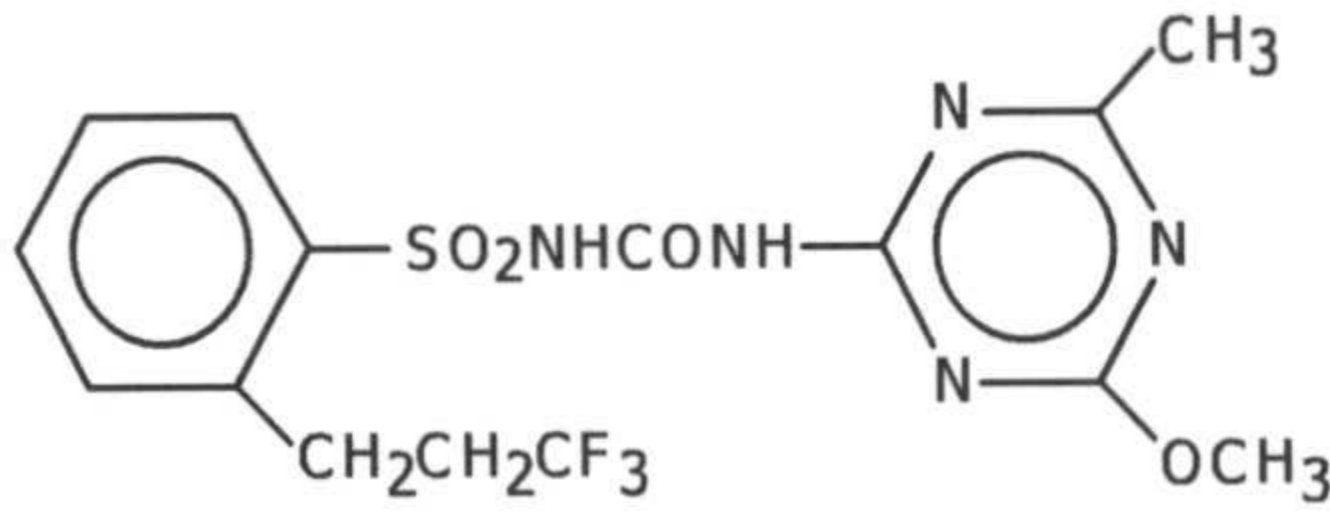
	BENSULFURÓN- METILO (BSM)	CLORSULFURÓN (CLR)	PROSULFURÓN (PRS)
ESTRUCTURA QUÍMICA			
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS			
P_m	410,4	357,8	419,4
P_f (°C)	185-188	170-173	155
P_v (mPa) (25 °C)	2,8 x 10 ⁻⁹	3 x 10 ⁻⁶	< 3,5 x 10 ⁻³
K_{ow} (pH 7) (30 °C)	0,62	-0,99	-0,21
Solubilidad en agua (pH 7) (25 °C) (mg L⁻¹)	120	31800	4000
Solubilidad en acetonitrilo (20 °C) (g L⁻¹)	5,38	-	-
Solubilidad en acetona (20 °C) (g L⁻¹)	1,38	4	160
DT₅₀ (pH 7) (25 °C) (días)	143	28-32	Degradación muy lenta

Tabla II.2. Características más relevantes de los herbicidas sulfonilureicos estudiados (continuación).

	BENSULFURÓN- METILO (BSM)	CLORSULFURÓN (CLR)	PROSULFURÓN (PRS)
APLICACIONES			
Efectos sobre la planta	Inhibición de la biosíntesis de los amino ácidos esenciales valina e isoleucina, incluso detiene la división celular y el crecimiento de la planta		
Modo de acción	Herbicida de tipo sistémico absorbido por hojas y raíces con rápido desplazamiento a través del xilema y floema de la planta hasta el sitio de acción.		
Usos	Control de pre y post- emergencia de malas hierbas anuales y perennes presentes en cultivos de arroz y otros cereales.	Control de pre y temprana post-emergencia de malas hierbas en cultivos de trigo, avena, centeno, cebada y lino así como sobre terrenos no cultivados.	Se aplica en post-emergencia en cultivos de maíz, cereales, pastos y césped.
Dosis (g ha⁻¹)	30-100	9-25	12-40
TOXICIDAD			
Clase toxicológica según la EPA	IV Ligeramente peligroso. Irritación de la piel a las 72 h de contacto	IV Ligeramente peligroso. Irritación de la piel a las 72 h de contacto	III Tóxico por vía oral y dérmica.

2.1.2. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

2.1.2.a) CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA TRIAZINAS

Para la determinación de los herbicidas triazínicos se empleó un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 CX, equipado con un detector TSD y con un inyector automático modelo 8200 (Varian) con y sin división de flujo. El software empleado por el equipo para el control de las condiciones cromatográficas e integración automáticas fue Star Chromatography Workstation (Varian).

Se utilizó una columna Ultra 2 (5% de fenilmetilsilicona, Hewlett Packard) de 25 m, 0,32 mm de diámetro interno y 0,17 μm de grosor de película. Como gas portador y auxiliar se usó helio a un flujo de 2 mL min^{-1} . Las temperaturas del inyector y el detector fueron de 280 y 300 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

El programa de temperatura empleado fue el siguiente: temperatura inicial del horno 45 $^{\circ}\text{C}$ (1 min), calentamiento hasta 160 $^{\circ}\text{C}$ a 25 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ y posteriormente hasta 210 $^{\circ}\text{C}$ a 7 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, temperatura que se mantiene durante 2 min. Con estas condiciones de inyección los tiempos de retención para simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina fueron de 11,6, 12,1, 13,9 y 15,0 min, respectivamente.

En todos los casos el volumen de muestra inyectado fue de 1 μL , en modo "splitless" (o sin división de flujo), con la muestra disuelta en hexano o en una mezcla de hexano-tolueno.

2.1.2.b) CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA SULFONILUREAS

La determinación de los herbicidas sulfonilureicos se hizo mediante un cromatógrafo líquido Agilent Series 1100, equipado con detector de matriz de diodos (HPLC-DAD) e inyector automático. El software empleado por el equipo para el control de las condiciones cromatográficas e integración automática ha sido ChemStation para LC3D (Agilent Technologies, 1990-2002).

Se utilizó una columna Zorbax C8 de 150 mm de longitud, 2,1 mm de diámetro interno y 5 μm de tamaño de partícula, conectada a una precolumna, Eclipse XDB-C8, de 12,5 mm de longitud y 2,1 mm de diámetro interno. La fase móvil fue una mezcla 40:60, de acetonitrilo y ácido trifluoroacético (0,1N) llevado a pH próximo a 2,8 \pm 0,2 con trietilamina (ambos de Aldrich, España). El flujo se estableció en 0,2 mL min^{-1} , la temperatura del horno en 40 $^{\circ}\text{C}$ y el volumen de inyección en 20 μL para soluciones diluidas y 10 μL para concentradas (apartado II.2.1.4.b) con la muestra disuelta en acetonitrilo o en agua. La longitud de onda del detector fue 237 nm para bensulfurón y 225 nm para clorsulfurón y prosulfurón.

En estas condiciones los tiempos de retención de patrones de herbicidas sulfonilureicos en solución acuosa correspondieron a 6,24, 9,69 y 14,47 para clorsulfurón, bensulfurón metilo y prosulfurón, respectivamente.

b.1) Influencia del pH de la fase móvil en el tiempo de retención de los herbicidas sulfonilureicos.

A la solución de ácido trifluoroacético (0,1 N), usada como fase móvil, se le añaden cantidades variables de trietilamina con objeto de conseguir soluciones a distintos valores de pH comprendidos entre 2,5 y 3,5 (2,5, 2,8, 3,0, 3,3 y 3,5). Para cada pH se realizan seis inyecciones de una solución acuosa de bensulfurón, clorsulfurón y prosulfurón a 10 mg L⁻¹.

b.2) Influencia del pH de las muestras en el tiempo de retención de los herbicidas sulfonilureicos.

Se pesaron por duplicado muestras de 5 g de suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (80 g kg⁻¹) a los que se adicionaron 20 mL de agua milliQ, todo ello en tubos Pyrex de vidrio con tapón de rosca. Se agitó cada muestra y se introdujo en cámara termostática (Selecta Hotcold-M) a 15 °C. Dentro de la cámara los tubos se agitan por volteo gracias a un agitador mecánico (Heidolph). Trascorridas 24 h, las muestras se centrifugaron (3000 rpm y 15 °C, 15 min) (centrífuga Eppendorf 5810 CR). Los sobrenadantes obtenidos se usaron como solventes para preparar soluciones a 1 mg L⁻¹, de los tres herbicidas sulfonilureicos estudiados, del modo que se indica en el apartado II.2.1.3.b Finalmente, se obtuvieron cuatro soluciones de una mezcla de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón a 1 mg L⁻¹ preparadas en:

- Sobrenadante de suelo de vega sin enmendar (S).
- Sobrenadante de suelo de vega enmendado con alperujo (SA).
- Sobrenadante de suelo de vega enmendado con compost de alperujo (SC).
- Sobrenadante de suelo de vega enmendado con vermicompost de alperujo (SV).

De cada solución se tomaron 4 submuestras a las que se les añadió HCl 1 M hasta conseguir un pH de 2,5 ± 0,1, 3,5 ± 0,1, 4,5 ± 0,1 y 5,5 ± 0,1 respectivamente. Se filtraron alícuotas de las diferentes soluciones por un filtro GHP de 0,45 µm (GHP Acrodisc 13 mm Syringe Filter, PALL) para su posterior determinación por HPLC.

2.1.3. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN

2.1.3.a) SOLUCIONES PATRÓN DE TRIAZINAS

Para la preparación de soluciones patrón de terbutilazina, prometrina y cianacina se preparó una solución madre para cada herbicida a 1 g L⁻¹, pesando 10 mg de ingrediente activo y disolviéndolos con 10 mL de acetona para análisis de residuos (PAR). Para simazina, menos soluble en acetona, la solución madre se preparó a una concentración de 0,5 g L⁻¹, pesando 10 mg de ingrediente activo que se disuelven en 20 mL de acetona PAR. Posteriormente se obtiene una solución mezcla de todos los herbicidas a 100 mg L⁻¹ por dilución 1:10 para terbutilazina,

prometrina y cianazina y 2:10 para simazina. La solución de 100 mg L⁻¹ se usó para obtener patrones a distintas concentraciones mediante diluciones sucesivas en agua o en hexano PAR.

La terbutilazina y simazina presentan solubilidades en agua inferiores a las concentraciones de las muestras preparadas (2–20 mg L⁻¹) (Tabla II.1). Sin embargo en ningún caso se produjo una precipitación de los herbicidas en las soluciones patrón al estar preparadas a partir de la solución madre que contienen un porcentaje de acetona suficiente para solubilizar estos herbicidas. Por otro lado la pequeña cantidad de acetona en la solución acuosa para la realización de las isotermas, no tiene efecto sobre la distribución de los analitos ensayados (Morrica et al., 2000; Lee et al., 2004).

2.1.3.b) SOLUCIONES PATRÓN DE SULFONILUREAS.

Se preparó una solución madre para cada herbicida sulfonilureico a 1 g L⁻¹ pesando 10 mg de ingrediente activo y disolviéndolo en 10 mL de acetonitrilo de gradiente. A continuación, por dilución 1:10 en acetonitrilo se obtiene una solución mezcla a 100 mg L⁻¹ que contiene los tres plaguicidas y se utiliza para obtener patrones de distintas concentraciones mediante diluciones sucesivas en acetonitrilo o agua según los casos.

2.1.4. CURVAS DE CALIBRADO

Las inyecciones de los patrones para la obtención de las curvas de calibrado se realizaron en todos los casos por triplicado, durante 3 días distintos y según las condiciones descritas en el apartado II.2.1.2.

2.1.4.a) CURVA DE CALIBRADO PARA TRIAZINAS.

Al igual que para sulfonilureas, se prepararon dos curvas de calibrado que comprenden distintos rangos de concentración:

- Curva diluida (TRIAZDILU), realizada con patrones de con concentraciones comprendidas entre 0,5–2,5 mg L⁻¹ (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 y 2,5).
- Curva concentrada (TRIAZCONC), en la que se emplean patrones de concentraciones que van desde 2,0 hasta 20 mg L⁻¹ (2, 5, 10, 15,y 20).

Todas las soluciones se prepararon en hexano según se describe en el apartado II.2.1.3.a.

2.1.4.b) CURVAS DE CALIBRADO PARA SULFONILUREAS.

Se realizaron dos curvas de calibrado distintas entre distintos rangos de concentración, para poder cuantificar todas las muestras:

- Curva diluida (UREASDILU), que abarca concentraciones comprendidas entre 0,15 y 2,25 mg L⁻¹ (0,15, 0,25, 0,75, 1,25, 1,75 y 2,25).

- Curva concentrada (UREASCONC), obtenida a partir de cinco muestras de plaguicidas comprendidas en el rango de concentraciones 1–5 mg L⁻¹ (1, 2, 3, 4 y 5).

Todas las soluciones patrón se prepararon en agua Milli-Q siguiendo la forma descrita en el apartado II.2.1.3.b.

2.1.4.c) PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE LAS CURVAS EMPLEADAS

Los softwares Star Chromatography Workstation (Varian) para el cromatógrafo de gases y ChemStation para LC3D (Agilent Technologies) para el cromatógrafo líquido, nos permiten obtener las distintas curvas de calibrado tras la inyección de los patrones.

Una vez obtenidas las distintas curvas, la cuantificación se realiza de forma automática después de la inyección de la muestra.

La linealidad del método instrumental [1-s_r(b)], la sensibilidad analítica (s_{R,c}/b) y el límite de detección (LOD) de las curvas empleadas en la cuantificación de los analitos fueron calculados a partir de los datos obtenidos en la calibración, usando un modelo estadístico de regresión lineal (Cuadros Rodríguez et al., 1993; de la Colina et al., 1996; Sánchez et al., 2004) (Tablas II.3 y II.4). Las ecuaciones usadas para obtener estos parámetros son las siguientes:

$$s_r(b) = s_b / b \quad [3]$$

$$\text{LOD} = 3(s_{R,c}/b)[(n-2)/(n-1)]^{1/2} \quad [4]$$

donde, b es la pendiente; s_b, la desviación estándar de la pendiente; s_{R,c}, la desviación estándar de la señal a la concentración (c) y n es el número total de pares de puntos usados para calcular la recta de regresión.

Tabla II.3. Parámetros analíticos de las curvas empleadas para triazinas.

Curva	TRIAZDILU				TRIAZCONC			
	Sz	Tz	Pr	Cz	Sz	Tz	Pr	Cz
Plaguicida/s								
Rango (mg L ⁻¹)	0,5 - 2,5				2 - 20			
Linealidad (%)	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99	0,97	0,93
Sensibilidad (mg L ⁻¹)	0,04	0,04	0,03	0,03	0,21	0,14	0,45	0,97
LOD (mg L ⁻¹)	0,11	0,11	0,10	0,10	0,61	0,41	1,30	2,81

Tabla II.4. Parámetros analíticos de las curvas empleadas para sulfonilureas.

Curva	UREASDILU			UREASCONC		
	CLR	BSM	PROS	CLR	BSM	PROS
Plaguicida/s						
Rango (mg L ⁻¹)	0,25 - 2,25			1 - 5		
Linealidad (%)	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Sensibilidad (mg L ⁻¹)	0,01	0,01	0,01	0,04	0,03	0,04
LOD (mg L ⁻¹)	0,03	0,03	0,02	0,10	0,10	0,13

2.2. SUELOS Y ENMIENDAS

2.2.1. DESCRIPCIÓN DEL SUELO UTILIZADO

En el presente trabajo se utilizó la capa arable de dos suelos, uno destinado al cultivo de maíz y tabaco, entre otros y el otro al cultivo del olivo. El primero de los suelos, "suelo de la vega", se usó para el estudio de los herbicidas sulfonilureicos y el segundo, "suelo de olivar", para los triazínicos en función del uso de los dos grupos de plaguicidas (tablas II-1 y II-2).

2.2.1.a) CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE OLIVAR (SO).

Para los estudios con herbicidas triazínicos se utilizó la capa arable de un suelo calcáreo clasificado como Cambisol calcárico, localizado en las cercanías de Iznalloz (Granada). La descripción del perfil del suelo se expone a continuación:

Clasificación: Cambisol calcárico

Ubicación: Finca la Parra, Deifontes (Granada).

Posición fisiográfica: Pendiente suave cóncava.

Topografía del terreno circundante: Ondulado.

Vegetación o uso: Cultivo de olivar.

Drenaje: Clase-2, perfectamente drenado.

Condiciones de humedad: Húmedo, lluvias recientes.

Erosión: en cárcavas.

Pedregosidad: grava moderada.

La descripción de cada uno de los perfiles según la FAO es la siguiente (Pérez y Prieto, 1980):

Horizonte Ap (0-14 cm) "capa arable"

Color 7.5YR 5/4 en húmedo, en seco 10YR 7/3. Textura franco arcillo limosa. Estructura granular media bien desarrollada. Adherente, plástico, friable y ligeramente duro. Sin cutanes. Poros frecuentes, finos y medianos. Fragmentos rocosos moderados, gravas. Calcáreo. Raíces relativamente abundantes, medianas y finas.

Horizonte Bw (13-28 cm)

Color 7.5YR 5/4 en húmedo, en seco 10YR 7/4 Textura franca. Estructura granular media con tendencia a masivo. Adherente, plástico, friable y ligeramente duro Sin cutanes. Poros pocos y finos. Fragmentos rocosos moderados, gravas. Calcáreo. Raíces comunes y finas.

Horizonte BC (28-40 cm)

Color 5YR 5/6 en húmedo, en seco 7.5YR 8/2. Textura franca. Estructura masiva. Ligeramente adherente, plástico, friable y duro. Fuertemente cementado. No hay poros. No hay fragmentos rocosos. Fuertemente calcáreo. Raíces muy pocas y muy finas.

Horizonte Ckm (> 40 cm)

Conglomerado calcáreo.

2.2.1.b) CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE LA VEGA (S)

Para los estudios con herbidas sulfonilureicos se utilizó la capa arable de un suelo clasificado como Fluvisol calcáreo localizado en la Vega de Granada, en el municipio de Vegas del Genil. La descripción del perfil del suelo se expone a continuación:

Clasificación: Fluvisol calcáreo

Ubicación: Parcela experimental en la Vega de Granada, Vegas del Genil (Granada).

Posición fisiográfica: Llanura.

Topografía del terreno circundante: Llana.

Vegetación o uso: Cultivo de maíz, tabaco y árboles frutales, entre otras.

Drenaje: Clase-2, perfectamente drenado.

Condiciones de humedad: Húmedo, lluvias recientes.

Pedregosidad: Grava moderada.

La descripción de cada uno de los perfiles según la FAO es la siguiente (Pérez y Prieto, 1980):

Horizonte Ap (0-30 cm) "capa arable"

Color en seco (10YR4.5/3) y en húmedo (10YR6/2.5). Presenta una textura franco limosa, con una estructura migajosa de bloques subangulares finos y medianos. Se encuentran frecuentemente turrículos 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.

2.2.2. DESCRIPCIÓN DE LAS ENMIENDAS UTILIZADAS

2.2.2.a) ALPERUJO (A)

Suministrado por la empresa oleícola Romeroliva (Deifontes, Granada) y obtenido por centrifugación en dos fases durante el proceso de extracción del aceite de oliva.

2.2.2.b) COMPOST DE ALPERUJO (C)

Suministrado por "Sociedad cooperativa Sierra de Génave (Puente-Génave, Jaén) y obtenido a partir del compostaje de residuos de un olivar ecológico.

2.2.2.c) VERMICOMPOST DE ALPERUJO (V)

Producto elaborado en la Estación Experimental del Zaidín (CSIC, Granada) a partir de una mezcla de alperujo con biosólidos residuales (8:1 ps:ps) durante un periodo de seis meses (Benítez et al., 2002), con lombrices cliteladas y no cliteladas de la especie *Eisenia andrei*.

2.2.3. MÉTODOS ANALÍTICOS DE CARACTERIZACIÓN DE SUELO Y ENMIENDAS

2.2.3.a) TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de suelo se recogieron con una pala. Tras su recogida, se llevaron al laboratorio donde se secaron al aire hasta alcanzar un grado de humedad intermedio para su manejo. A continuación se disgregaron los agregados con ayuda de un rodillo y se tamizó con un tamiz de 2 mm de chapa perforada. La fracción tamizada se dejó secar al aire y se guardó en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

Las enmiendas secas se molieron con un molino de laboratorio (IKA Werke), se tamizaron con un tamiz de 2 mm de chapa perforada y se guardaron en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

2.2.3.b) GRANULOMETRÍA DEL SUELO

La granulometría de las distintas fracciones de los suelos estudiados se determinó por tamizado tras eliminar la m.o. del suelo con peróxido de hidrógeno (40%). La fracción que queda sobre un tamiz de 0,05 mm cuando la muestra se pasa a su través es la fracción arena.

La arcilla y el limo se separaron por sedimentación utilizando el método de la pipeta de Robinson (Kilmer y Alexander, 1949, Soil Conservation Service, 1972.)

2.2.3.c) CONTENIDO DE AGUA DEL SUELO

Se trasvasaron porciones de la muestra, por duplicado, a un vaso de precipitados previamente tarado y se pesaron en balanza electrónica ($\pm 0,2$ g). A continuación las muestras se desecaron en estufa a 105 °C hasta peso constante (unas 24 h), se dejaron enfriar en desecador y se volvieron a pesar. Por diferencia de peso se calculó el porcentaje de humedad, refiriéndolo como porcentaje de peso seco a 105 °C (Weber, 1986).

2.2.3.d) CAPACIDAD DE CAMPO DEL SUELO (CC)

Se colocaron 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 recubrió con una lámina de plástico dejándola reposar una noche. Transcurrido este tiempo se aplicó a la placa una presión de 1/3 atm durante 6 días, y se transfirieron 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.

2.2.3.e) CARBONATOS DEL SUELO

El contenido total de carbonatos se determinó por el método del calcímetro de Bernard, basado en la comparación del volumen de CO₂ desprendido al tratar los suelos con HCl 6M con el producido por una cantidad determinada de CaCO₃ (0,2 g) tratada en las mismas condiciones. El dispositivo de medida consiste en una columna graduada conectada a un depósito (con una solución saturada de NaCl) por medio de un tubo en forma de U, en disposición de vasos comunicantes. La muestra de suelo pulverizada (0,2–1 g) se humedeció con agua y seguidamente se añadió el ácido. Se agitó el matraz y se bajó progresivamente el depósito hasta igualar la presión en las dos ramas del calcímetro. Pasados 5 minutos se anotó el volumen de gas desprendido.

El porcentaje de carbonatos del suelo, considerados como CaCO₃, se calculó mediante la fórmula:

$$\%CaCO_3 = \frac{V_m \times 0,2 \times 100}{V_c \times P} \quad [1]$$

Donde V_m y V_c son los mL de CO₂ desprendidos por la muestra de suelo y de CaCO₃ respectivamente, y P el peso del suelo en gramos. El contenido en carbonatos se expresa como g CaCO₃ (100 g de suelo)⁻¹ (Gutián y Carballas, 1976).

2.2.3.f) CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO DEL SUELO (CIC)

Se realizó siguiendo los métodos convencionales descritos en Soil Conservation Service (1972). La muestra natural molida y mezclada con Celite® (para facilitar el drenaje), se colocó en un tubo de percolación. Se hizo pasar una disolución de acetato amónico 2M a pH 7, con el fin de reemplazar los cationes de la muestra por NH_4^+ . Después se lavó con alcohol de 60° para eliminar el NH_4^+ en exceso, hasta que el líquido de lavado dió negativa la reacción de Nessler. Por último, se desplazó el catión amonio por Na^+ percolando la muestra con una disolución de NaCl 2M. El amonio desplazado se analizó por el método de Kjeldhal.

2.2.3.g) pH DEL SUELO Y ENMIENDAS.

El pH de los suelos empleados y de las enmiendas se determinó usando un pHmetro modelo Se pesó una cantidad de sustrato a la que se añadió agua destilada en una proporción 1:2,5. La mezcla se agitó con un agitador mecánico (vórtex, Heidolph Reax 2000) antes de medir el pH de la suspensión (Métodos Oficiales de Análisis, 1986).

2.2.3.h) CARBONO ORGÁNICO (CO)

Para la determinación del contenido en CO se empleó el método de oxidación parcial del suelo con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1M en presencia de ácido sulfúrico. El contenido de CO se calculó valorando el exceso de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ con $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 0,5 M (sal de Mohr) utilizando difenilamina como reactivo indicador (Walkley y Black, 1934). Para ello, se introdujo la muestra pulverizada (0,2–2 mg) en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, se añadieron 10 mL de una solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1M, se agitó y se adicionaron 20 mL de H_2SO_4 concentrado. Se dejó en reposo durante 30 minutos y se añadieron 200 mL de H_2O permitiendo que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente. Se adicionaron 10 mL de H_3PO_4 y 1 mL de difenilamina y se procedió a la valoración del exceso de dicromato no reducido mediante la solución de sal de Mohr ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,5 M. El color cambió de azul oscuro a verde. Paralelamente, se analizaron los blancos y el porcentaje de carbono del suelo se calculó mediante la fórmula:

$$\%C = \frac{(V_b - V_m) \times 0,195 \times F}{P} \quad [2]$$

Donde V_b y V_m son el volumen en mL de sal de Mohr añadido al blanco y a la muestra de suelo respectivamente, P el peso en g de la muestra y F el factor de la sal de Mohr, que se obtiene al valorar la sal de Mohr (5 mL de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 250 mL de H_2O destilada y 5 mL de H_2SO_4) con KMnO_4 0,1N, y se calcula como $F = \text{mL KMnO}_4/25$.

El CO se puede expresar como m.o. multiplicando su valor por el factor 1,724 propuesto por Walkley (1947).

2.2.3.i) CONTENIDO EN NITRÓGENO DE SUELO Y ENMIENDAS

La mineralización de las muestras de suelo y enmiendas, requerida para la valoración de las formas de N como $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, se realizó por el método de Kjeldahl (Piper, 1950) utilizando H_2SO_4 96% y un catalizador compuesto de 200 g de K_2SO_4 y 10 g de Se en polvo (pulverizado y homogeneizado). Tras este tratamiento, todas las formas orgánicas de N del suelo se transforman en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ que es valorado por colorimetría utilizando un autoanalizador Technicon. El color azul se genera por el método de Berthelot, conocido como azul de indolfenol, reacción entre amonio, fenol y NaClO en medio alcalino (Comisión de Métodos Analíticos del Instituto Nacional de Edafología y Agrobiología, 1973).

2.2.3.j) FRACCIONAMIENTO DE LA M.O. DEL SUELO Y ENMIENDAS

Para el estudio que nos ocupa se separaron tres fracciones de la m.o., lípidos, AH y ácidos fúlvicos. El material de partida consistió en suelo y enmiendas a los que se les ha eliminado la fracción hidrosoluble por lavado con agua destilada de una cantidad de sustrato y posterior centrifugación de la mezcla para separar las fases. El proceso se repitió hasta que el sobrenadante fue transparente a simple vista. El contenido en carbono de la fracción hidrosoluble se determinó como se explica en el apartado 2.2.3.h.

El remanente de suelo y enmiendas obtenido tras cada etapa de fraccionamiento se empleó para los estudios de adsorción que se explican en el capítulo siguiente.

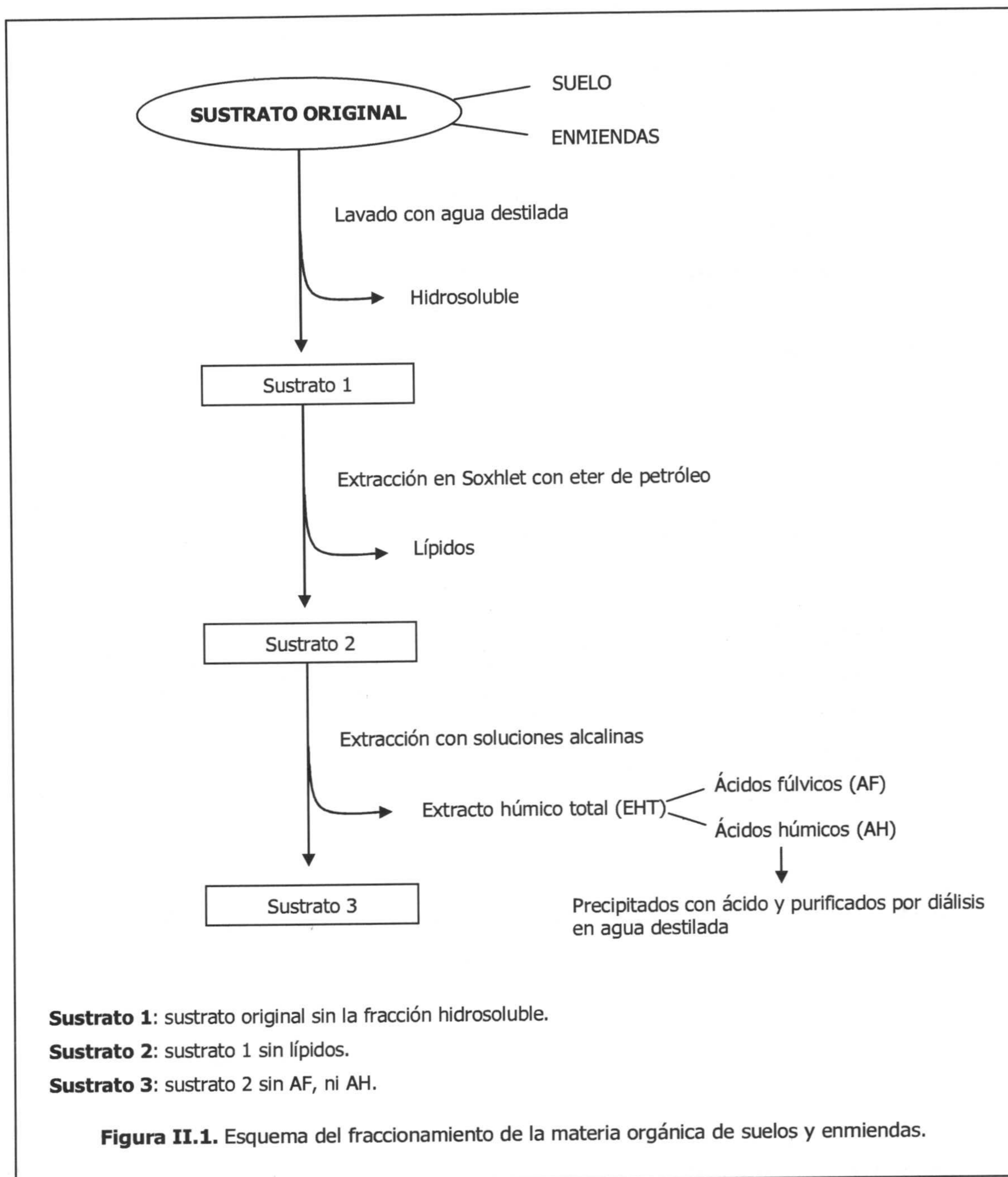
La Figura II.1 recoge de forma esquemática los procedimientos que se explican a continuación para el fraccionamiento de la m.o.

j.1) Extracción de la fracción lipídica

Con el fin de estudiar cualitativa- y cuantitativamente los constituyentes de la fracción de lípidos libres, se eligió un disolvente de baja polaridad para evitar la extracción de una proporción excesiva de sustancias macromoleculares. Con objeto de extraer preferentemente moléculas libres, no se aplicaron pretratamientos hidrolíticos o desmineralizantes para liberar fracciones lipídicas fijadas al suelo.

Se tomaron 50 g de muestra sin la fracción hidrosoluble en un cartucho de celulosa contenido en un extractor Soxhlet utilizando éter de petróleo (40–60 °C). Después de 12 h de extracción a reflujo, el extracto se desecó sobre Na_2SO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a 40 °C en rotavapor. El contenido total de lípidos se determinó por pesada del residuo seco.

El remanente de suelo y enmienda sin la fracción hidrosoluble, ni lípidos se dejó secar al aire para su posterior uso en los estudios de adsorción.



j.2) Obtención de los ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF)

➤ **Fraccionamiento cuantitativo**

El suelo y enmiendas sin la fracción hidrosoluble ni lípidos se extrajo con reactivos alcalinos. Primero se empleó $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M (2×150 mL), agitándose la mezcla durante 1h. Tras

este tiempo la suspensión se centrifugó (3000 rpm, 10 min) y el residuo obtenido se sometió a sucesivas extracciones (4-6 x 150 mL) con NaOH 0,1 M. La mezcla de todos los extractos corresponde al extracto húmico total (EHT). El remanente de muestra sin hidrosoluble, lípidos ni AH y AF, se dejó secar al aire para ser usado en estudios posteriores.

Un volumen de 20 mL del EHT se desecó (60 °C) y se determinó su contenido en carbono por el procedimiento descrito en el apartado II.2.2.3.h.

Para la obtención de los AH, se tomó una fracción del EHT (40 mL) y se acidificó con H₂SO₄ al 96%, lo que produjo la precipitación de los AH. Tras centrifugación (3000 rpm, 10 min), se decantó el sobrenadante que contenía los ácidos fúlvicos. Los AH se redisolviéron con NaOH 0,5 M, se secaron (60 °C) y se valoró el contenido en carbono por el procedimiento descrito en el apartado II.2.2.3.h.

El contenido en carbono de los AF se determinó por diferencia entre el contenido en carbono del EHT y el de los AH.

➤ **Fraccionamiento cualitativo**

Con objeto de disponer de una cantidad de muestra suficiente para la caracterización molecular de los AH, se tomaron 100 g de muestra de suelo y se trataron con 100 mL de H₃PO₄ 2 M. Se realizaron 2 extracciones con Na₄P₂O₇ 0,1 M (500 mL) y, dependiendo del tipo de muestra, hasta 6 extracciones con NaOH 0,1 M (500 mL). Al conjunto de todos los extractos, se añadió HCl hasta la precipitación de los AH (pH=1). Tras sifonar el sobrenadante, los AH se recogieron por centrifugación (3000 rpm, 10 min) y se redisolviéron en NaOH 0,5 M para volver a centrifugarlos a 20 000 rpm durante 10 min y sedimentar así las arcillas. El sobrenadante alcalino se reprecipitó con HCl 12 M. La purificación de los AH se completó mediante la diálisis en bolsas de celofán sumergidas en H₂O destilada, renovándose ésta cada 12 h hasta no detectar reacción con cloruros. El proceso duró aproximadamente 4 días. Después, los AH se dejaron secar a 50 °C para su posterior utilización.

2.2.3.k) CONTENIDO EN CENIZAS DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS

El contenido en cenizas es una medida aproximada de la fracción inorgánica presente en los AH. Su determinación es imprescindible para el cálculo, por diferencia, del contenido en O de las muestras a partir de los datos del análisis elemental (C, H, N).

Para la determinación de las cenizas presentes en los AH del suelo y enmiendas se depositaron las muestras en crisoles de porcelana previamente tarados. Para ello se limpiaron previamente con HCl y se calentaron en un horno eléctrico de mufla a 550 °C durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se introdujeron en un desecador con gel de sílice hasta que alcanzaron la temperatura ambiente, momento en el que fueron pesados. Los crisoles, con aproximadamente 100 mg de muestra de AH, se calentaron en el horno a 550 °C durante 5 h,

tiempo suficiente para producirse la combustión de todo el carbono presente en las muestras. Posteriormente, y tras alcanzar la temperatura ambiente en un desecador, se pesaron. Las cenizas resultantes fueron expresadas como porcentaje de la materia inicial.

2.2.3.l) ANÁLISIS ELEMENTAL ORGÁNICO DE LOS AH

El análisis elemental permite conocer la concentración de C, H, N, S y O de la muestra. Aparte de ello, y tras el cálculo de determinadas relaciones atómicas (C/N, H/C, O/C), es posible obtener información estructural en forma de parámetros relacionados con la proporción de estructuras alifáticas, aromáticas o de grupos funcionales oxigenados.

Para el análisis elemental de los AH se utilizó un analizador elemental Carlo-Erba EA-1108-CHNS. Las muestras se pesaron en cápsulas de estaño, y se calentaron en el horno de oxidación a 1000 °C, purgándose con una corriente de He. A continuación, se introdujeron en el reactor de combustión (1020 °C) donde la corriente de He se enriquece con oxígeno puro fundiéndose la cápsula y oxidándose la muestra. Se produce una oxidación catalítica ("combustión flash dinámica") que asegura la oxidación total de la muestra. Los gases de combustión (N_xO_y , CO_2 , H_2O y SO_2) pasan a un horno de CuO a 490 °C, donde los diferentes óxidos de nitrógeno se reducen a N_2 . A continuación, son transportados por una corriente de He a una columna cromatográfica (Porapak PQS) donde son separados y posteriormente, detectados por un detector de conductividad térmica.

Los porcentajes de C, H, N y S se obtuvieron por comparación con los correspondientes a una sustancia patrón previamente analizada. El porcentaje de oxígeno se obtiene por diferencia respecto a los otros cuatro elementos una vez referidos a muestra libre de cenizas.

2.2.3.m) ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

Los espectros de infrarrojo de suelos y enmiendas se obtuvieron mediante un espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) Perkin Elmer Spectrum One a partir de pastillas preparadas homogeneizando 1 mg de muestra en 100 mg de KBr, calidad espectroscópica. Para la obtención de las pastillas, las muestras se trituraron en un mortero de ágata. Una vez prensadas las pastillas se secaron a 110°C durante 12 horas para asegurar la deshidratación de la muestra, puesto que las bandas de H_2O enmascaran habitualmente otras bandas de interés.

Los espectros se registraron en modo absorción en el rango de frecuencias comprendidas entre 450 y 4000 cm^{-1} para suelos y entre 400 y 4000 cm^{-1} para enmiendas, con una resolución espectral de 4 cm^{-1} . Para facilitar el reconocimiento de patrones a partir de los espectros se aplicó un procedimiento matemático, para aumentar la resolución, basado en la sustracción digital del espectro original de un múltiplo positivo de su 2ª derivada (Rosenfeld y Kak, 1982).

2.2.4. PREPARACIÓN DE SUELOS ENMENDADOS

Las enmiendas, molidas y tamizadas con un tamiz de 2 mm, se mezclaron directamente con el suelo, también tamizado, como se indicó en el apartado 2.3.1. Se aplicaron dos dosis de cada uno de los subproductos, 50 t ha⁻¹ y 200 t ha⁻¹, con objeto de incrementar una (dosis baja) y dos veces (dosis alta) el contenido en CO de los suelos. Los suelos enmendados se guardaron en bolsas a temperatura ambiente.

Los suelos obtenidos tras el fraccionamiento de la m.o., equivalentes a los sustratos 1, 2 y 3 de la Figura II.1, se enmendaron, a dosis alta, con las enmiendas obtenidas por los mismos procesos y equivalentes a los sustratos 1, 2 y 3 de la Figura II.1, respectivamente, es decir:

- Suelo sin la fracción hidrosoluble hidrosoluble + enmienda sin la fracción hidrosoluble. A partir de ahora nos referiremos a estos suelos con el nombre de la muestra acompañada del subíndice "h".
- Suelo sin la fracción hidrosoluble, ni lípidos + enmienda sin la fracción hidrosoluble, ni lípidos. A partir de ahora nos referiremos a estos suelos con el nombre de la muestra acompañada del subíndice "hlip".
- Suelo sin la fracción hidrosoluble, ni lípidos, ni AF y AH + enmienda sin la fracción hidrosoluble, ni lípidos, ni AF y AH. Nos referiremos a estos suelos con el nombre de la muestra acompañada del subíndice "HF".

El contenido en CO, determinado como se describe en el apartado II.2.3.9, y el pH del suelo no enmendado y enmendado (medido a razón 1:4, suelo:agua) se recogen en las Tablas 1 y 2 del Anexo I. En estas tablas también se recoge la nomenclatura empleada para cada muestra.

2.2.5. INCUBACIÓN DE SUELOS

En recipientes de PVC de 5 kg de capacidad se introducen tres kg de suelo sin enmendar y enmendado con compost, vermicompost y alperujo a dosis alta (80 g kg⁻¹). Las muestras se incubaron durante 30, 60 y 90 días respectivamente, en cámara de incubación a 28° C, manteniendo las mezclas de suelo y enmendante a una humedad constante del 80% de la capacidad de campo del suelo. Transcurrido el tiempo de incubación, el suelo, solo o enmendado, se secó al aire, se pasó por un tamiz de 2 mm y se almacenó en bolsas a temperatura ambiente hasta su utilización. El contenido en CO, determinado como se describe en el apartado II.2.2.3.a, y el pH del suelo no enmendado y enmendado (medido a razón 1:4, suelo:agua) a los diferentes tiempos de incubación se muestra en el Anexo I, Tablas 2 y 3 para suelo de olivar y de vega, respectivamente.

2.2.6. ESTERILIZACIÓN DE SUELOS Y ENMIENDAS

La esterilización del suelo y las enmiendas se llevó a cabo autoclavando las muestras a vapor fluente 1 hora al día, durante 3 días.

La eficiencia de la esterilización se evaluó mediante el cultivo, en placas Petri, de 100 μ L de suspensión sustrato: agua estéril (1:1) usando como medio PDA (Agar-patata-dextrosa). Las placas Petri fueron incubadas a 25°C. El recuento de microorganismos se realizó visualmente cada día durante 4 días en el caso de muestras sin esterilizar y 1 mes en el caso de sustratos estériles.

Con objeto de determinar la existencia de posibles cambios en la composición de la materia orgánica de las muestras autoclavadas, se realizó el fraccionamiento orgánico de éstas y el análisis elemental de los AH tal y como se describe en los apartados II.2.2.3.j, II.2.2.3.l. Además, se determinó el contenido en CO (3II.2.2.2.h) y el pH de las muestras (medido a razón 1:4, suelo:agua). Los resultados de estas medidas se recogen en la Tabla 4 del Anexo I.

Las muestras estériles se nombran como las muestras sin esterilizar y el subíndice "est". La nomenclatura de las muestras esterilizadas se recoge en la Tabla 4 del Anexo I.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. INFLUENCIA DEL PH DE LA FASE MÓVIL EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN DE BENSULFURÓN METILO

En cromatografía líquida en fase reversa, el tiempo de retención de los analitos depende de su hidrofobicidad. Cuanto más hidrófobo sea el analito, mayor es su tiempo de retención. Cuando un analito se ioniza se vuelve menos hidrófobo y por tanto su tiempo de retención decrece. Los ácidos débiles, como las sulfonilureas, pierden un protón y se ionizan cuando el pH aumenta (Schoenmakers y R. Tijssen, 1993). La variación del tiempo de retención con el pH para ácidos débiles se describe con una función sigmoideal como la representada en la Figura II.2 (Schoenmakers y Tijssen, 1993, Espinosa et al., 2002), dónde el punto de inflexión corresponde al pK_a de la molécula. Según esto, el pH de la fase móvil juega un papel muy importante a tener en cuenta en el desarrollo y optimización de un método para HPLC. Se recomienda que el pH de la fase móvil esté por debajo del pK_a del ácido para que el éste se encuentre en su forma neutra, más retenida.

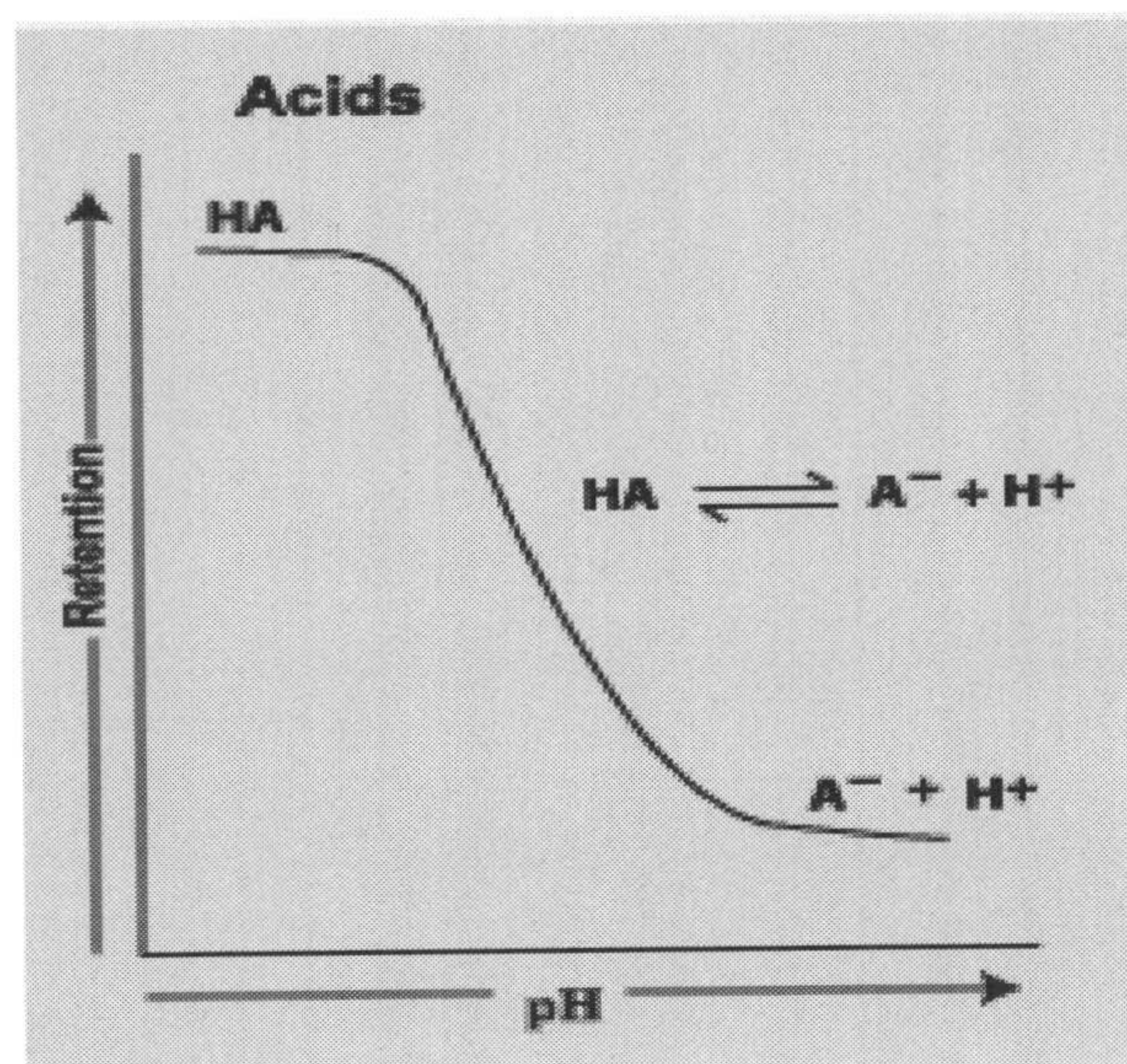


Figura II.2. Variación del tiempo de retención con el pH de la fase móvil.
<http://www.m ac-mod.com>

Dolan (2005) propone que el pH de la fase móvil debe ser 1,5 veces inferior al pK_a del ácido para asegurar que la molécula no está ionizada y por tanto, no se produzcan variaciones en el tiempo de retención. En el caso de estudio, el pH de la fase móvil no cumple esta condición, sin embargo no se observan cambios en el tiempo de retención a valores de pH próximos (2,5 y 3,0) (Figura II.3), lo que asegura la robustez del método. El tiempo de

retención de CLR y PROS con pK_a de 3,6 y 3,76, respectivamente disminuye a partir de pH 3,0. A pH 3,5 el tiempo de retención de estos dos plaguicidas se adelanta 20 segundos para CLR y 30 segundos para PROS. Para BSM, con pK_a de 5,2, no se producen variaciones del tiempo de retención en el rango de pH estudiado.

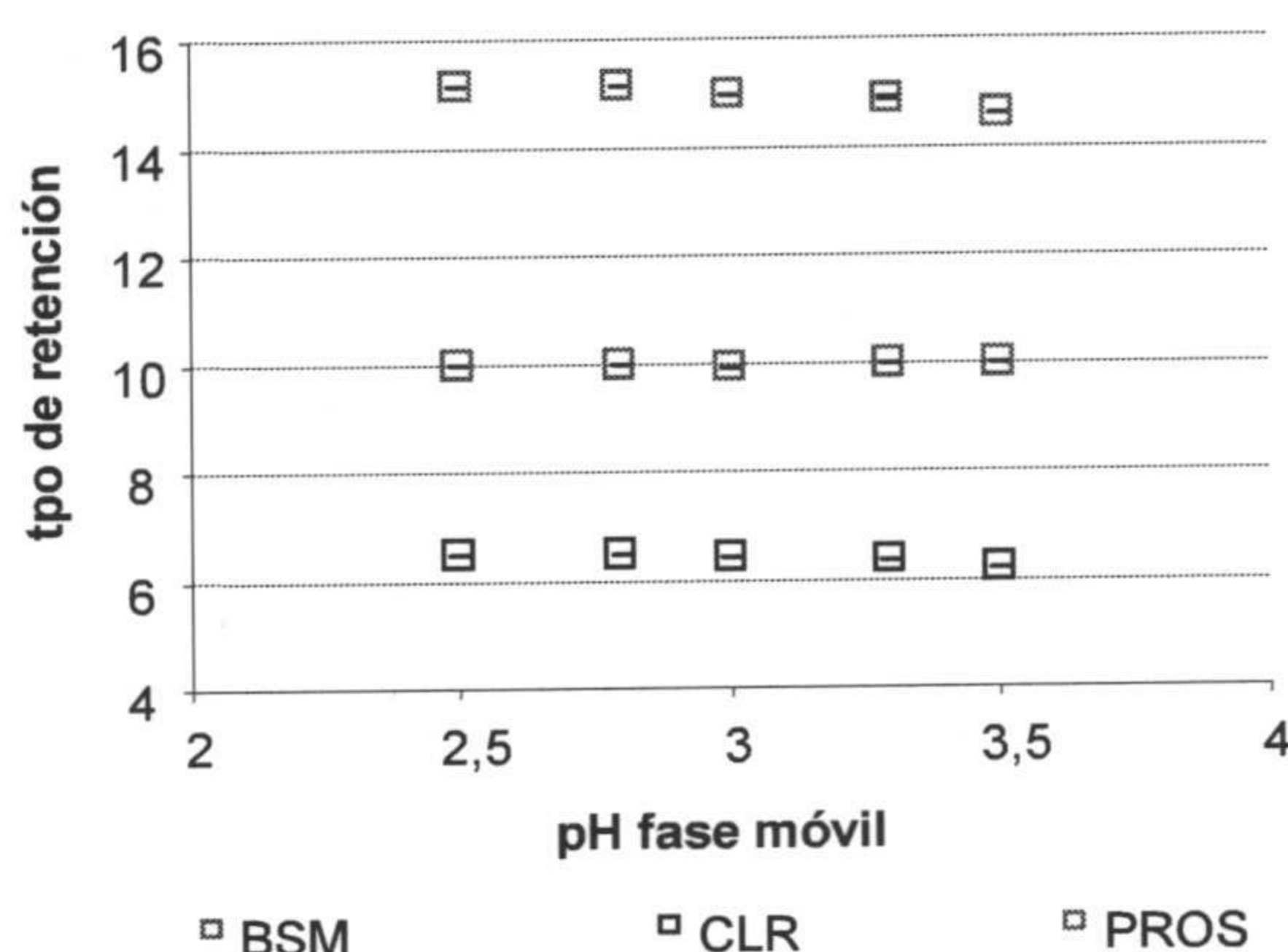


Figura II.3. Variación de las sulfonilureas con el pH de la fase móvil

En las condiciones cromatográficas de las sulfonilureas el factor de retención para clorsulfurón, que es el compuesto menos retenido fue de 2,47. Numerosos estudios ponen de manifiesto la influencia del pH en el factor de retención y establecen modelos matemáticos que permiten calcular el pK_a de los analitos en función del pH de la fase móvil y del factor de retención (Lopes Marques y Schoenmakers, 1992, Vigh et al., 1982).

3.2. INFLUENCIA DEL PH DE LAS MUESTRAS EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN DE LOS HERBICIDAS SULFONILUREICOS.

Como se indicó en el apartado II.2.1.3.b, condiciones cromatográficas para sulfonilureicos, los tiempos de retención de los plaguicidas sulfonilureicos en patrones acuosos fueron 6,24, 9,69 y 14,47 para clorsulfurón, bensulfurón metilo y prosulfurón respectivamente. Sin embargo, cuando se inyectaron las soluciones de los herbicidas preparadas en los sobrenadantes, obtenidos tras centrifugar la mezcla de sustrato y la solución acuosa de herbicidas, los tiempos de retención de clorsulfurón y prosulfurón se adelantaron, dependiendo de la matriz del suelo. Así para suelo enmendado con alperujo los tiempos de retención de clorsulfurón y prosulfurón fueron aproximadamente 1 y 2 minutos menores que los obtenidos cuando se inyecta un patrón acuoso. Para suelos enmendados con vermicompost compost, el adelanto es de aproximadamente 1 min para prosulfurón y entre 0,3 y 0,5 minutos para clorsulfurón (Figura II.4).

No se observaron cambios significativos en los tiempos de retención de sulfonilureas cuando la matriz consistía en suelo sin enmendar, ni tampoco en el tiempo de retención de bensulfurón para ninguno de los sustratos empleados (Figura II.4).

El adelanto de los picos podría explicarse como consecuencia de distintas proporciones de la forma aniónica y neutra de los plaguicidas. La forma aniónica, menos retenida, abandonaría antes la columna, lo que explicaría la disminución en el tiempo de retención. La cantidad relativa de cada forma está determinada por la constante de equilibrio, pK_a (Tabla II.2) y el pH de la solución según la ecuación [5] (Fontaine et al., 1991):

$$\frac{[AH]}{[A^-]} \equiv 10^{(pK_a - pH)} \quad [5]$$

Cuando el pH del medio es superior al pK_a de la molécula la forma predominante es la aniónica, menos hidrófoba y por tanto, menos retenida en la columna cromatográfica. Ya que el valor de la constante de BSM es de 5,2, en las condiciones de estudio esta molécula estará siempre más cerca de la forma molecular que el clorsulfurón y prosulfurón con pK_a de aproximadamente 3,6-3,7 (Tabla II.2). Esto justificaría que el efecto del pH de la matriz en el tiempo de retención sea más acusado para clorsulfurón y prosulfurón que para bensulfurón. Sin embargo, el hecho de que no haya correlación entre el pH de las muestras y el tiempo de retención de los plaguicidas, $r = 0,15$ y $0,27$ para prosulfurón y clorsulfurón respectivamente, hace pensar en que el pH no es el único factor que influye en la variación del tiempo de retención de las sulfonilureas.

Un factor adicional es el efecto matriz o composición de la solución inyectada. En este último caso, la mayor presencia de sustancias hidrosolubles en la muestra puede deducirse del eje de ordenadas que pasa de 250 miliunidades de absorbancia en suelo sin enmendar a 1750 en suelo enmendado con alperujo. Estas sustancias presentes en mayores proporciones en el suelo enmendado con alperujo que en el enmendado con compost y vermicompost (apartado II.3.5), podrían ocupar los puntos de unión de los herbicidas a la fase estacionaria, quedando menos puntos de anclaje disponibles, situación que afectaría principalmente a las formas menos retenidas, es decir a los iones clorsulfurón y prosulfurón y menos a bensulfurón. Por esta razón, la acidificación de las muestras, pasando todos los herbicidas mayoritariamente a su forma neutra, vuelve a situar a los herbicidas a unos tiempos de retención similares a los obtenidos en la solución patrón.

El sobrenadante de una mezcla de agua milli-Q y suelo contiene materia en suspensión como MOS, restos vegetales e incluso partículas de arcilla. Las partículas de tamaño inferior a $0,45 \mu\text{m}$ se inyectan en la columna y compiten con las moléculas de plaguicida por los puntos de unión de la fase estacionaria, lo que explicaría el menor tiempo de residencia en la columna

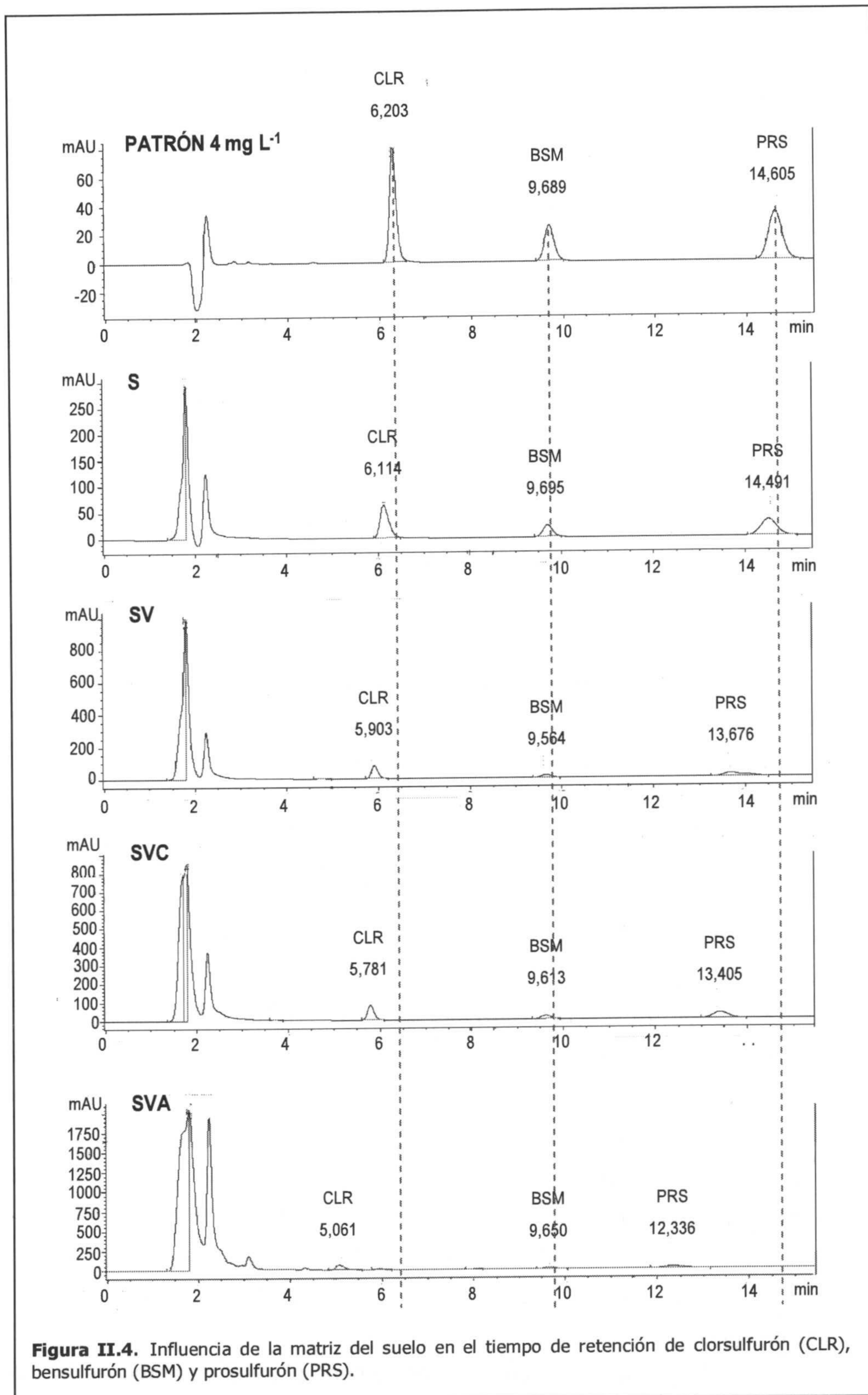


Figura II.4. Influencia de la matriz del suelo en el tiempo de retención de clorsulfurón (CLR), bensulfurón (BSM) y prosulfurón (PRS).

de las últimas. Font et al. (1998) analizan sulfonilureas en suelo por extracción asistida por microondas (MASE). El análisis por HPLC en fase reversa produjo una variabilidad en los tiempos de retención muy alta (RSD de aproximadamente un 20%). Aparentemente, el alto contenido de constituyentes apolares de la matriz no se eliminó adecuadamente bajo las condiciones cromatográficas empleadas. Por ello, la columna se limpió después de cada recorrido cromatográfico con un pequeño volumen de metanol (1 mL). Este sistema proporcionó valores aceptables de los tiempos de retención (RSD < 2%). El efecto matriz explica las variaciones en el tiempo de retención de prosulfurón y clorsulfurón.

Sería necesario un estudio más profundo para aclarar estas hipótesis, pero desde el punto de vista del objetivo de este trabajo nuestro interés se ciñe en reducir las variaciones en los tiempos de retención, principalmente en el caso del clorsulfurón, con el fin de evitar solapamientos con los picos de otros compuestos pertenecientes a la matriz del suelo, por ello acidificamos hasta pH próximo a 3,5 con HCl las muestras de sulfonilureas antes de ser filtradas por 0,45µm (Font et al., 1998).

3.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE SUELOS Y ENMIENDAS.

Las características fisicoquímicas de los suelos y enmiendas se recogen en las Tablas II.4 y II.5, respectivamente.

3.3.1. SUELOS

El pH se considera una propiedad edáfica muy importante por estar relacionada con otras propiedades como la CIC, la concentración de cationes asimilables y la actividad biológica. Es un factor determinante de las propiedades matriciales del suelo, influyendo en los procesos de adsorción/desorción de contaminantes orgánicos, tales como plaguicidas y de metales pesados. Los suelos estudiados presentan un pH básico, característico de zonas semiáridas como corresponde a la provincia de Granada. Estos valores de pH están condicionados no sólo por la composición mineralógica de la roca madre, sino frecuentemente por la concentración de beses de cambio, que a su vez dependen de la altitud, el clima y la humedad.

El análisis granulométrico de las muestras de suelo (Tabla II.5) presenta texturas con un contenido en arcillas de moderado a alto, siendo más abundante la fracción limo.

El contenido en m.o. (%COT x 1,724) de los suelos es bajo, en torno al 2% para S y el 4% para SO, lo que hace necesario el aporte de m.o. exógena para conseguir un óptimo rendimiento agrícola.

La relación C/N entre el contenido de carbono (C) y el de nitrógeno (N), determina la tasa a la cual el nitrógeno estará disponible para las plantas, por lo que se puede utilizar como indicador de calidad de m.o. en medios aerobios, si sólo se atiende a la facilidad de

descomposición. En la práctica, el contenido en m.o. del suelo suele ir paralelo al contenido de N. En general la relación C/N de la m.o. de un suelo suele tomar valores entre 10 y 12 (Stevenson, 1982), como ocurre para S y SO.

En la Tabla II.5 se muestran los valores de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de los horizontes superficiales estudiados. La mayor CIC del suelo de olivar frente al de vega es consecuencia de su mayor contenido en m.o. y arcilla (Stevenson, 1982).

El contenido en carbonatos de los suelos estudiados (24,9 % para S y 44,1% para SO) determina el pH moderadamente básico de los mismos (Tabla II.5). Un contenido en carbonatos del 1% puede elevar el pH del suelo por encima de la neutralidad, influyendo indirectamente en el proceso de humificación (provocando inmovilización de las fracciones orgánicas solubles) y en las propiedades físicas del suelo (formación de agregados) (Porta et al., 2003).

3.3.2. ENMIENDAS

El pH del alperujo es ligeramente ácido (pH 5,3). Según Diaz et al. (1982) durante el compostaje el pH decae al principio del proceso debido a la acumulación de ácidos orgánicos. Posteriormente, cuando los ácidos son usados por microorganismos aerobios, el pH aumenta. Durante la etapa de maduración el pH vuelve a disminuir hasta valores próximos a la neutralidad y se estabiliza. Este patrón típico del pH no se corresponde a los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde las enmiendas maduras, compost y vermicompost, presentan valores de pH superiores al del alperujo (Tabla II.6). Paredes et al. (2002) y Ait Baddi et al. (2004) atribuyen este aumento del pH en el compost de residuos de la industria olivarera a la liberación del ión amonio por la mineralización de proteínas, amino ácidos y péptidos.

En la mineralización de la m.o., los microorganismos usan el carbono como fuente de C y energía y lo transforman principalmente en CO₂, que se liberan a la atmósfera. Las pérdidas de CO por mineralización justifican la disminución en el contenido en COT del compost y vermicompost frente al alperujo (Tabla II.6).

Por el contrario, los niveles de N aumentan durante el proceso de maduración de la m.o. debido a la mineralización del nitrógeno orgánico retenido en forma de aminoácidos y aminoazúcares en las sustancias húmicas (Tabla II.6). Paredes et al., 2000 y 2002) observaron el mismo comportamiento en su estudio sobre la evolución de la m.o. contenida en las aguas

Tabla II.5. Características fisicoquímicas del suelo de vega (S) y de olivar (SO).

	pH	Ar/L/Arc %	CO g kg ⁻¹	NKT g kg ⁻¹	C/N	Ca/Mg/K %	CaCO ₃ %	CIC cmol kg ⁻¹	CC (1/3 bar %)
S	8,1	15/63/22	12,1	1,3	10,4	13,9/4,6/2,0	24,9	7,9	21,4
SO	7,6	10/56/34	21,4	2,1	10,4	24,7/1,3/1,4	44,1	22,6	27,4

Ar/L/Arc = Arena/ Limo/Arcilla

Tabla II.6. Características fisicoquímicas del alperujo (A), vermicompost de alperujo (V) y compost de alperujo (C).

	pH	CO g kg ⁻¹	N g kg ⁻¹	C/N	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹		
					P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
A	5,3	530	6,5	81,5	0,8	7,9	2,5	1,0	0,3	6,8	5,0	5
V	8,0	353	14,4	24,5	1,7	6,4	57,6	6,8	4,7	140	70,0	50,0
C	8,4	227	14,5	15,6	2,1	20,9	25,6	23,8	10,3	251	76,3	44,0

Las concentraciones de nutrientes han sido obtenidas por fluorescencia de rayos X (FDX).

residuales del proceso de extracción del aceite de oliva durante su co-compostaje con otros residuos agrícolas. Según estos autores, la concentración de NH_4^+ aumenta inicialmente al liberarse tras la mineralización del N orgánico y disminuye posteriormente debido a pérdidas por volatilización, lixiviación o transformación a nitratos por bacterias nitrificantes. La máxima concentración de NO_3^- se alcanza después de la maduración y la fijación de N aumenta durante la fase bio-oxidativa.

El contenido en N del alperujo (Tabla II.6) resulta relativamente bajo si lo comparamos con el de lodos de depuradora o estiércoles (Alburquerque, 2004).

La razón C/N se usa como un indicador del grado de estabilidad de un compost. Chefetz et al. (1996) y Namkoong et al. (1999) establecen que un compost puede ser considerado estable cuando la razón C/N toma valores entre 10 y 15. El valor de esta relación es muy alto para la m.o. fresca y va disminuyendo a medida que ésta se transforma en humus, como se ha indicado anteriormente. Así, en nuestro estudio, los valores de C/N disminuyen en el sentido $A > V > C$, más altos para la enmienda fresca, alperujo, y más bajos para la más estabilizada, compost y vermicompost. Los suelos, en los que la m.o. se encuentra en un estado de humificación más avanzado, presentan la relación C/N más baja.

El contenido en nutrientes para las plantas de las enmiendas estudiadas se recoge en la Tabla II.6. El alperujo es especialmente rico en K ($7,9 \text{ g kg}^{-1}$), lo cual es una característica común de este tipo de residuos. Sin embargo, es pobre en P, Ca y Mg comparado con los residuos sólidos urbanos y lodos de depuradora aunque similar a otros residuos vegetales (Alburquerque, 2004). Mn, Cu y Zn presentan similares contenidos pero mucho más bajos que el Fe. En el compost y vermicompost se produce un aumento en la concentración de todos los nutrientes estudiados.

3.4. FRACCIONAMIENTO DE LA M.O. DEL SUELO Y ENMIENDAS

El fraccionamiento de la m.o. permite cuantificar una serie de constituyentes (solubles, particulados y coloidales) conocidos genéricamente como lípidos libres, m.o. libre, humina heredada, ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos, huminas extraíbles y huminas residuales (Duchaufour, 1975; Duchaufour y Jacquin, 1975; Velthorst et al., 1999). El diferente contenido de estas fracciones en los distintos tipos de suelos se relaciona con la eficacia del ciclo biogeoquímico y con la calidad ambiental de la m.o., desde el punto de vista de su actividad en el transporte e inmovilización de elementos y en la agregación de los constituyentes minerales del suelo.

En la Figura II.5 y en la Tabla II.7 se muestran los contenidos en carbono de la fracción hidrosoluble y de las distintas fracciones orgánicas que fueron aisladas de la m.o. del suelo y enmiendas (lípidos, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y humina).

El fraccionamiento de la m.o. de las muestras de suelo pone de manifiesto una distribución desigual de las fracciones orgánicas obtenidas. Así, el suelo de olivar (SO) presenta prácticamente cuatro veces más AH que el suelo de vega (S), mientras que el contenido en AF, lípidos y humina es ligeramente superior para S que para SO. La cantidad de hidrosoluble en los dos suelos es prácticamente inexistente.

En relación a los enmendantes, la fracción hidrosoluble es más abundante en el alperujo que en el resto de enmiendas. Por su parte, el contenido en lípidos del compost y vermicompost resulta despreciable frente a los altos niveles presentes en el alperujo. En efecto, las fuentes de C más solubles y fácilmente degradables, como los polisacáridos y lípidos, son utilizadas por los microorganismos en los primeros estados de degradación de la m.o. (Sánchez-Monedero et al. 1999). Saviozzi et al. (1997) y Diné et al. (1996) consideran que la concentración de polifenoles y lípidos está estrictamente relacionada con la estabilidad y el grado de madurez de la m.o. En esta misma línea, Kirchmann y Widen (1994) establecen que un alto contenido en estos compuestos es indicativo de un compost inmaduro. En nuestro estudio, la disminución del contenido en lípidos del compost y vermicompost respecto al alperujo fue de 99,8% y 98,3%, respectivamente. Resultados similares fueron encontrados por Baddi et al. (2004) después de 12 meses de compostaje del alperujo.

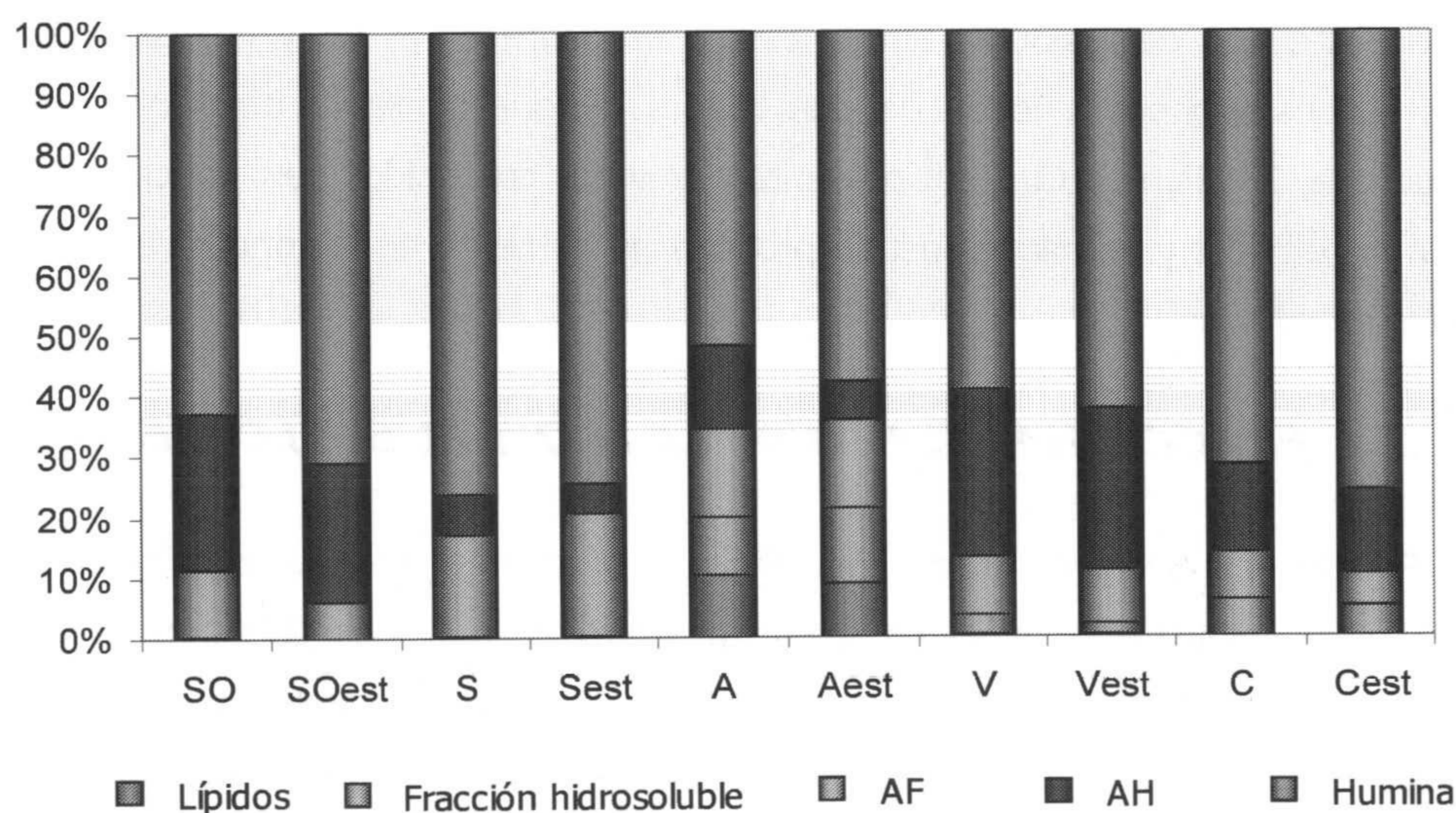


Figura II.5. Distribución del carbono del suelo en sus diferentes fracciones orgánicas (%C respecto al C total del suelo).

Por otro lado, el alperujo (A) presenta mayor cantidad de AF que el compost (C) y vermicompost (V), debido a que una alta proporción de la fracción AF del alperujo la constituyen compuestos fácilmente degradables (azúcares, aminoácidos, péptidos, etc) durante los procesos de compostaje y vermicompostaje (Paredes et al., 2002; García-Gómez et al., 2005). Esta disminución en la fracción AF durante el compostaje puede sugerir su

transformación en estructuras más complejas y polimerizadas correspondientes a la fracción AH, lo que explica el mayor contenido de esta fracción en las enmiendas estabilizadas (V y C) respecto a la enmienda fresca (A) (García-Gómez et al., 2005).

Para estudiar el grado de humificación de la m.o. se determinaron los siguientes parámetros:

- la relación AH/AF, que indica el grado de polimerización de la m.o. y
- el porcentaje de AH, expresado como $AH/EHT \cdot 100$

Ambos parámetros muestran valores más elevados para el suelo de olivar (SO) que para el de vega (S) lo que indica un menor grado de humificación y estabilización de la m.o. del segundo posiblemente debido a su carácter eluvial y la presencia de una capa freática que da lugar a condiciones alternativamente oxidantes y reductoras.

Tabla II.7. Distribución del carbono del suelo y enmiendas, estériles y no estériles, en sus distintas fracciones orgánicas.

	HIDR	LIP	AH	AF	Humina ^a	AH	AH/AF
	g C (100 g C) ⁻¹					(%)	
S	0	0,27	6,72	16,66	76,35	28,72	0,40
SO	0	0,19	25,96	11,22	62,63	69,82	2,31
A	9,56	10,44	13,73	14,52	51,75	48,59	0,95
V	3,22	0,33	27,56	9,62	59,27	74,12	2,86
C	5,96	0,04	14,68	7,67	71,65	65,68	1,91
S_{est}	0	0,30	4,74	20,36	74,60	18,89	0,23
SO_{est}	0	0,15	22,99	5,96	70,89	79,41	3,89
A_{est}	12,53	8,92	6,49	14,30	57,75	31,20	0,45
V_{est}	1,82	0,20	26,49	8,98	62,51	74,68	2,95
C_{est}	4,83	0,03	14,07	5,35	75,72	72,46	2,63

HIDR = hidrosoluble; LIP: lípidos; AH: ácidos húmicos; AF: ácidos fúlvicos.

^a La cantidad de carbono en la fracción humina se calcula por diferencia del COT con el carbono del resto de las fracciones.

Para las enmiendas, el mayor porcentaje de AH lo encontramos en el compost y vermicompost lo que se traduce en un mayor nivel de humificación que el alperujo, además de un mayor grado de estabilización de la m.o., alcanzándose valores para este parámetro de aproximadamente 75% para el vermicompost y 65% para compost.

El grado de polimerización (AH/AF) aumenta en el sentido V>C>A, lo cual refleja un mayor contenido en AH (claro signo de humificación) en el vermicompost y compost que en el alperujo y un menor contenido en compuestos no humificados, incluida la fracción de AF.

3.5. ANÁLISIS ELEMENTAL DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS

La composición elemental de los AH de un suelo normalmente varía entre los siguientes niveles C (50–60 %), H (4–6 %), O (30–35 %), N (2–6 %) y S (0–2 %) (Stevenson, 1982). La composición elemental de los suelos y enmiendas empleados se encuentra dentro de estos límites o muy próximos a ellos, a excepción de la concentración de O en los suelos y la de H en el alperujo que toman valores por encima de los límites establecidos (Tabla II.8).

La fracción AH del suelo de olivar presenta mayor concentración de C y menor de O que el suelo de vega lo que se traduce en un mayor grado de aromatización (menor H/C) y menor grado de oxigenación (menor O/C) (Tabla II.8). Estos resultados junto con la pequeña disminución en el contenido en N de SO respecto a S indican una mayor humificación de los AH del suelo de olivar (Stevenson, 1982).

Tabla II.8. Análisis elemental orgánico de los ácidos húmicos (libres de cenizas) y relaciones entre el contenido de los distintos elementos para los suelos y las enmiendas, estériles y no estériles .

AH	C	H	O	N	S	C/N	relaciones atómicas	
							H/C	O/C
S	44,1	4,9	46,2	4,5	0,2	9,9	1,34	0,79
SO	49,7	5,2	40,6	4,2	0,3	11,8	1,26	0,61
A	58,2	7,5	31,1	2,9	0,2	19,9	1,55	0,40
V	52,2	5,4	38,4	3,5	0,5	14,9	1,24	0,55
C	51,3	6,4	37,3	4,6	0,4	11,0	1,49	0,54
S _{est}	49,2	4,7	41,3	4,5	0,4	11,0	1,15	0,63
SO _{est}	52,3	4,9	38,5	4,0	0,32	13,2	1,13	0,55
A _{est}	61,2	7,8	28,6	2,1	0,2	29,0	1,54	0,35
V _{est}	61,8	5,7	27,8	4,0	0,7	15,4	1,10	0,34
C _{est}	51,0	6,0	37,9	4,5	0,5	11,3	1,42	0,56

El proceso de compostaje y vermicompostaje produce una ligera disminución en la concentración de C e H y un aumento en la concentración de O y N de los AH del material de partida (Sánchez-Monedero, 2002). Tomando como referencia la composición elemental de los AH del alperujo (Tabla II.8) se observa que en el vermicompost el porcentaje de disminución de C e H fue de 10% y 28 %, respectivamente, mientras que para el compost la disminución fue del 12 % para el C y del 15 % para el H. Por su parte, la concentración de O aumenta en un porcentaje de 23 % y 20 % para el vermicompost y compost, respectivamente. El contenido en N en los AH aumenta un 21% en el vermicompost y un 59% en el compost respecto al alperujo (Tabla II.8, Figura II.6). Como consecuencia de esto, la relación O/C es mayor en las enmiendas maduras indicando una mayor oxigenación de las sustancias húmicas, mientras que las relaciones C/N y H/C presentan valores más bajos lo que sugiere un incremento en el contenido en compuestos nitrogenados y en la aromaticidad de los AH del compost y vermicompost frente a sus homólogos en el alperujo (Tabla II.8, Figura II.6). El aumento en la concentración de N en los AH extraídos después de los procesos de compostaje y vermicompostaje podría ser debido a la gran resistencia de los complejos entre el nitrógeno y el núcleo húmico (Miikki et al., 1997), lo que produce un relativo enriquecimiento en compuestos nitrogenados incorporados a las sustancias húmicas por la condensación de proteínas, ligninas modificadas y aminoazúcares (Stevenson, 1982).

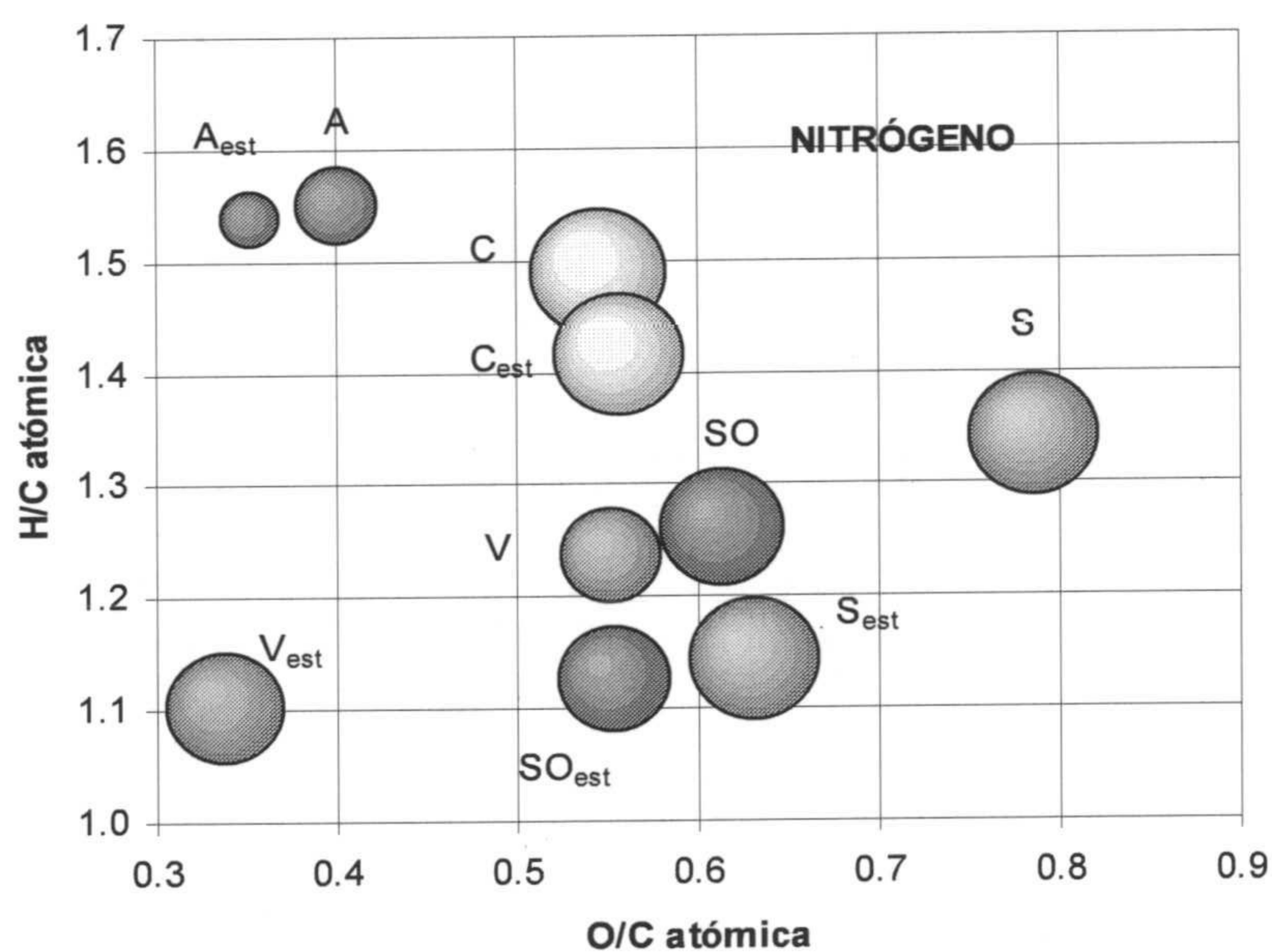


Figura II.6. Comparación de las relaciones atómicas H/C (eje Y) y O/C (eje X) y del contenido en N elemental (tamaño círculos) de los AHs de suelos y enmiendas estériles y no estériles.

Otros autores (Kakezawa et al., 1992; Miikki et al., 1997; Sánchez-Monedero, 2002) también han encontrado ligeras diferencias en la composición elemental de la fracción de AH producidas por los procesos de compostaje de residuos orgánicos.

Si comparamos los resultados del análisis elemental de las enmiendas con los de los dos suelos (Tabla II.8, Figura II.6) observamos que el vermicompost y el compost presentan valores más próximos a los de los suelos que a los del alperujo, destacando la baja relación H/C (gran aromaticidad) del vermicompost, del orden de la encontrada en los suelos.

En general, la degradación de sustancias con menor grado de humificación y una estructura más alifática (mayor relación H/C) como carbohidratos, polisacáridos, lípidos, alcoholes y proteínas de lugar a un aumento en el contenido en C de las sustancias húmicas y una disminución en el contenido en oxígeno (Stevenson, 1982). Basándonos en esto, podemos afirmar que el grado de humificación de la fracción AH sigue el siguiente orden $A < C \leq V < S < SO$.

3.6. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

3.6.1. INTERPRETACIÓN DE LOS ESPECTROS DE INFRARROJO DE LOS SUELOS.

La Figura II.7 muestra los espectros obtenidos para el suelo de la vega (S) y el de olivar (SO) y los valores de densidad óptica de los picos que se han considerado más significativos. La mayoría de las bandas corresponden a minerales de la arcilla, como era de esperar dado el bajo contenido en m.o. de estos suelos y son las mismas para los dos suelos (Figura II.8) lo que indica composiciones similares.

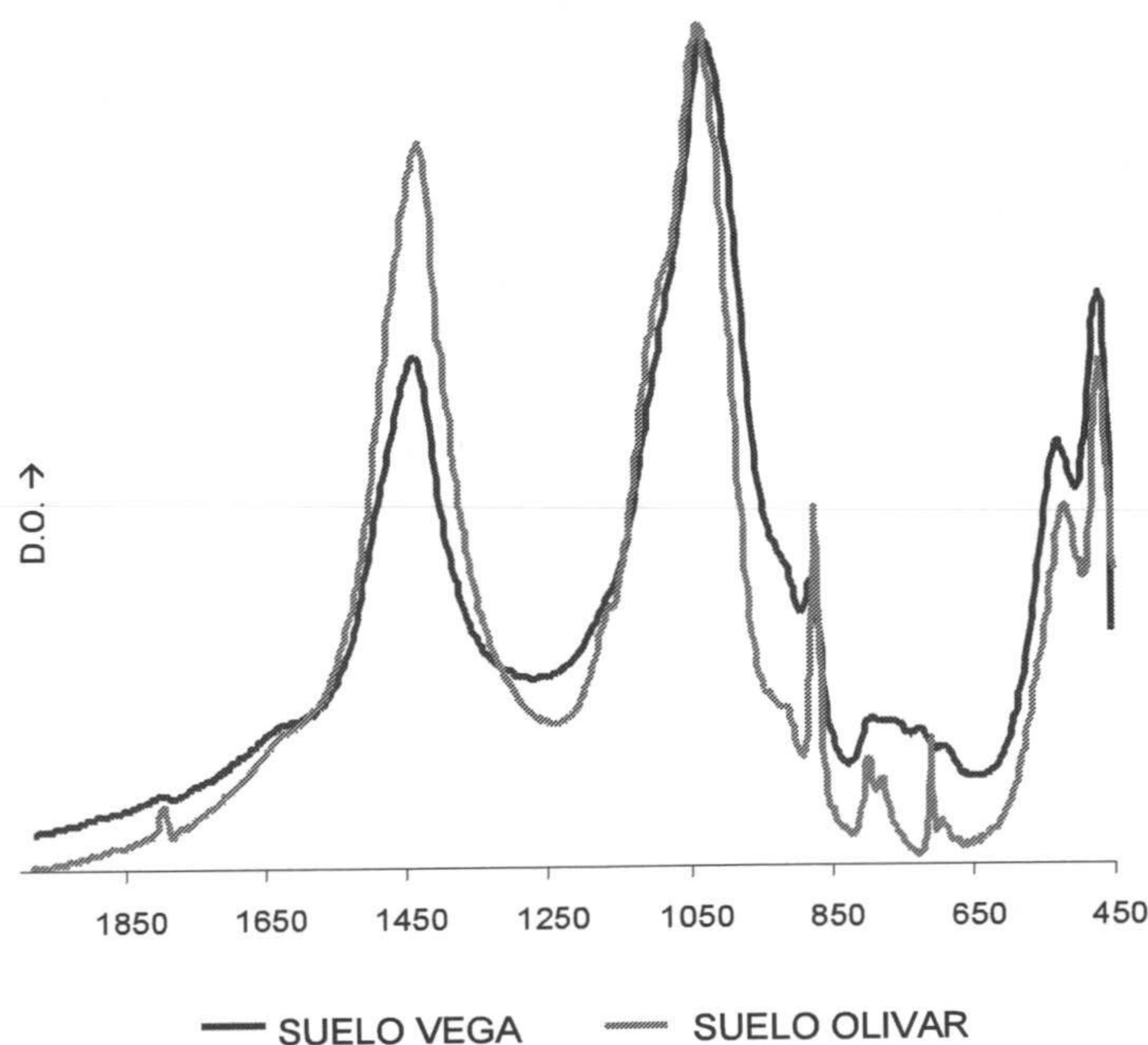


Figura II.8. Comparación de los espectros de IR del suelo de vega y de olivar

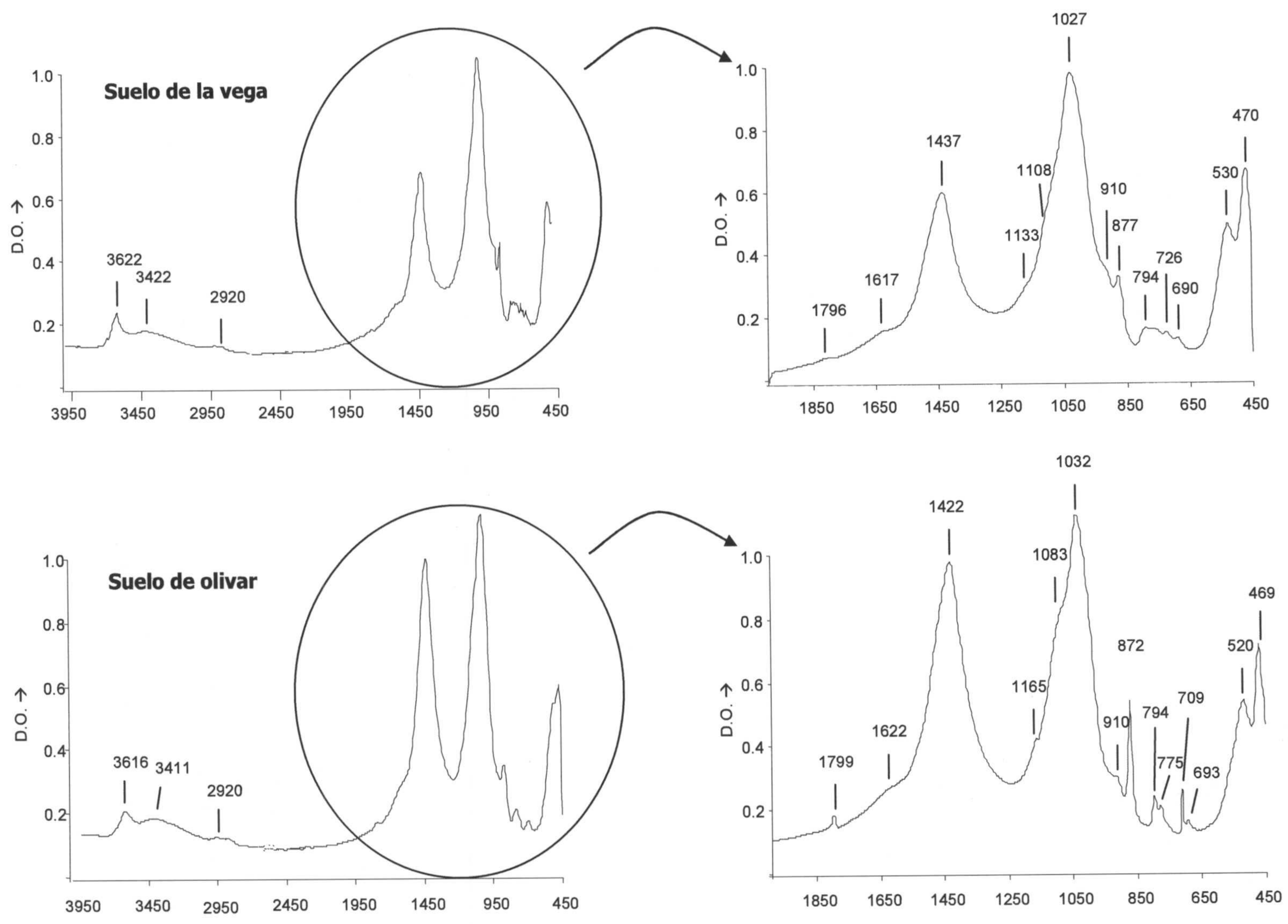


Figura II.7. Espectros de infrarrojos de suelo de la vega y suelo de olivar.

Las dos primeras bandas constituyen una forma típica en las esmectitas y vermiculitas, consistente en una banda principal estrecha a **3622 (S) cm^{-1}** y **3616 (SO)**, correspondiente a la vibración de tensión (stretching) de los OH enlazados a los cationes de la capa octaédrica, fundamentalmente Al^{3+} , y otra más ancha cerca de **3400 cm^{-1}** , correspondiente a los grupos hidroxilo que participan en los enlaces por puentes de hidrógeno $\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$.

Si nos fijamos en el espectro de resolución aumentada, obtenido mediante procedimientos derivatográficos, antes de estas bandas, aparece otra a **3699 cm^{-1}** característica de caolinita.

La banda que aparece a **2920 cm^{-1}** en los dos suelos, junto con la que se observa a **2866 cm^{-1}** cuando se aplica el espectro de resolución mejorada, corresponden al doblete de carbono alifático.

Las bandas de **1796 cm^{-1}** en el suelo de la vega y **1799 cm^{-1}** en el suelo de olivar corresponden a los ácidos carboxílicos (COOH).

La vibración O-H de flexión (bending) del H_2O aparece en torno a **1620 cm^{-1}** .

La banda que se observa a **1437 cm^{-1}** y **1422 cm^{-1}** en el suelo de vega y el suelo de olivar, respectivamente, junto con la banda en torno a 877, son características de la calcita, que suele aparecer en el suelo junto con las esmectitas.

En la zona entre **1000–1200 cm^{-1}** aparecen dos bandas características de la esmectita. La más intensa, aparece en torno a **1030 cm^{-1}** , y es característica de la vibración de tensión del enlace Si–O–Si en las montmorillonitas (Goodman, 1976).

A frecuencias mayores, correspondientes al número de ondas entre **920–622 cm^{-1}** , aparecen generalmente un conjunto de 4 ó 5 bandas de baja intensidad a **910** (Al_2OH), en torno a **878** (AlOHFe) (Farmer, 1974), **794** (FeOHFe) y en torno a **690** (Mg-OH).

La banda que aparece a **794 cm^{-1}** es la indicativa de que existe una cantidad considerable de Fe^{3+} en la capa octaédrica, suele ir acompañada de otra banda de deformación a **890 cm^{-1}** correspondiente a la vibración $\text{AlFe}^{3+}\text{OH}$ pero a veces se encuentra enmascarada.

Las bandas que aparecen a **792 cm^{-1}** y **796 cm^{-1}** en el espectro del suelo de vega y de olivar, respectivamente, son características, junto con la banda que aparece en torno a **775 cm^{-1}** del cuarzo.

Por último entre **530–465 cm^{-1}** aparecen 2 bandas de intensidad equivalente, a **520** y **470 cm^{-1}** correspondientes a la vibración de los enlaces Si–O–Al en la capa octaédrica y Si–O en la capa tetraédrica respectivamente.

3.6.2. INTERPRETACIÓN DE LOS ESPECTROS DE INFRARROJOS DE LAS ENMIENDAS.

En las Figuras II.9 se observa el espectro de IR del alperujo. El espectro de resolución mejorada del alperujo puede verse en la Figura II.10. La asignación de las bandas del alperujo se describe a continuación:

La banda ancha que aparece sobre los **3400 cm⁻¹** corresponde a la tensión O-H de los grupos alcohólicos, fenólicos o carboxílicos.

La señal que aparece a entre **2933 cm⁻¹** y **2902 cm⁻¹**, corresponde, junto con el hombro en torno a **2850 cm⁻¹** a la tensión del C-H alifático.

En el espectro de IR del alperujo aparece una banda a **1733 cm⁻¹**. En el espectro de resolución mejorada (Figura II.10), esta banda se descompone en otras dos a **1737 cm⁻¹** y **1716 cm⁻¹**, la primera es típica de ésteres, mientras que la segunda es típica de la tensión C=O de grupos carboxilos alifáticos.

La absorción entre **1630-1645 cm⁻¹** es característica de la vibración C=C del carbono aromático.

Si analizamos el espectro de resolución mejorada (Figura II.10) observamos una banda a **1541 cm⁻¹** correspondiente a la flexión N-H en amidas.

La banda alrededor de **1510 cm⁻¹** representa el enlace C=C en carbono aromático.

La señal entre **1460-1420 cm⁻¹** es generada por los radicales -CH-, -CH₂- y CH₃ y a **1460 cm⁻¹** (espectro de resolución mejorada) por la flexión en tijera del enlace C-H alifático.

La banda que aparece a **1386 cm⁻¹** en el alperujo corresponde a carboxilatos y sales.

La absorción entre **1250-1270 cm⁻¹**, a menudo se atribuye a la tensión CH y OH del grupo carboxílico, pero también a la tensión C-O de ésteres.

La banda ancha que se observa entre **1020 y 1040 cm⁻¹** es característica de los enlaces Si-O-Si de silicatos y de polisacáridos.

Finalmente, la señal a **875 cm⁻¹**, presente en todas las enmiendas, corresponde a constituyentes minerales (bicarbonato amónico).

En la Figura II.11 se comparan los espectros de IR de las tres enmiendas (alperujo, compost y vermicompost). Las bandas marcadas con los números de onda a los que aparecen corresponden al alperujo. Si analizamos los espectros del compost y vermicompost (Figura II.12) en relación al del alperujo (Figura II.9) podemos llegar a las siguientes conclusiones:

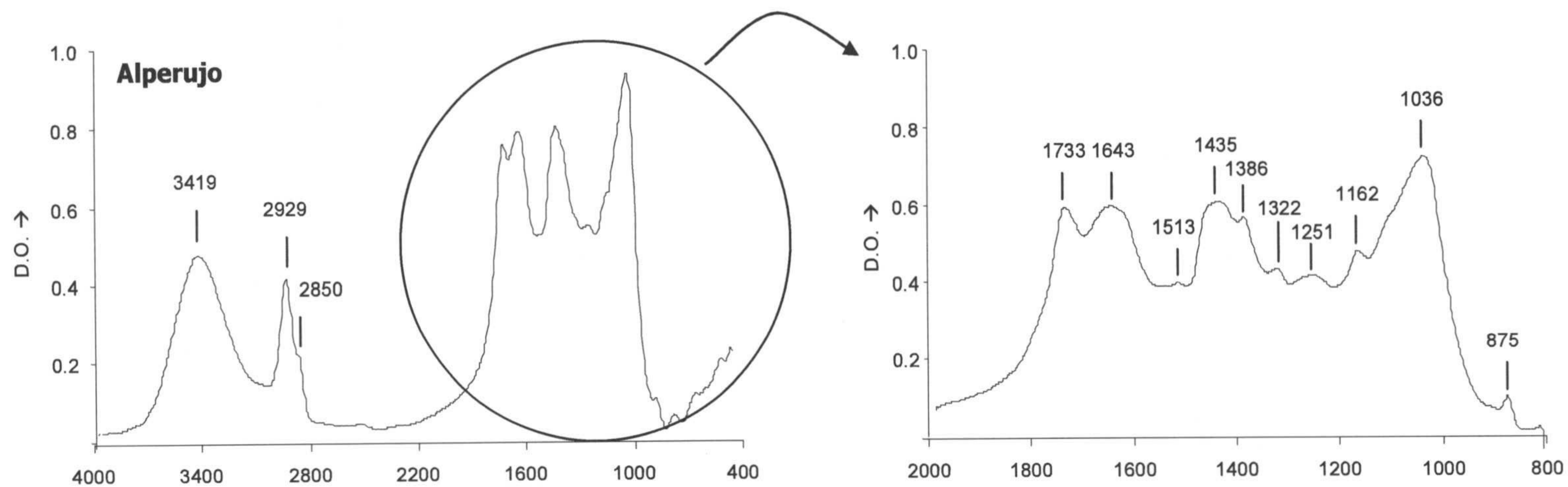


Figura II.9. Espectros de infrarrojos de alperujo (A).

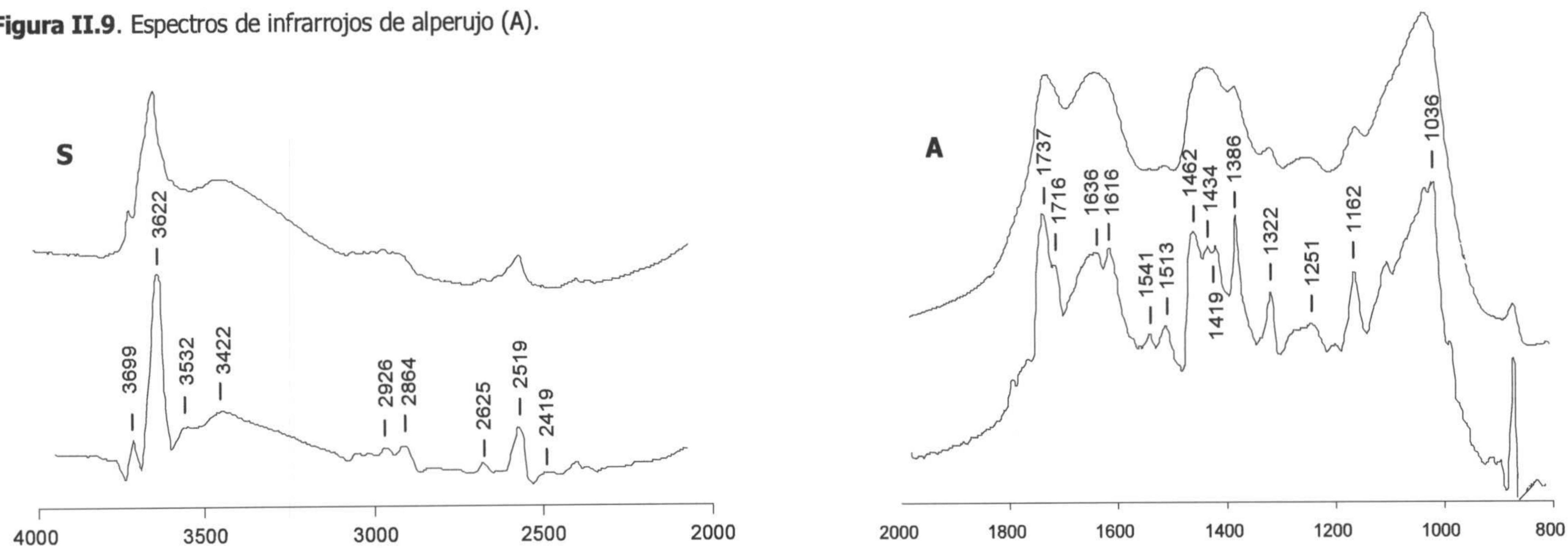


Figura II.10. Espectros de infrarrojos superpuestos a los correspondientes espectros de resolución mejorada del suelo de la vega (S) y del alperujo (A).

Los espectros de IR de las tres enmiendas muestran un mismo patrón en cuanto a las bandas de adsorción lo que indica que no se producen cambios cualitativos importantes durante los procesos de compostaje y vermicompostaje (Figura II.11). Los cambios durante estos procesos afectan principalmente a la intensidad de las bandas. Ait Baddi et al. (2004) también obtuvieron espectros similares cuando analizaron los espectros de IR del compost de alperujo en diferentes estados de maduración, llegando a la conclusión de que el incremento en el tiempo de compostaje no produce grandes cambios en la composición del compost

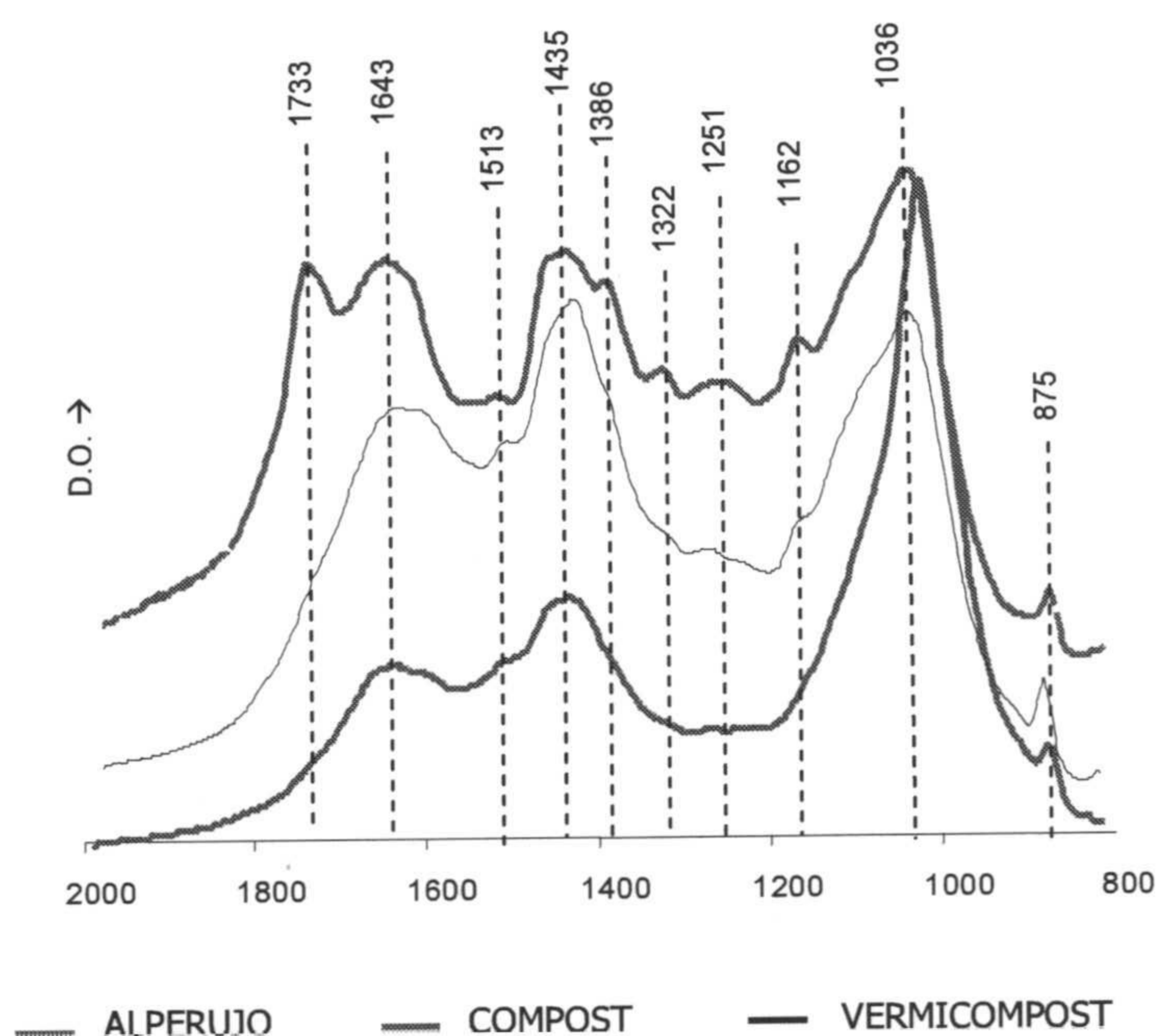


Figura II.11. Comparación de los espectros IR de las enmiendas.

Si tenemos en cuenta la intensidad de las bandas observamos los siguientes hechos:

La banda que aparece entre 2933 cm^{-1} y 2902 cm^{-1} decrecen en el sentido alperujo, vermicompost y compost lo que corresponde a la degradación de las estructuras alifáticas en los productos biotransformados, siendo esta degradación más intensa en el compost que en el vermicompost.

La banda a 1733 cm^{-1} , típica de la tensión C=O de grupos carboxilos alifáticos, que aparece en el espectro del alperujo, desaparece en los espectros del compost y vermicompost. La disminución en grupos carboxílicos, la cual no suele ser frecuente en el material compostado, puede explicarse por la rotura de ésteres dando lugar a material alquílico y a la persistencia de grupos carboxílicos libres (Ait Baddi et al., 2004).

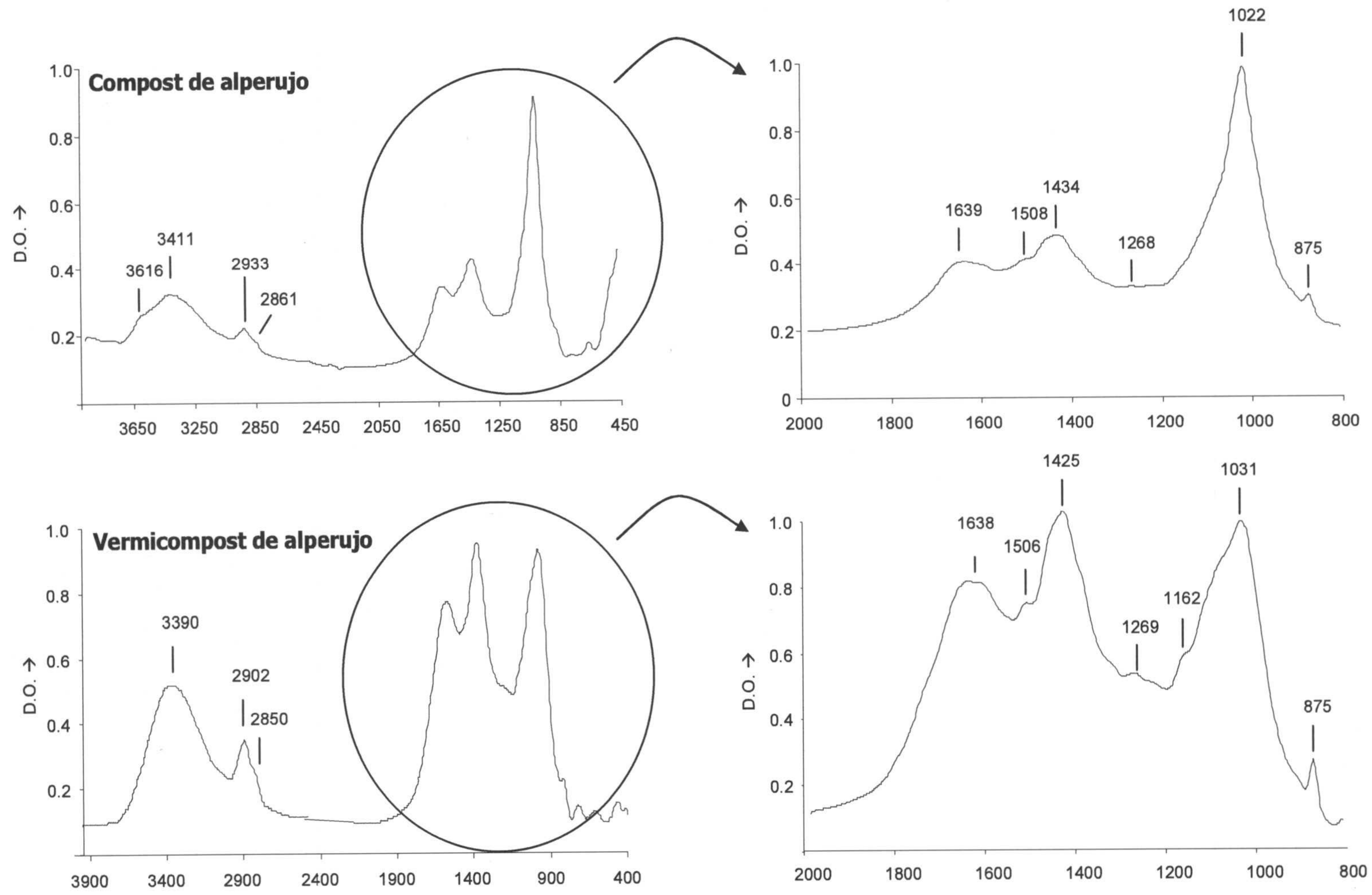


Figura II.12. Espectros de infrarrojos de compost (C) y vermicompost de alperujo (V).

El pico a **1541 cm⁻¹** correspondiente a la flexión N-H en amidas, decrece en las enmiendas compostadas o vermicompostadas lo que explica la degradación de las estructuras peptídicas.

La relación entre la intensidad de la banda que aparece entre **2900–2940 cm⁻¹** (tensión C–H alifática) y la que aparece a **1510 cm⁻¹** (C=C aromático) da idea del grado de aromaticidad de las muestras. Los valores obtenidos para esta relación son 0,91, 0,75 y 0,72 para el alperujo, vermicompost y compost, respectivamente, lo que muestra la mayor aromaticidad de las enmiendas biotransformadas respecto al alperujo. Este incremento en estructuras aromáticas confirma lo observado en el fraccionamiento de la m.o. (relación AH/AF) y en el análisis elemental de los AH.

3.7. SUELOS ENMENDADOS

A partir de los resultados obtenidos del fraccionamiento de la m.o. podemos calcular el aporte *teórico* de las enmiendas a las distintas fracciones orgánicas del suelo (Figura II. 13).

En el suelo de vega enmendado con A, V y C, la mayor parte de la fracción de AH provendría de las enmiendas (aprox. 87%, 88% y 77% en el caso del A, V y C, respectivamente). No ocurre así, en el suelo de olivar con una m. o más evolucionada, dónde el A y V aportan aproximadamente el 50% de la fracción de AH, mientras que el C aporta el 32%.

El alperujo es la enmienda que aporta más humina, AF, lípidos y fracción hidrosoluble a ambos suelos.

Las fracciones hidrosoluble y lipídica de los suelos enmendados proceden exclusivamente de las enmiendas.

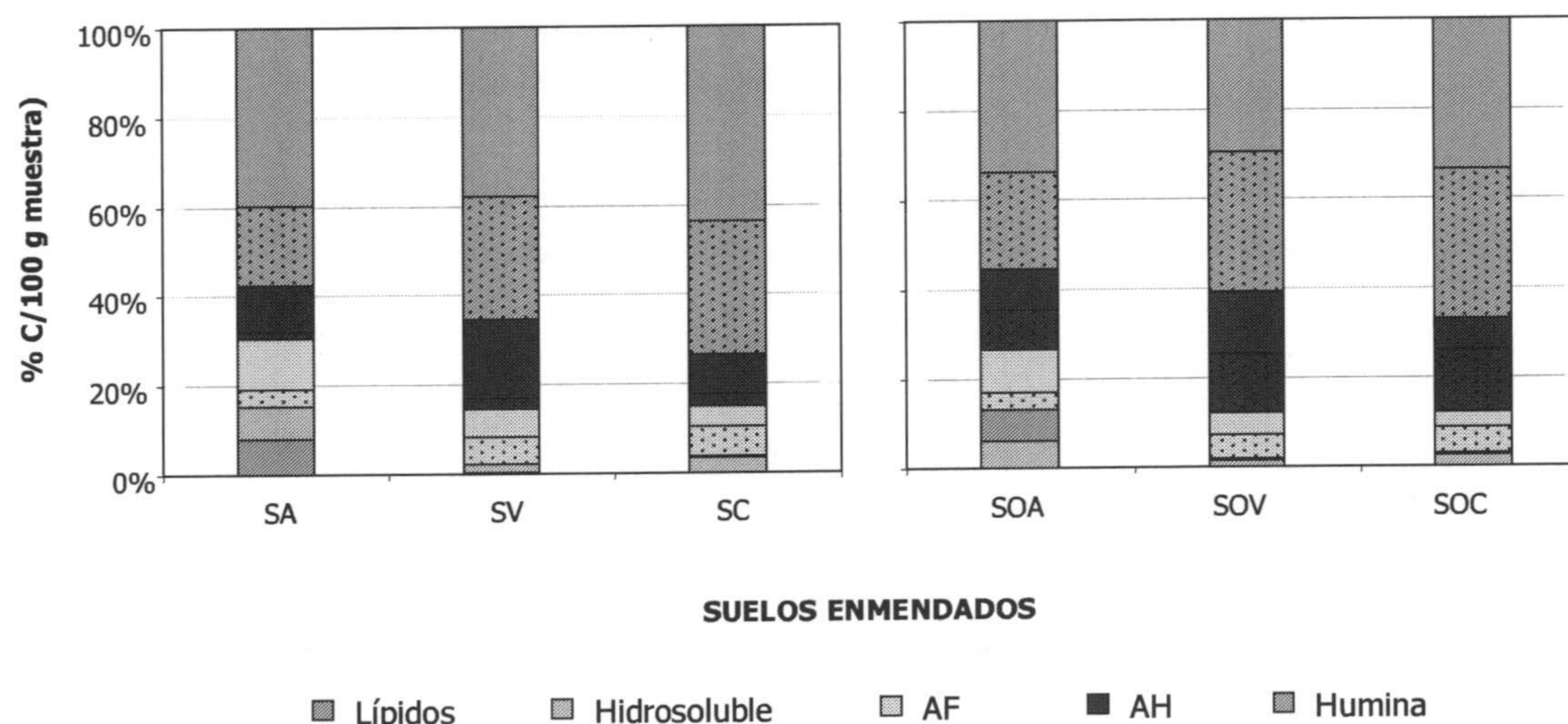


Figura II.13. Aporte de carbono de las distintas fracciones orgánicas de las enmiendas (barras sin puntear) a las fracciones orgánicas de los suelos (barras punteadas) en suelos enmendados con alperujo (A), vermicompost (V) y compost de alperujo (C). S :suelo vega; SO: suelo olivar.

3.8. ESTERILIZACIÓN DE SUELOS Y ENMIENDAS

Según la bibliografía todos los métodos de esterilización llevan consigo la alteración de las propiedades del suelo (Wolf et al., 1989) (Tabla II.9). La ventaja del empleo de los métodos de esterilización, es que consiguen distinguir la degradación química y microbiológica del plaguicida en el suelo.

La importancia de la elección del método de esterilización empleado ha sido descrita por algunos autores (Guth, 1981; Tuominen et al., 1994; Berger y Wolfe, 1996). Aronstein et al. (1991), proponen el método de autoclavado o irradiación del suelo para no cambiar las propiedades físico-químicas de éste. Otros autores (Wolf et al., 1989; Tuominen et al., 1994) recomiendan, por el contrario, la esterilización química (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.

Tabla II.9. 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"> - Puede inducir cambios en el pH (Tuominen y col., 1994; Berger y Wolfe, 1996). - Las altas presiones y temperaturas alteran las superficies del suelo y descomponen la m.o. del suelo. - Destruye el sistema generador de radicales libres del suelo.
γ - irradiación	<ul style="list-style-type: none"> - Disminuye la actividad enzimática de microbios y plantas. - Destruye el sistema generador de radicales libres del suelo.
Esterilización química	<ul style="list-style-type: none"> - La adsorción de elevadas cantidades de producto puede alterar las propiedades químicas y de adsorción del suelo. - En función de la cantidad empleada, pueden no eliminarse por completo los microorganismos del suelo. - Puede modificar el pH del suelo o enmienda.

El método de esterilización por gamma (γ) es, en general, el que menos modifica la estructura fisicoquímica del suelo, sin embargo, 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 et al., 1994).

A la vista de que no existe consenso respecto al método de esterilización más eficaz y que produzca menos modificaciones del sustrato, se eligió para el estudio que nos ocupa, el método de autoclavado. Los métodos de esterilización química se descartaron por que podían originar interferencias con los plaguicidas estudiados y la no disponibilidad en nuestro laboratorio de un sistema de esterilización por radiación γ determino que no se usara este método.

El método de autoclavado resulto eficaz en la destrucción de microorganismo y esporas en un 80% de las muestras durante 1 mes que duró el ensayo (Figura 14).

El pH de las muestras estériles no se modifica (Anexo I, Tabla 4) respecto a sus homólogas sin esterilizar (Anexo I, Tablas 1 y 3).

El fraccionamiento de la m.o. de suelo y enmiendas estériles muestra variaciones en su composición respecto a los no estériles sin que pueda establecerse un patrón de comportamiento (Tabla II.7, Figura II.5).

Por otro lado, el análisis elemental de los AHs de los sustratos esterilizados refleja que el autoclavado ha tenido un efecto de deshidratación y descarboxilación. Las muestras tienden a aromatizarse (disminuye la relación H/C) y a perder grupos OH y COOH (disminuye la relación O/C) (Tabla II.8, Figura II.3). Ambas tendencias son típicas de la hidrólisis en agua o con ácido (Haworth, 1971). En el compost no se observan cambios.

Desde el punto de vista de la adsorción de plaguicidas, el efecto de los cambios experimentados por el suelo y las enmiendas en el proceso de esterilización es impredecible pero parece que el material húmico se vuelve más hidrófobo y que podría facilitar la porción de determinadas moléculas liposolubles.

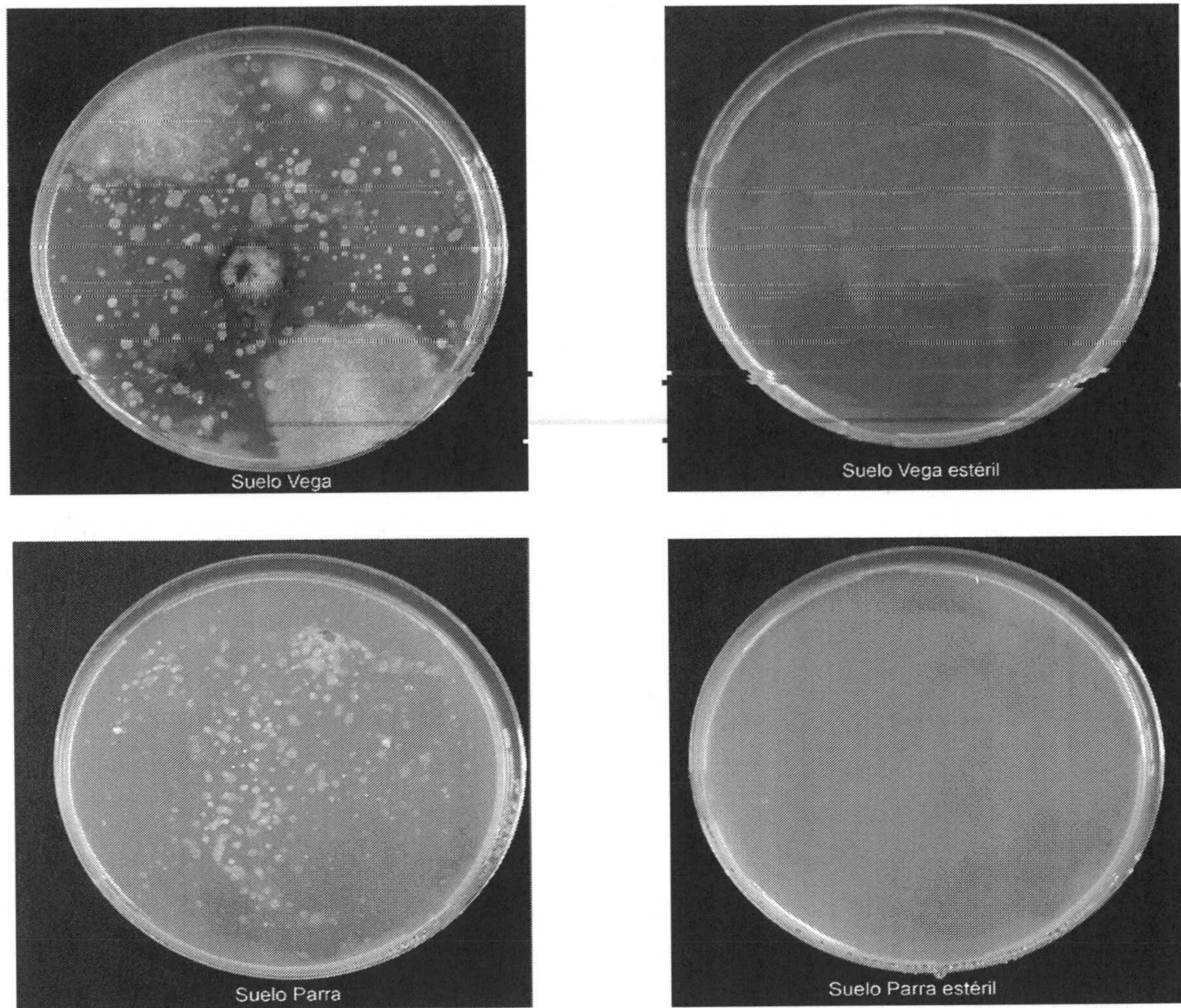


Figura II.14.a. Eficacia del método de esterilización en muestras de suelo. Comparación de suelos sin esterilizar con los esterilizados a vapor fluente.

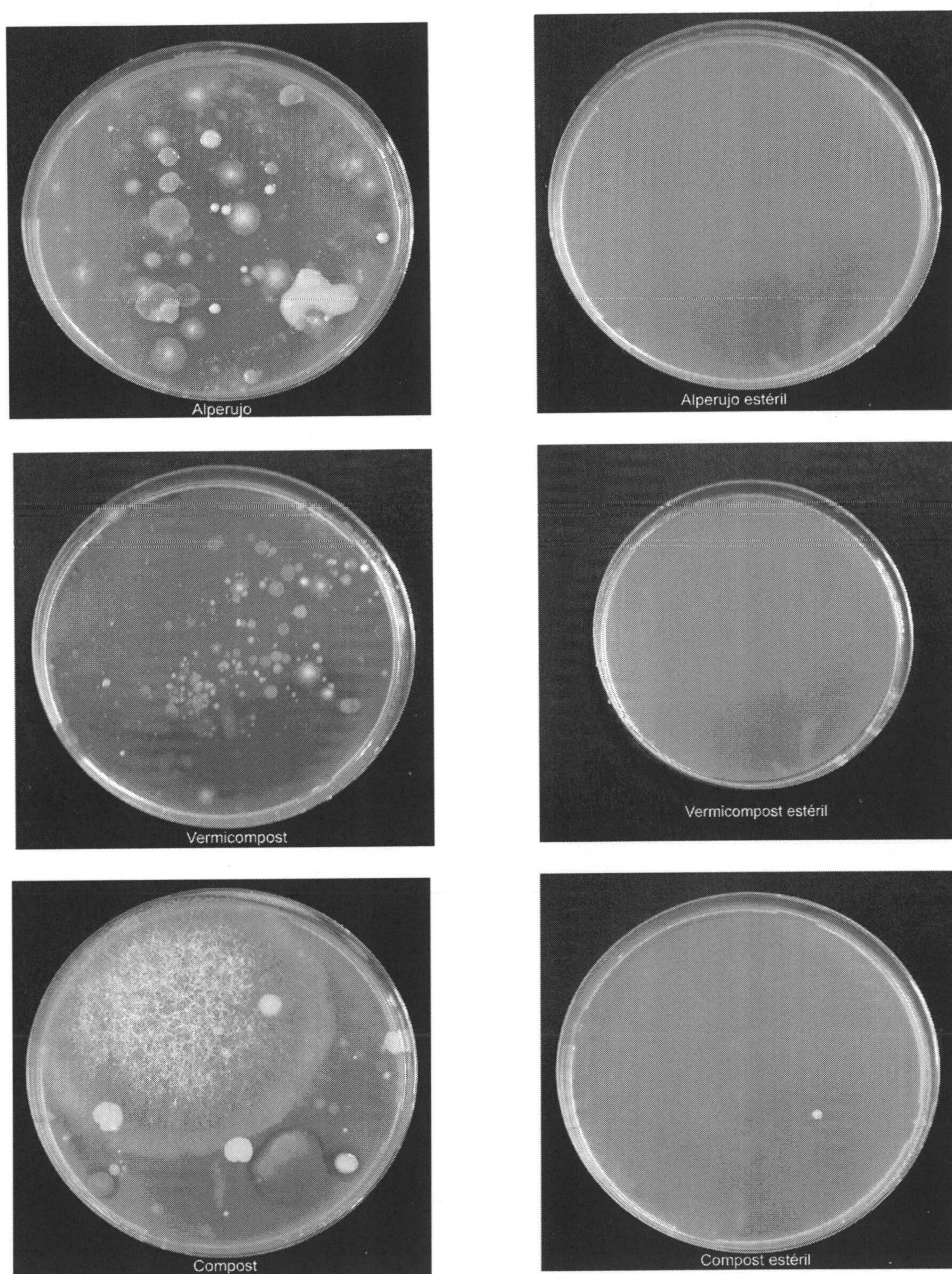


Figura II.14.b. Eficacia del método de esterilización en muestras de suelo. Comparación de enmiendas sin esterilizar con los esterilizados a vapor fluyente.





CAPÍTULO III

ADSORCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

De todos los factores implicados en la dinámica de plaguicidas en el suelo referidos en la introducción de este trabajo, la adsorción-desorción es el más importante por influir directa o indirectamente en la magnitud y efecto de los otros. Así, este fenómeno controla la disponibilidad del herbicida para las plantas y microorganismos del medio edáfico y su persistencia, y repercute en su movimiento a lo largo del perfil del suelo (Sánchez Martín y Sánchez Camazano, 1984).

La adsorción de herbicidas por el suelo y sus constituyentes ha sido ampliamente estudiada (Hamaker y Thompson 1972, Calvet 1989). Sin embargo su descripción aún no está completa dada la complejidad de los componentes del suelo y la gran variedad de moléculas de plaguicidas. Chiou et al. (1979) postularon, que e la adsorción consiste en el reparto del soluto entre las fases vapor y solución del suelo, y las partículas del suelo. Boyd et al. (1990) utilizan esta teoría para explicar la adsorción de benceno, etil benceno y 1,2,3-triclorobenceno en residuos de cultivo. Sin embargo, Mingelgrin y Gerstl (1983) demuestran que aunque el fenómeno de reparto es en parte responsable de la adsorción en el suelo, éste no puede ser considerado como universal y único mecanismo de adsorción.

La naturaleza de las interacciones entre el suelo y los plaguicidas depende tanto de las propiedades de los plaguicidas como de la composición y características del suelo. La mayoría de los estudios realizados coinciden en que la arcilla y la materia orgánica del suelo son los principales responsables de la adsorción-desorción de moléculas orgánicas neutras (Romero y col, 1996, Beck y Jones, 1996; Wauchope et al., 2002). Sin embargo, otros factores pueden afectar a este fenómeno. Por ejemplo el pH del suelo modifica la geometría de microcompartimentos y afecta a la difusión de las moléculas de plaguicida. En el caso de ompuestos ionizables, su adsorción está fundamentalmente determinada por el pH del medio (Barriuso et al., 1992; Koskinen et al. 1996; Dubus et al., 2001), si bien, a valores bajos de pH, la adsorción de estos compuestos también está influenciada por el contenido en carbono orgánico (Bresnahan et al., 2002).

La desorción de plaguicidas es un proceso menos estudiado que la adsorción pero resulta de gran importancia para cuantificar el transporte en el suelo de estos compuestos orgánicos. Dado que las reacciones de adsorción no siempre se producen mediante uniones reversibles, se observa a menudo un cierto grado de histéresis en los estudios de adsorción-desorción en suelo (Barriuso et al., 1992, Celis et al., 1998, Cavanna et al., 1998). El grado de irreversibilidad de la adsorción juega un papel importante a la hora de determinar el movimiento de un plaguicida en el suelo. Surgen, por tanto, cuestiones clave en el papel de la materia orgánica exógena y de los propios componentes del suelo en la retención de plaguicidas: ¿constituye la fase sólida del suelo un reservorio permanente de compuestos

xenobioticos o meramente los retiene de forma temporal pudiendo lixiviar nuevamente hacia aguas subterráneas?, ¿cuál es la dimensión temporal de este fenómeno?.

Uno de los problemas más importantes en las áreas agrícolas del sur de España es el bajo contenido en materia orgánica de los suelos. Por ello, las prácticas agrícolas en estas zonas incluyen la adición de enmiendas orgánicas como estiércol o residuos lignocelulósicos para mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo. Estos aportes exógenos generan cambios en las propiedades químicas de la solución del suelo y modifican la composición de la materia orgánica lo que repercute en el comportamiento de los xenobióticos en el suelo (Cox et al., 1997, Morillo et al., 2002, Guo et al., 1993).

En este trabajo, el estudio del fenómeno de adsorción en suelo de herbicidas triazínicos y sulfonilureicos, abarca la realización de cinéticas de adsorción de suelo sin enmendar y enmendado con subproductos de la industria del olivar y la realización de isotermas de adsorción y desorción con objeto de determinar en que medida las enmiendas mejoran la capacidad de retención del suelo frente a los herbicidas estudiados y dificulta su desorción. Asimismo, se realizaron estudios de adsorción en las distintas fracciones orgánicas del suelo con el fin de determinar la aportación de cada una a este fenómeno.

1.1. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN. GENERALIDADES.

El estudio cinético del fenómeno de adsorción-desorción es importante porque permite determinar el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio entre el plaguicida que permanece en solución y el adsorbido en la superficie del suelo. Distintos investigadores de las últimas décadas se han preguntado si el coeficiente de distribución (K_d) entre la fase sólida y la fase en solución representa un verdadero equilibrio (Pignatello y Xing, 1995). En la mayoría de casos, la adsorción o liberación de compuestos orgánicos en partículas naturales se rige por una función bimodal, un proceso rápido seguido por una fase lenta prolongada (Leenheer y Ahlrichs, 1971; Karickhoff, 1980). La fase rápida se atribuye a las reacciones fisico-químicas del soluto con la matriz o las superficies reactivas del suelo, mientras que la fase lenta es consecuencia de fenómenos de difusión molecular en los agregados del suelo (Rao et al, 1979; Calvet, 1989;; Koskinen y Harper, 1990). La división entre estas dos etapas es arbitraria pero en muchos casos ocurre en pocas horas o días (Calvet, 1989, Green y Karickoff, 1990; Wauchope y Myers, 1985) de contacto entre la solución que contiene el soluto y el sorbente.

Pavlostathis y Mathavan (1992), establecen que la velocidad de desorción de compuestos orgánicos volátiles está influenciada por el tiempo de residencia de estos compuestos en el suelo. Pignatello y Huang (1991) encuentran los mismos resultados para atrazina y metaloclor.

Para la mayoría de las aplicaciones prácticas, los ensayos en "batch", usados normalmente para medir la capacidad de sorción-desorción que presenta un suelo frente a un

determinado compuesto (ver apartado siguiente), permiten obtener coeficientes que representan adecuadamente el equilibrio a macroescala, a pesar de que no se haya alcanzado el equilibrio en los lugares de adsorción que posee el sorbente internamente (Green y Karickhoff, 1990). De cualquier modo, la hipótesis de la existencia de un estado de equilibrio es fundamental para comparar la distribución en el suelo de diferentes compuestos (Koskinen y Harper, 1990). El equilibrio se puede expresar simplemente como:

$$X = C_e \quad [1]$$

dónde X es la cantidad de plaguicida adsorbida y C_e la cantidad de plaguicida que permanece en solución.

Las cinéticas de adsorción representan la cantidad de plaguicida adsorbido frente al tiempo de contacto entre la solución que contiene el plaguicida y el suelo. Los valores experimentales obtenidos en las cinéticas de adsorción se han ajustado, en nuestro caso, a la ecuación hiperbólica [2] propuesta por Biggar et al. (1978) (Romero et al., 2000), donde X es la cantidad de plaguicida adsorbido ($\mu\text{g g}^{-1}$) al tiempo t (h), B es una constante y X_{max} la cantidad máxima de plaguicida adsorbida por el suelo. X_{max} se calcula mediante una representación lineal de la ecuación 2 considerando la cantidad adsorbida frente a los valores de tiempo, ambos a la inversa (Romero et al., 2000).

$$X = \frac{X_{\text{max}} * t}{B + t} \quad \text{ó} \quad \frac{1}{X} = \frac{B}{X_{\text{max}} * t} + \frac{1}{X_{\text{max}}} \quad [2]$$

Para el cálculo de la velocidad de reacción del proceso se emplea la ecuación de Moreale y van Bladel (1979, 194) [3]:

$$\frac{dx}{dt} = k(X_{\text{max}} - X)^n \quad [3]$$

donde 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.

1.2. ISOTERMAS DE ADSORCIÓN-DESORCIÓN. GENERALIDADES

Para suelos, sedimentos y sus constituyentes, la adsorción es el paso de un soluto desde la fase acuosa a un sorbente sólido y la desorción el proceso inverso. El soluto puede ser una molécula neutra o ionizada y el proceso puede tener lugar en los macroporos o en los microporos del sorbente (Calvet, 1989).

La compleja naturaleza de las superficies coloidales del suelo indudablemente contribuye a tener que determinar la constante de adsorción para cada suelo dependiendo de las interacciones específicas entre el soluto y los distintos componentes del sorbente.

A la hora de evaluar la adsorción debemos tener en cuenta dos aspectos, la determinación de las cantidades adsorbidas de soluto en un medio y la predicción del comportamiento del fenómeno de adsorción. El primer aspecto es un paso necesario para obtener las curvas de adsorción. El segundo, corresponde a la necesidad de entender y solucionar los problemas ambientales.

Los ensayos en batch son, como se ha dicho anteriormente, la técnica más frecuentemente usada en los estudios de adsorción (OECD, 1996). Una cantidad dada de un suelo o adsorbente (m) se mezcla con un volumen (V) de una solución de concentración conocida (C_0) mediante agitación suave para modificar lo menos posible la estructura del suelo. Después de un tiempo de contacto, determinado por las cinéticas de adsorción, la fase sólida se separa de la líquida y se determina la concentración en el equilibrio (C_e). La cantidad adsorbida, suponiendo que todo el plaguicida que no está en solución ha sido adsorbido por el suelo, se calcula con la siguiente fórmula:

$$q = \frac{V(C_0 - C_e)}{m} \quad [4]$$

El uso de los ensayos en batch tiene ventajas e inconvenientes. Entre las ventajas podemos destacar (Romero et al., 2000)

- ✓ Sistema sencillo y de bajo coste.
- ✓ Altamente reproducible.
- ✓ Posibilidad de usar distintos adsorbentes.
- ✓ Obtención de parámetros (K_f , K_d , K_{oc}) que permiten predecir el impacto de distintos contaminantes y regular su aplicación.
- ✓ Obtención de parámetros que pueden ser incluidos en modelos matemáticos de predicción.

Como inconvenientes principales se pueden enumerar los siguientes,

- ✓ Para aquellos compuestos que presentan baja adsorción se puede producir una baja precisión en las medidas (Green y Yamane, 1970 P-637).
- ✓ Las proporciones suelo/solución pueden presentar problemas para plaguicidas con baja solubilidad en agua o baja capacidad de adsorción (Boesten, 1990 en Romero et al., 2000).
- ✓ Una serie de procesos de degradación puede afectar a las medidas finales.

Varios factores influyen en las medidas de adsorción, pudiendo clasificarse en tres grupos:

- **Fenómenos que interfieren en la adsorción.** Para el cálculo de la cantidad adsorbida es importante que sólo la adsorción sea el fenómeno causante de la disminución en la concentración del soluto. Sin embargo, otros fenómenos pueden interferir y conducir a datos erróneos, por ejemplo, la degradación, la adsorción en la superficie del material de laboratorio o la volatilización y precipitación.
- **Pretratamiento de los sorbentes.** En ocasiones se aplican tratamientos a los materiales principalmente con objeto de separar determinadas fracciones o limitar la posible biodegradación que contribuyen a disminuir la concentración en solución del soluto.
- **Otros factores.** Cantidad de fase sólida, cuanto más pequeña sea la proporción de fase sólida usada en los ensayos mayor es la cantidad de soluto adsorbida por unidad de masa de sorbente; presencia de sales (CaCl_2 , CaSO_4 , etc), temperatura, proporción de solución/suelo, rango de concentraciones del soluto o tamaño de los agregados del suelo (Koskinen y Cheng, 1983, ref. 194 de la P-485).

Los dos modelos más empleados en la interpretación de los datos experimentales de las isotermas de adsorción son los modelos de Freundlich y Langmuir (Hamaker y Thompson, 1972).

La isoterma de Langmuir describe la adsorción en una superficie homogénea, en la que el proceso de adsorción se localiza en una monocapa. Según este modelo, para un soluto determinado, la cantidad adsorbida, X ($\mu\text{g g}^{-1}$), y la concentración en el equilibrio, C_e (mg L^{-1}), están relacionadas según la ecuación (Hamaker y Thompson, 1972) [5]:

$$X = \frac{K_1 * K_2 * C_e}{1 + K_2 * C_e} \quad [5]$$

donde K_1 y K_2 son constantes.

Para que esta ecuación tenga un significado físico es necesario que todos los sitios activos presenten la misma energía de adsorción (superficie homogénea), que no exista

interacción entre las moléculas del soluto y que la adsorción en una monocapa completa represente la máxima adsorción posible. En general, la ecuación de Langmuir se emplea para la adsorción de gases en sólidos o para la adsorción de compuestos desde una fase gaseosa. En el suelo, donde la situación más frecuente es que la fase líquida sea acuosa, la existencia en las superficies de adsorción, de sitios con diferentes energías debido a la naturaleza compleja y heterogénea del suelo dificulta la aplicación de este modelo principalmente en el caso de compuestos no iónicos.

La isoterma de Freundlich se utiliza cuando la adsorción del compuesto tiene lugar en una superficie heterogénea (Calvet, 1989). La ecuación [6] corresponde al modelo de Freundlich y los parámetros X y C_e tienen el mismo significado que en la ecuación [5]. K_f y n son dos constantes que dependen de la naturaleza del soluto, del sorbente y de la temperatura. La constante K_f es una medida de la magnitud de la adsorción y $1/n$ representa el grado de no-linealidad entre la concentración de soluto en solución y la adsorbida. El modelo de Freundlich se usa normalmente porque da una buena descripción de los resultados experimentales.

La ecuación [7] es la forma lineal del modelo de Freundlich.

$$X = K_f * C_e^{1/n} \quad [6]$$

$$\text{Log}X = \text{Log}K_f + 1/n * \text{Log}C_e \quad [7]$$

Cuando $1/n = 1$, el modelo de Freundlich es lineal, y la constante K_f se denomina K_d o constante de distribución lineal.

La constante K_d representa el coeficiente de distribución de cada plaguicida entre el agua y el suelo, y depende de las propiedades del suelo estudiado. Cuando la concentración adsorbida del plaguicida se expresa por unidad de carbono orgánico los valores de K_d se normalizan dividiendo por el contenido en carbono orgánico del suelo, y a este valor se le denomina K_{oc} [8]. Debido a que en la mayoría de los suelos, existe una correlación positiva entre la adsorción y el contenido en carbono orgánico (CO), K_{oc} resulta de gran utilidad a efectos comparativos. Además, se asume que el coeficiente K_{oc} es más independiente de las propiedades del suelo y constante para cada compuesto químico. De hecho, los valores de K_{oc} han sido empleados como medidas de la movilidad potencial de plaguicidas en suelo (Cohen et al., 1986; Koskinen y Harper, 1990; Cleveland, 1996; Wauchope et al., 2002).

$$K_{oc} = \frac{K_d * 100}{\%C_{orgánico}}; \quad K_{clay} = \frac{K_d * 100}{\%arcillas} \quad [8]$$

Cuando la adsorción de plaguicidas está regulada por el contenido en arcillas del suelo, se normaliza K_d dividiéndolo por el contenido en arcillas de éste, y al valor que se obtiene se le denomina K_{clay} (ecuación 8).

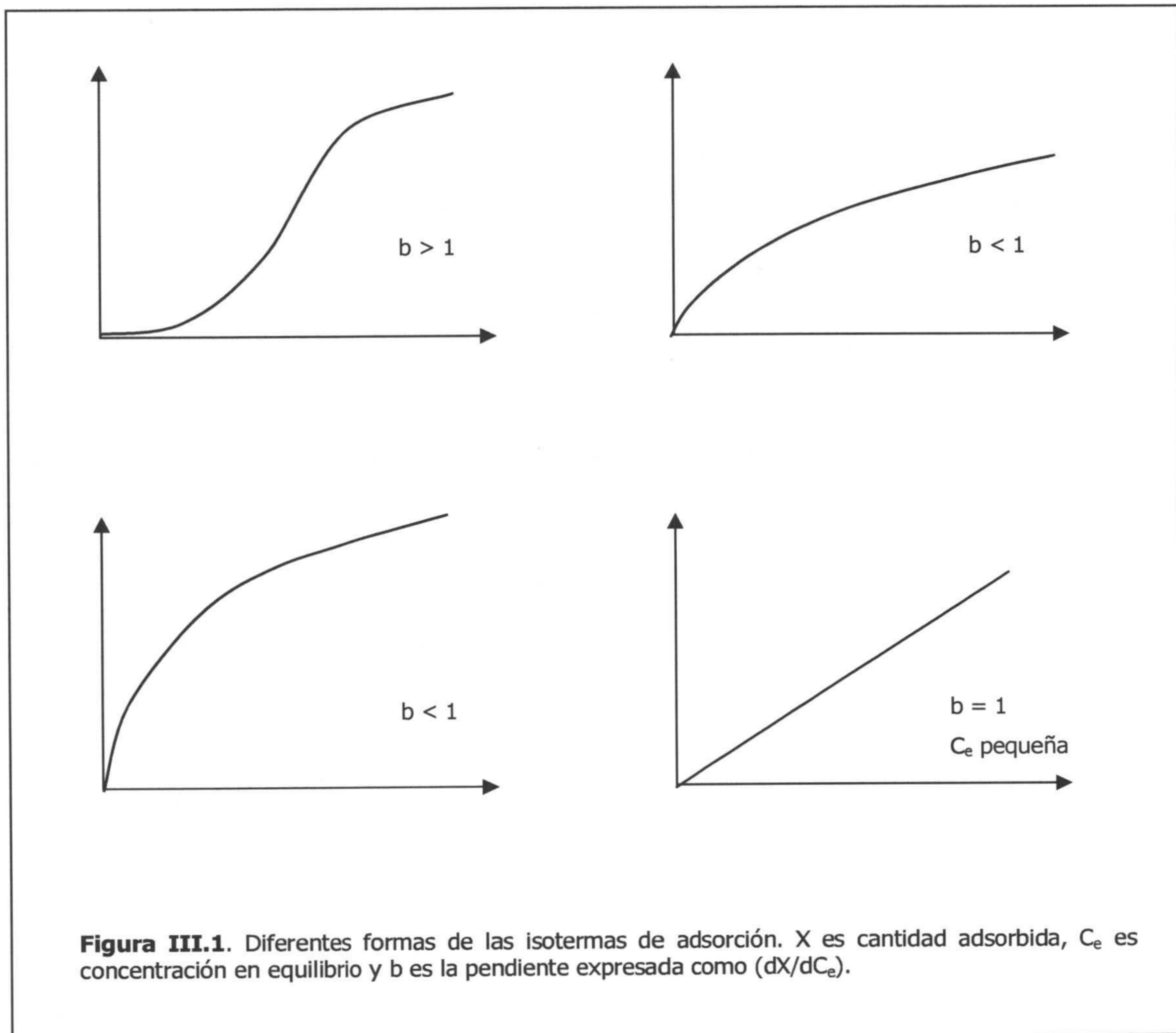
La ecuación (9) relaciona K_d y K_f

$$K_d = K_f * C_e^{\frac{1-n}{n}} \quad [9]$$

Por otro lado, la forma de la isoterma aporta información sobre el mecanismo de adsorción. Según Giles et al. (1960) las isotermas de adsorción en disolución acuosa se clasifican en los siguientes tipos (Figura III.1):

- **Isoterma tipo S.** Se produce cuando el suelo posee una menor afinidad por el soluto (plaguicida) de la que posee por el solvente (agua) existiendo una fuerte competencia entre ambos por los sitios activos del sorbente. La adsorción aumenta con el incremento en la concentración de soluto. La literatura muestra que las isotermas tipo S se observan en esmectitas (esencialmente montmorillonita) (Angemar et al., 1984; Weber et al., 1986), luego se podría sugerir que las curvas de tipo S son características de la adsorción de moléculas orgánicas en la superficie de la arcilla (Calvet, 1989).
- **Isoterma tipo L.** Se produce cuando el sorbente (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. Esto significa que existen lugares de adsorción específicos para la molécula de soluto con la interfase del suelo, no existiendo competencia con el sorbente. Este tipo de isotermas son frecuentemente observadas (Romero et al. 1996, 1997; Matallo et al., 1998; Celis et al., 1999 P-335; Sánchez et al. 2003). La adsorción tanto de cationes orgánicos como de moléculas con baja o alta solubilidad en agua siguen este modelo en diferentes sustratos, minerales u orgánicos.
- **Isoterma tipo H.** Este tipo de isotermas es un caso especial de la isoterma tipo L que 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.
- **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. Los sustratos porosos, flexibles, con regiones de diferentes grados de solubilidad para el soluto y solutos con mayor afinidad por el sustrato que por el solvente favorecen una isoterma de

este tipo. Estas condiciones las encontramos con compuestos hidrofóbicos y suelos o sedimentos ricos en materia orgánica (Celis et al. 1998 P-333; Sánchez et al. 2003).



La adsorción entre un plaguicida y el suelo no siempre ocurre mediante enlaces débiles o reversibles, en ocasiones los compuestos quedan fuertemente retenidos en la superficie del suelo de modo que su desorción no es completa lo que genera la aparición de un cierto grado de histéresis en los estudios de adsorción-desorción.

Al igual que ocurría con la adsorción, el modelo de Freundlich permite una interpretación óptima del fenómeno de desorción. Las variables y constantes de la ecuación [6] aplicada para los estudios de desorción tienen el mismo significado y las mismas unidades que las ya explicadas para las isothermas de adsorción. La única variación en este sentido es la nomenclatura de la constante de Freundlich de adsorción, K_f , que pasa a denominarse

constante de Freundlich de desorción, K_{des} y representa la magnitud del fenómeno de desorción y la constante $1/n$ que se denominará $1/n_{des}$. Según esto la ecuación de Freundlich para las isothermas de desorción quedaría de la siguiente forma:

$$X = K_{des} * C_e^{1/n_{des}} \quad [10]$$

El coeficiente de histéresis, H , se calcula según la siguiente ecuación

$$H = \frac{1/n_{des}}{1/n} \quad [11]$$

Valores de H bajos representan mayor dificultad del analito adsorbido para desorberse de la matriz del suelo (Chefetz et al., 2004).

Es importante tener en cuenta la existencia de fenómenos secundarios que pueden originar una aparente histéresis. Así por ejemplo, la degradación de los plaguicidas en el suelo, cambios en la superficie del sorbente o que no se haya alcanzado el equilibrio durante los estudios de desorción pueden dar lugar a interpretaciones erróneas.





TRIAZINAS



2.1. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.1. EXTRACCIÓN LÍQUIDO- LÍQUIDO

La extracción líquido-líquido (ELL) de soluciones acuosas de triazinas se realizó con una mezcla de disolventes orgánicos con objeto de eliminar el agua de las muestras antes de su inyección al cromatógrafo de gases. Con este método se obtiene una solución orgánica de los herbicidas estudiados.

Para soluciones acuosas de los herbicidas triazínicos de concentración superior a 4 mg L⁻¹ se tomó 1 mL de solución y se agitó, en vórtex (Heidolph Reax 2000), con 2 mL de una mezcla de hexano: tolueno (H:T) 1:1. La fase orgánica, que contenía los herbicidas, se separó de la acuosa congelando a -5 °C.

Para soluciones acuosas de triazinas de concentración inferior a 4 mg L⁻¹, se procedió a la extracción siguiendo lo descrito en el párrafo anterior pero en este caso se empleó 1 mL de H:T (1:1).

2.1.2. CINÉTICA DE ADSORCIÓN

Las cinéticas de adsorción de triazinas se realizaron en suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%). Los mismos ensayos se llevaron a cabo en suelos incubados durante 3 meses en las condiciones descritas en el apartado II.2.2.5.

Para realizar los estudios cinéticos de los herbicidas triazínicos se pesaron, en tubos Pyrex de vidrio de 25 mL, 5 g de suelo a los que se añadieron 20 mL de una solución acuosa de simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina 10 mg L⁻¹. Las muestras se prepararon por duplicado.

La mezcla una vez agitada, permaneció incubándose en cámara termostática (Selecta Hotcold-M) a 15 °C ±1 °C durante 24 h. Cada cierto intervalo de tiempo, se tomó 1 mL de sobrenadante obtenido tras centrifugar la muestra a 3000 rpm y 15 °C ±1 °C durante 15 min (centrífuga Eppendorf 5810 CR).

La alícuota de sobrenadante (1 mL) se extrae siguiendo el procedimiento de extracción líquido-líquido descrito en el apartado anterior.

La determinación analítica de las muestras se hizo por cromatografía de gases como se describe en el apartado II.2.1.2.a.

La cantidad de plaguicida adsorbido, X, (expresado en µg de plaguicida por g de suelo), se calculó por diferencia entre la concentración inicial y final del plaguicida en solución.

Los datos se ajustaron mediante la ecuación de Moreale y van Bladel (1979) [3], y del ajuste a dicha ecuación se derivaron los parámetros cinéticos.

2.1.3. ISOTERMAS DE ADSORCIÓN/DESORCIÓN

Para la realización de las isotermas de adsorción se pesaron por duplicado, en tubos Pyrex® de 25 mL, 5 g de sustrato a los que se añadieron 20 mL de soluciones acuosa de los herbicidas triazínicos de concentración 2, 5, 10, 15 y 20 mg L⁻¹. La mezcla se agitó y se introdujo en cámara termostaticada a 15 °C dónde se agitó durante 12 h, tiempo al cual se ha alcanzado el equilibrio según los resultados obtenidos en los estudios cinéticos. A partir de aquí se siguió el mismo procedimiento descrito en para las cinéticas de adsorción.

Los estudios de desorción se realizaron con la concentración más alta de herbicida (20 mg L⁻¹), reemplazando 10 mL de sobrenadante con el mismo volumen de agua Milli-Q, después del periodo de adsorción. La mezcla de los tubos se dispersó con la ayuda de un vórtex y los tubos se agitaron en cámara termostaticada a 15 °C durante 12 h. A partir de aquí se siguió el mismo procedimiento indicado para las cinéticas. El proceso de desorción se repitió cuatro veces. Después del periodo de equilibrio en los ensayos de adsorción y desorción, se midió el pH de las muestras.

La cantidad de plaguicida adsorbido se calculó por diferencia entre la concentración inicial y final del plaguicida en solución. Los datos de adsorción se ajustaron a la ecuación de Freundlich [6].

Las isotermas de adsorción de herbicidas triazínicos se realizaron para los siguientes sustratos:

- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%).
- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis baja (2%).
- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), incubado a 1, 2 y 3 meses.
- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble.
- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble, ni lípidos.
- Suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble, ni lípidos, ni ácidos húmicos, ni fúlvicos.

Los estudios de desorción se realizaron para suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost a dosis alta (8%), sin incubar e incubado durante 3 meses.

La nomenclatura empleada para cada muestra, su contenido en CO y el pH se recogen en el Anexo I, Tablas 1 y 2.

2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.2.1. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DE HERBICIDAS TRIAZÍNICOS

La extracción líquido-líquido es una técnica antigua que no requiere instrumentación y materiales especiales para su desarrollo. Este método es preferible por su eficacia a la SPE, cuando se sospecha que existe m.o. en disolución, ya que los plaguicidas pueden adsorberse fuertemente a estas sustancias (Åkerblom, 1995). Sin embargo presenta inconvenientes importantes por los que está siendo gradualmente reemplazada por la SPE. Entre estos cabe destacar la formación de emulsiones, lo que dificulta la separación de las fases, el gran volumen de disolvente necesario y que la extracción resulte un proceso tedioso, lento y difícil de automatizar (Pacáková et al., 1996).

En nuestro caso esta técnica de extracción se usa como último paso en el tratamiento de las muestras, con el único propósito de que las triazinas pasen de una solución acuosa a una solución orgánica antes de ser inyectadas en el cromatógrafo de gases, puesto que el relleno de la columna cromatográfica usada no es compatible con soluciones polares. Así, el volumen de muestra a extraer es muy pequeño, 1 mL por lo que no se requieren grandes volúmenes de extractante; no se observaron emulsiones que dificulten la separación de las fases que se realiza por congelación; el tiempo de preparación de la muestra es corto y se obtienen buenas recuperaciones para todos los plaguicidas. (Tabla III.1).

Se realizaron distintos ensayos empleando diferentes volúmenes de disolvente (Tabla III.1) y no se observan diferencias significativas en los valores de recuperación al variar el volumen de extractante empleado, por lo que se concluye que la ELL resulta una técnica de extracción eficaz para el propósito de este estudio.

Tabla III.1. Recuperaciones del proceso de extracción líquido-líquido para simazina (Sz), terbutilazina (Tz), prometrina (Pr), cianacina (Cz).

mL muestra	mL H:T (1:1)	% RECUPERADO			
		Sz	Tz	Pr	Cz
1	1	85,7 ± 5,0	94,5 ± 5,1	92,3 ± 5,0	80,2 ± 5,0
1	2	78,1 ± 3,9	89,2 ± 3,9	92,1 ± 3,3	73,2 ± 3,3

H:T= hexano:tolueno

2.2.2. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN DE TRIAZINAS

Antes de los estudios de adsorción propiamente dichos, se realizó un estudio previo de las cinéticas que siguen los cuatro herbicidas triazínicos, simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina, en suelo de olivar sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis elevada (8%), sin incubar e incubado durante tres meses. Los valores experimentales obtenidos se ajustaron a la ecuación hiperbólica [2]. En la Figura III.2 se representan los puntos experimentales, junto con la curva teórica obtenida tras la aplicación a los resultados de la ecuación [2].

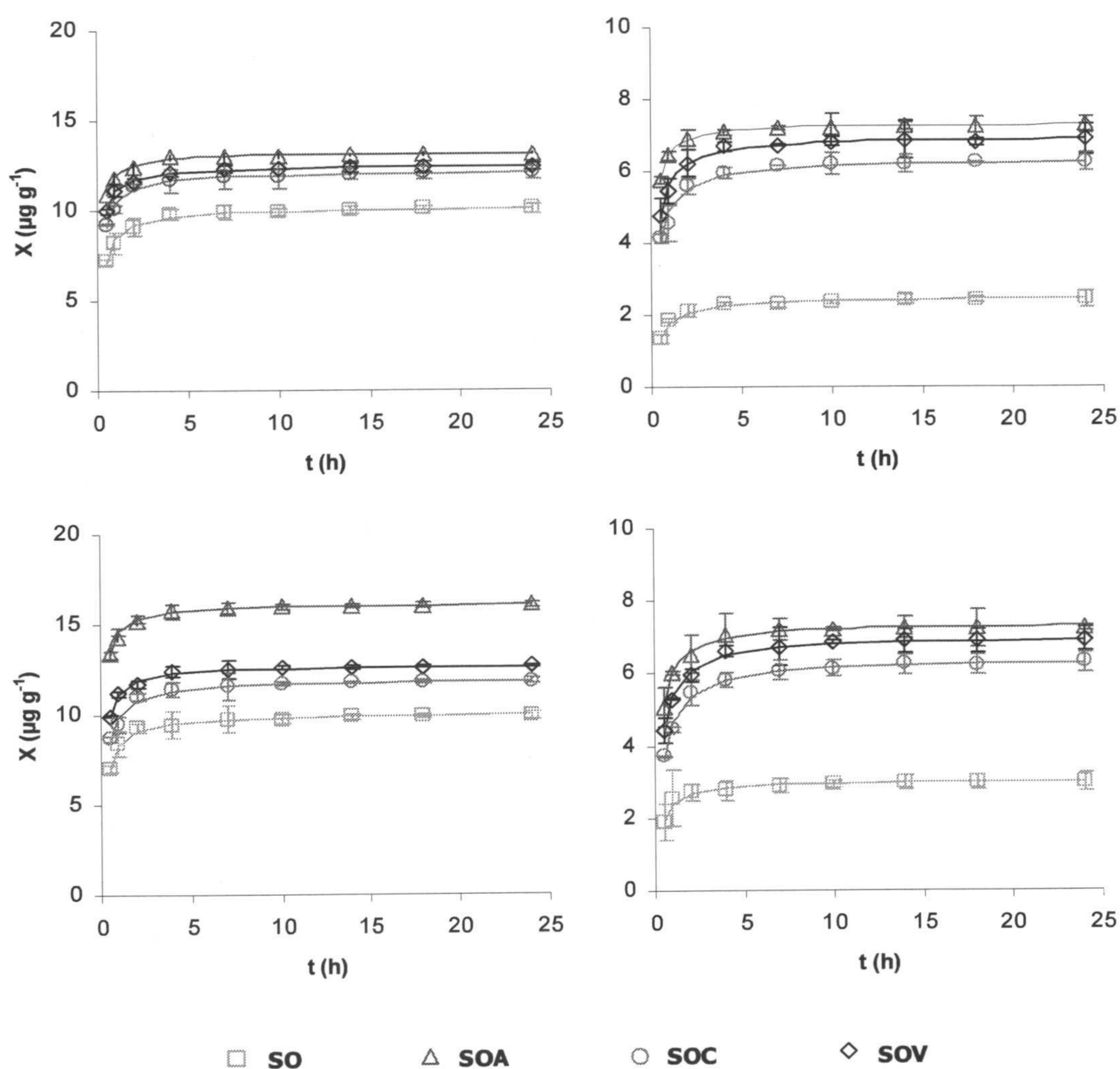


Figura III.2. Cinéticas de terbutilazina (T), simazina (S), prometrina (P) y cianazina (C) en suelo de olivar (SO) enmendado con alperujo (SOA), compost de alperujo (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%).

De las representaciones gráficas (Figura III.2) y del ANOVA de los resultados se deduce que la adsorción de triazinas en suelo sin enmendar y enmendado, alcanza el equilibrio entre las dos y cuatro horas de contacto entre la solución de plaguicidas y el suelo. A mayores

tiempos de contacto no se encontraron diferencias significativas con los resultados obtenidos a dos y cuatro horas ($P \geq 0,16$), en ninguno de los sustratos estudiados y para ninguno de los herbicidas triazínicos.

Transcurridas 24h de contacto no se observaron cambios en la concentración de plaguicidas respecto al tiempo al que se alcanza el equilibrio. A efectos prácticos los tiempos de contacto entre la solución de plaguicidas y el suelo serán de 12 h, en los estudios de adsorción, y de 24 h en los de desorción.

Los mismos resultados se obtuvieron para el suelo sin enmendar y enmendado e incubado durante tres meses.

Resultados cinéticos similares han sido encontrados previamente por otros autores en relación a los herbicidas triazínicos (Wauchope y Myers, 1985-62; Dios Cancela et al., 1990). Sin embargo en la mayoría de los trabajos sobre adsorción de triazinas, el tiempo de contacto entre la solución de plaguicidas y el suelo suele ser de 16 h a 48 h a pesar de que el equilibrio se ha alcanzado mucho antes (Xing et al., 1996; Oliveira et al., 2001; Albarran et al., 2004), indicando que no existen variaciones en la concentración de equilibrio durante este periodo de tiempo.

Los valores de los parámetros cinéticos obtenidos con las ecuaciones teóricas [2] y [3] aparecen resumidos en la Tabla III.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} , (Tabla III.2). La bondad del ajuste de los datos a este modelo fue buena en todos los casos ($R^2 > 0,95$).

En suelos sin incubar, el mayor valor de X_{\max} lo encontramos en el suelo enmendado con alperujo. Lo contrario ocurre en suelos incubados durante tres meses. En este caso, el suelo enmendado con alperujo presenta la menor adsorción de plaguicida, mientras que en el suelo enmendado con vermicompost obtenemos el valor más alto de X_{\max} . Estas tendencias son válidas para todas las triazinas estudiadas.

Con los resultados obtenidos podemos establecer una correlación positiva entre el contenido en CO y los valores de X_{\max} en los sustratos sin incubar. Los coeficientes de correlación obtenidos para simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina fueron 0,92, 0,97, 0,96, 0,92, respectivamente, mayores para las triazinas más hidrófobas, terbutilazina y prometrina y menores para las menos hidrófobas, simazina y cianazina. Esta correlación indica que la m.o. es el principal factor que interviene en la adsorción de herbicidas triazínicos al suelo. No ocurre así en el caso de sustratos incubados durante tres meses. En este caso la correlación entre el contenido en CO de los suelos y X_{\max} es negativa, por lo que otros factores, distintos a la m.o., afectarán a la adsorción de triazinas en suelos incubados como veremos posteriormente.

Tabla III.2. Datos cinéticos de la adsorción de herbicidas triazínicos en suelo sin enmendar (SO) y enmendado con vermicompost (SOV), compost (SOC) y alperujo (SOA) a dosis alta (8%), sin incubar e incubado durante 3 meses.

Muestra	SIMAZINA			TERBUTILAZINA			PROMETRINA			CIANAZINA		
	X_{max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n	X_{max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n	X_{max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n	X_{max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n
SO	2,50	1,16	2,31	10,16	2,12	1,96	10,04	2,28	2,15	3,04	1,55	2,37
SOC	6,31	1,68	1,77	12,14	1,99	1,93	11,90	2,26	1,82	6,37	2,35	1,83
SOV	6,95	1,69	1,92	12,47	1,70	1,79	12,72	1,76	1,93	7,00	2,03	1,83
SOA	7,33	1,03	2,03	13,19	1,46	1,94	16,13	1,72	1,93	7,37	1,64	2,02
SOC-3	7,96	4,62	2,06	17,57	3,32	1,90	17,04	3,85	2,05	10,73	4,82	2,10
SOV-3	10,79	5,04	2,07	18,90	3,47	2,02	19,38	4,12	1,98	12,69	5,63	1,96
SOA-3	7,60	1,88	1,96	15,63	2,30	1,82	16,53	3,51	1,90	9,27	3,53	2,08

Tanto en suelos sin incubar e incubados tres meses se produjo una mayor adsorción de los herbicidas más hidrófobos, terbutilazina y prometrina respecto a los menos hidrófobos, simazina y cianazina.

En suelos sin incubar la constante de velocidad del proceso, k , presentó valores comprendidos entre 1 y 2,4, lo que indica una velocidad de reacción relativamente baja y sugiere una adsorción por procesos de difusión en los poros de la m.o. (Dios Cancela et al., 1990; Sánchez et al., 2003). La incubación de los suelos supuso un aumento en la constante k .

El orden de reacción, n , de la ecuación [3] es próximo a 2 (Tabla III.2) en todos los casos, proporcionando un buen ajuste con los datos experimentales ($R^2 > 0,94$) (Ho y McKay, 1999).

2.2.3. ADSORCIÓN DE TRIAZINAS

Los datos experimentales obtenidos en los ensayos de adsorción de triazinas en suelo de olivar se ajustaron al modelo descrito por Freundlich. Las Tablas III.3 y III.4 muestran los valores de K_f y $1/n$ de los herbicidas estudiados para las diferentes muestras de suelo, enmendado o no, o incubado durante diferentes periodos de tiempo. En la mayoría de los casos los valores de $1/n$ muestran un cierto grado de no-linealidad atribuido a la composición heterogénea del suelo y enmiendas, a la diversidad de mecanismos de adsorción (Green y Karickhoff, 1990; Chiou et al., 2000; Cox et al., 2001) o a la posible competencia entre los herbicidas estudiados por los sitios de adsorción (Xing et al., 1996). Sin embargo, no se ha encontrado ninguna relación entre el grado de no-linealidad, $1/n$, y el tratamiento del suelo (enmendado o no), el tipo de enmienda, el tipo de herbicida o el periodo de incubación.

La mayoría de los trabajos sobre adsorción de compuestos en suelos u otros sustratos utilizan los valores de K_f a efectos comparativos. Sin embargo el fenómeno de adsorción de un soluto en un sustrato está fuertemente influenciado por el valor de $1/n$ y la concentración de soluto. Así pues, cuando hay grandes variaciones en los valores de $1/n$, como ocurre en este estudio, el uso de K_f con objeto de comparar la adsorción entre distintos plaguicidas o entre diferentes sustratos puede llevar a error.

Hay autores que para evitar el efecto de $1/n$ y la concentración sobre los parámetros de adsorción (K_f y K_{oc}) emplean, con fines comparativos, la concentración de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio dada, calculada a partir de la ecuación de Freundlich (Sánchez et al., 2003; Ureña-Amate, 2005).

En este trabajo se ha calculado la concentración de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio de 10 mg L^{-1} (X_{10}). Este parámetro será usado como una herramienta más, que junto con el resto de parámetros de adsorción (K_f , $1/n$ y K_{oc}) y las representaciones gráficas de las isotermas de adsorción, permitan explicar del modo más riguroso posible el fenómeno de adsorción.

Tabla III.3. Valores de las constantes de Freundlich (K_f y $1/n$), del coeficiente de determinación (R^2), de la concentración de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio (C_e) de 10 mg L^{-1} (X_{10}) y del coeficiente K_{oc} , para los herbicidas triazínicos estudiados en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dos dosis (2 y 8%).

	$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c		$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c
Terbutilazina						Simazina					
SO	$1,81 \pm 0,18$	$0,97 \pm 0,05$	0,95	$84,56 \pm 6,47$	17,03	SO	$0,72 \pm 0,11$	$0,86 \pm 0,07$	0,92	$22,38 \pm 1,66$	5,15
SOA (8%)	$11,55 \pm 0,67$	$0,93 \pm 0,05$	0,95	$233,50 \pm 4,35$	98,55	SOA (8%)	$1,45 \pm 0,17$	$1,03 \pm 0,06$	0,95	$37,91 \pm 1,41$	15,55
SOA (2%)	$1,40 \pm 0,12$	$1,51 \pm 0,05$	0,98	$137,72 \pm 4,68$	45,02	SOA (2%)	$0,66 \pm 0,05$	$1,17 \pm 0,04$	0,98	$37,41 \pm 0,55$	9,71
SOC (8%)	$5,23 \pm 0,35$	$0,80 \pm 0,04$	0,96	$112,59 \pm 6,33$	32,73	SOC (8%)	$1,74 \pm 0,11$	$0,74 \pm 0,04$	0,95	$33,99 \pm 1,13$	9,55
SOC (2%)	$1,68 \pm 0,12$	$1,10 \pm 0,04$	0,98	$95,69 \pm 10,83$	21,26	SOC (2%)	$0,67 \pm 0,08$	$1,00 \pm 0,06$	0,95	$29,85 \pm 2,76$	6,69
SOV (8%)	$6,05 \pm 0,29$	$0,76 \pm 0,03$	0,98	$116,53 \pm 4,98$	34,56	SOV (8%)	$3,00 \pm 0,16$	$0,59 \pm 0,03$	0,97	$33,68 \pm 1,96$	11,70
SOV (2%)	$1,81 \pm 0,13$	$1,09 \pm 0,04$	0,98	$104,59 \pm 2,91$	22,41	SOV (2%)	$1,12 \pm 0,08$	$0,84 \pm 0,04$	0,97	$30,52 \pm 2,44$	7,74
Prometrina						Cianazina					
SO	$3,21 \pm 0,26$	$0,66 \pm 0,04$	0,94	$72,16 \pm 5,69$	14,54	SO	$0,73 \pm 0,09$	$1,00 \pm 0,07$	0,94	$28,59 \pm 1,73$	7,27
SOA (8%)	$17,55 \pm 0,72$	$0,64 \pm 0,04$	0,97	$305,52 \pm 40,87$	76,45	SOA (8%)	$1,26 \pm 0,11$	$1,05 \pm 0,05$	0,98	$39,82 \pm 1,21$	14,00
SOA (2%)	$3,06 \pm 0,39$	$1,21 \pm 0,08$	0,92	$197,73 \pm 9,35$	49,34	SOA (2%)	$0,63 \pm 0,08$	$1,23 \pm 0,06$	0,96	$37,03 \pm 1,88$	10,79
SOC (8%)	$6,30 \pm 0,41$	$0,62 \pm 0,04$	0,97	$109,05 \pm 8,70$	26,36	SOC (8%)	$1,51 \pm 0,12$	$0,83 \pm 0,04$	0,97	$34,09 \pm 1,01$	10,22
SOC (2%)	$3,22 \pm 0,19$	$0,82 \pm 0,03$	0,98	$98,73 \pm 11,83$	21,22	SOC (2%)	$1,58 \pm 0,12$	$0,73 \pm 0,03$	0,97	$34,76 \pm 0,55$	8,45
SOV (8%)	$6,34 \pm 0,32$	$0,63 \pm 0,03$	0,97	$104,26 \pm 8,31$	27,28	SOV (8%)	$1,73 \pm 0,23$	$0,82 \pm 0,07$	0,91	$32,85 \pm 1,91$	11,31
SOV (2%)	$3,66 \pm 0,22$	$0,74 \pm 0,03$	0,97	$90,28 \pm 6,59$	20,07	SOV (2%)	$0,60 \pm 0,04$	$1,16 \pm 0,04$	0,99	$30,83 \pm 2,82$	8,52

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^bCalculada como $K_{oc} = K_d (10 \text{ mg L}^{-1}) * 100 / \%CO$. ^cObtenido a partir de la ecuación de Freundlich.

2.2.3.a) ADSORCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO DE OLIVAR SIN ENMENDAR

La Tabla III.3 muestra los valores de K_f y $1/n$ de los herbicidas estudiados para el suelo de olivar sin enmendar. Según los valores de K_f la prometrina sería el plaguicida más adsorbido por este suelo, seguido de terbutilazina, simazina y cianazina, presentando estos dos últimos coeficientes de adsorción muy bajos. Sin embargo, si nos fijamos en la pendiente de la curva ajustada a Freundlich (Figura III.3) observamos que simazina y cianazina son los herbicidas menos adsorbidos mientras que la prometrina presenta mayor adsorción que terbutilazina pero sólo a bajas concentraciones de soluto, y la tendencia se invierte a concentraciones altas. La terbutilazina (al igual que simazina y cianazina) presenta valores de $1/n$ próximos a la unidad (Tabla III.3), es decir, su adsorción es directamente proporcional a la concentración de soluto en la solución, por eso, a mayor concentración mayor adsorción (isoterma de tipo C según la clasificación de Giles et al., 1960). Por el contrario, el valor de la pendiente para la prometrina es inferior 1, por lo que a bajas concentraciones de equilibrio el soluto presenta mayor afinidad por el sorbente, mientras que a altas concentraciones de soluto, cuando los sitios activos del sorbente empiezan a saturarse, la afinidad disminuye (isoterma de tipo L).

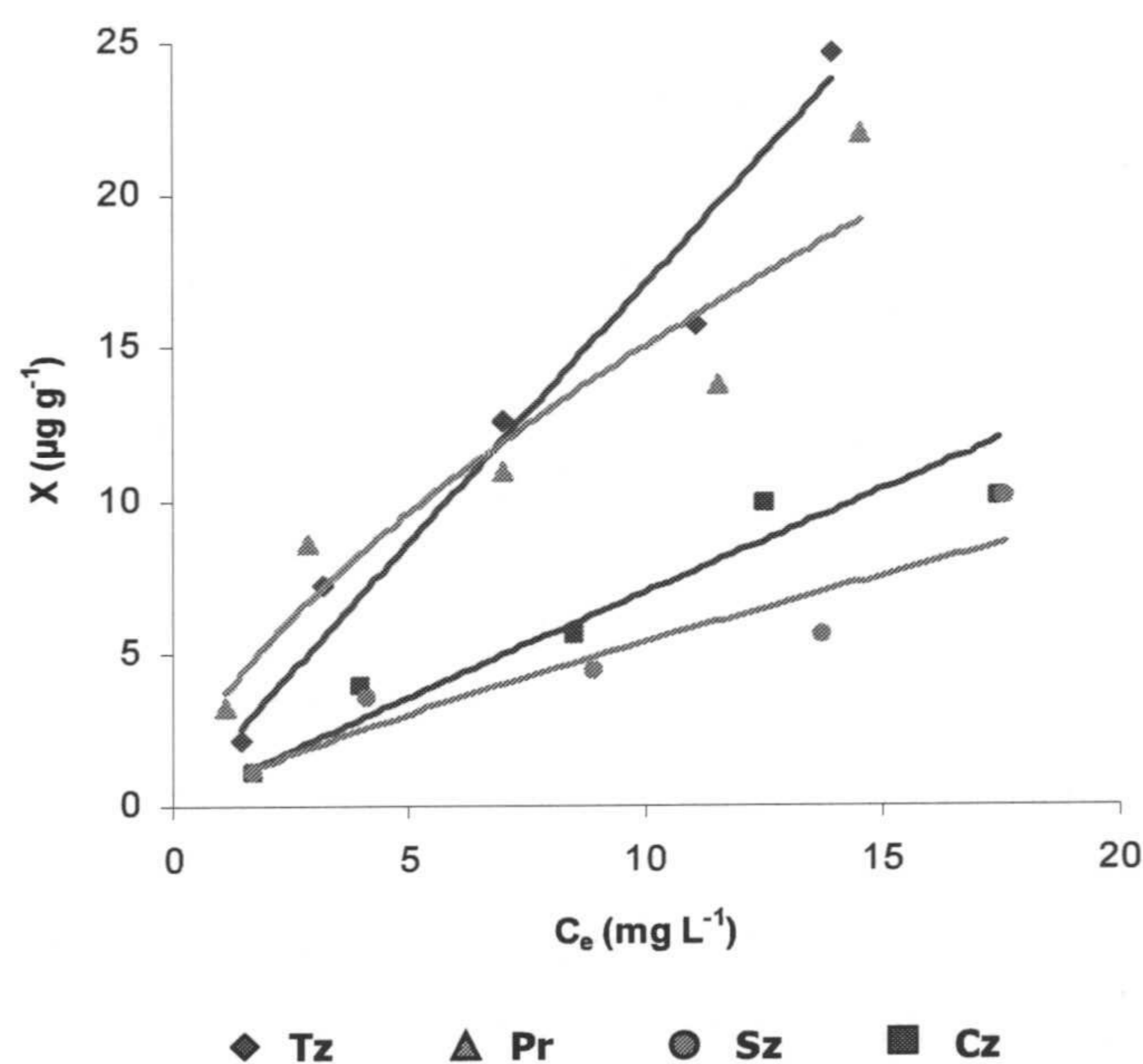


Figura III.3. Isotermas de adsorción de herbicidas triazínicos, terbutilazina (Tz), prometrina (Pr), simazina (Sz), y cianaciza (Cz) en suelo de olivar sin enmendar.

En cualquier caso, la adsorción es mayor para los herbicidas más hidrófobos, terbutilazina y prometrina ($\text{Log } K_{ow}$ 3,2 y 3,1, respectivamente) y menor para los menos hidrófobos, simazina y cianazina ($\text{Log } K_{ow}$ 2,1) (Tomlin, 2003).

Los valores del coeficiente de adsorción normalizado por el contenido en CO, K_{oc} (Tabla III.3) obtenidos para las diferentes triazinas fueron entre 20 y 30 para simazina y cianazina y entre 70 y 85 para terbutilazina y prometrina. En la literatura se recogen valores de $K_{oc} < 100$ o alrededor de 100 para simazina y cianazina (Liu y Qian, 1995; Barriuso et al., 1997; Oliveira et al., 2001), valores de 200 para prometrina y entre 230 y 300 para terbutilazina (Businelli, 1997; Slusny et al., 1999). Los valores más bajos encontrados en este estudio pueden explicarse por competencia entre las triazinas estudiadas por los sitios de adsorción del suelo. El fenómeno de competencia entre herbicidas triazínicos ha sido descrito con anterioridad por otros autores (Xing et al., 1996; Turín y Bowman, 1997; Businelli, 1997), caracterizándose por una disminución en las constantes de adsorción (K_f o K_{oc}) de los plaguicidas. El fenómeno de competencia está más acentuado entre compuestos con una estructura química similar pues compiten por los mismos sitios de adsorción (Xing et al., 1996). Es importante tener en cuenta la posible competencia entre compuestos a la hora de realizar aplicaciones simultáneas de plaguicidas pues puede originarse una disminución de la retención de estos productos en el suelo.

2.2.3.b) ADSORCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO DE OLIVAR ENMENDADO A DISTINTAS DOSIS

Si consideramos los valores de X_{10} , la adición de las enmiendas para todos los herbicidas supone un aumento de la cantidad de herbicida adsorbido (Tabla III.3), tanto mayor cuanto mayor es la cantidad de enmienda adicionada, lo que indica claramente el papel primordial que juega la m.o. en el proceso de adsorción de estos herbicidas (Barriuso y Calvet, 1992; Payá-Pérez et al., 1992; Celis et al., 1997; Moorman et al., 2001).

De los valores de X_{10} (Tabla III.3) y de las representaciones gráficas de las Figuras III.4 y III.5, deducimos que el alperujo es la enmienda que produce un mayor aumento en la adsorción de las triazinas estudiadas, independientemente de la dosis aplicada. Por su parte, no hubo diferencias significativas en los valores de X_{10} de los distintos herbicidas en suelo enmendado con compost y vermicompost (Tabla III.3) produciendo ambas enmiendas efectos similares en la adsorción de las triazinas en suelo (Figura III.4 y III.5).

El aumento en la adsorción de triazinas como consecuencia de la adición de m.o. fue más evidente en los herbicidas más hidrófobos, terbutilazina y prometrina, que en los menos hidrófobos, simazina y cianazina, que son retenidos en menor cuantía que los primeros (Tabla III.3). Para explicar este hecho es necesario conocer algunas de las características de estos herbicidas como su pK_a y su K_{ow} .

Los herbicidas triazínicos son bases débiles con valores de pK_a que oscilan entre 0,63 y 2,0 para las Cl-triazinas (cianazina, simazina y terbutilazina) y 4,1 para prometrina, una s-triazina. A los valores de pH de los suelos, enmendados o no, las triazinas se encontrarían en

todos los casos en su forma molecular. Debido a esto, las triazinas podrán interactuar con la m.o. del suelo o de las enmiendas mediante mecanismos específicos (enlaces por puentes de H o interacciones de transferencia de carga) o inespecíficos (interacciones de tipo hidrófobo) (Graber y Borisover, 1998; Piccolo et al., 1998). En nuestro caso, parece que el tipo de unión estará gobernada por interacciones hidrófobas sorbato-sorbente, como sugiere la existencia de una correlación positiva entre X_{10} y los valores de K_{ow} ($r= 0,98-0,99$) para los distintos plaguicidas (Hamaker y Thompson; Chiou y col, 1986; Slusznny et al., 1999; Chefetz et al., 2004).

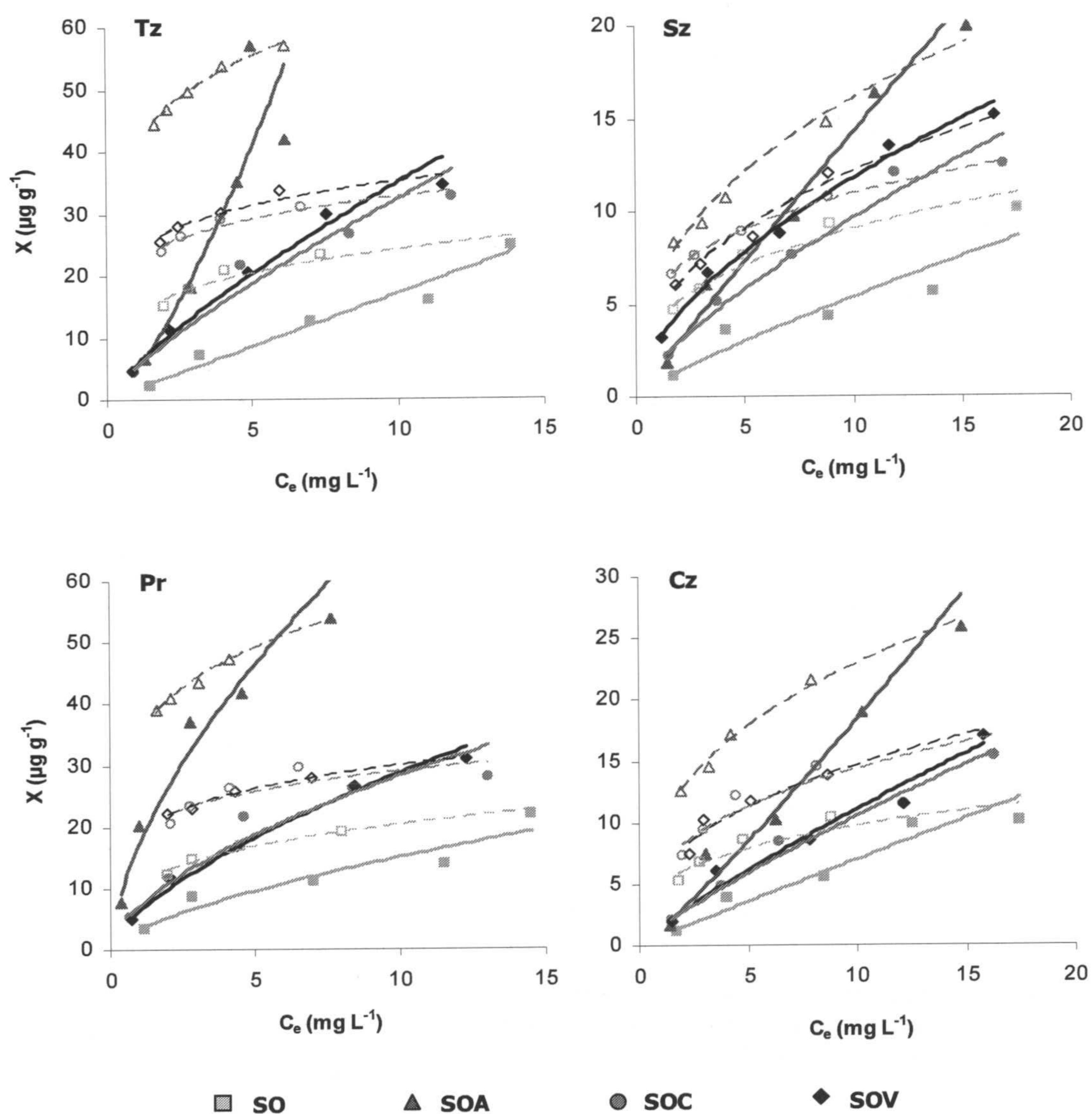


Figura III.4. Isothermas de adsorción (símbolo lleno, línea continua) y desorción (símbolo vacío, línea discontinua) de terbutilazina (Tz), simazina (Sz), prometrina (Pr) y cianazina (Cz), en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%).

El coeficiente K_{oc} también aumentó con el mayor grado de hidrofobicidad de los compuestos. Así los valores más elevados de este parámetro corresponden a terbutilazina y prometrina y los valores más bajos a simazina y cianazina (Tabla III.3).

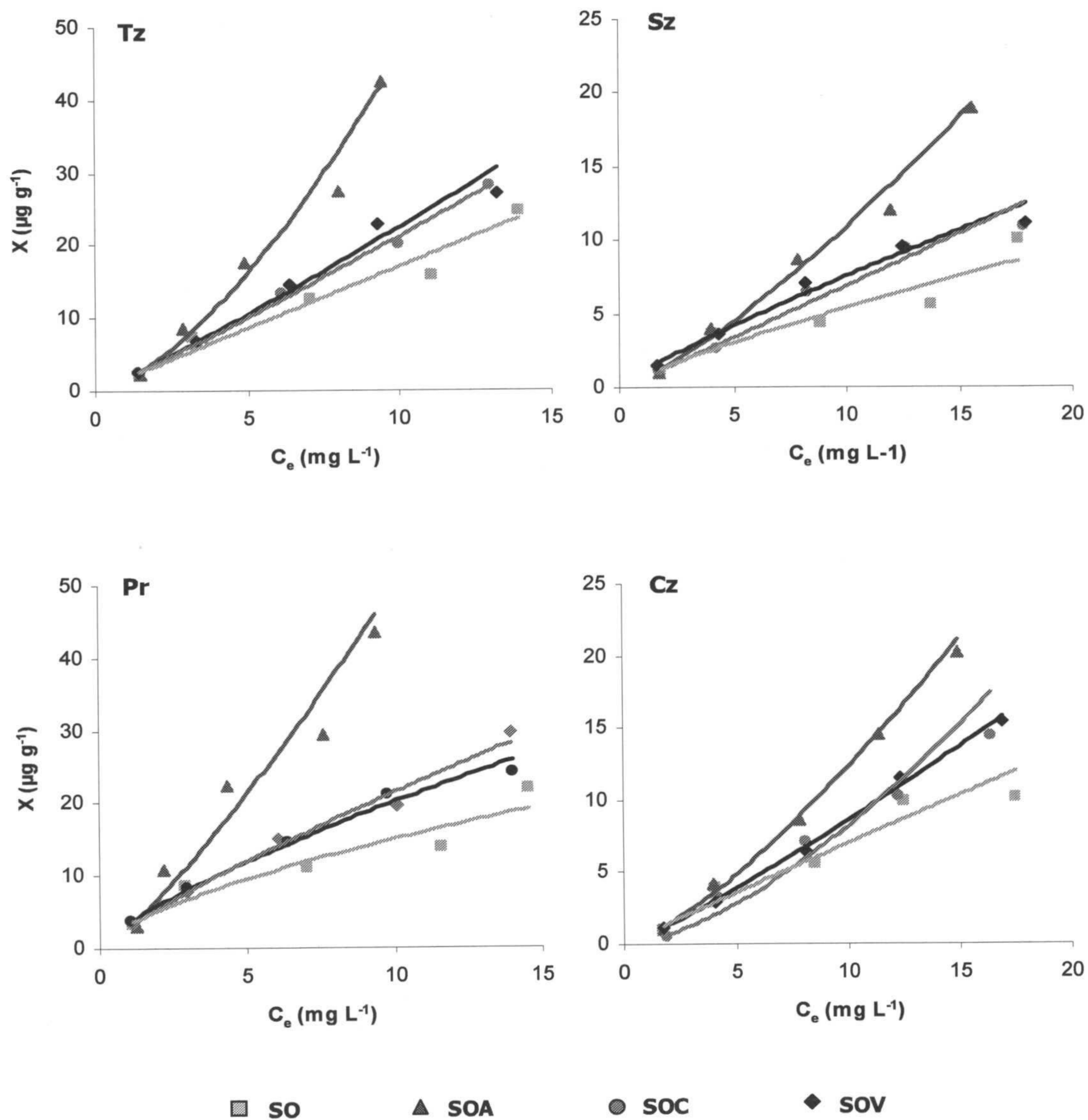


Figura III.5. Isothermas de adsorción de terbutilazina (Tz), simazina (Sz), prometrina (Pr) y cianazina (Cz), en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis baja (2%).

La adición de enmiendas orgánicas supuso un aumento en los valores de K_{oc} respecto al suelo sin enmendar para todos los plaguicidas estudiados en el sentido $SOA > SOV = SOC > SO$ (Figura III.6). Los valores mayores de K_{oc} del suelo enmendado respecto al suelo sin enmendar

evidencian la influencia en la adsorción de triazinas de otros factores distintos al contenido en m.o. del suelo.

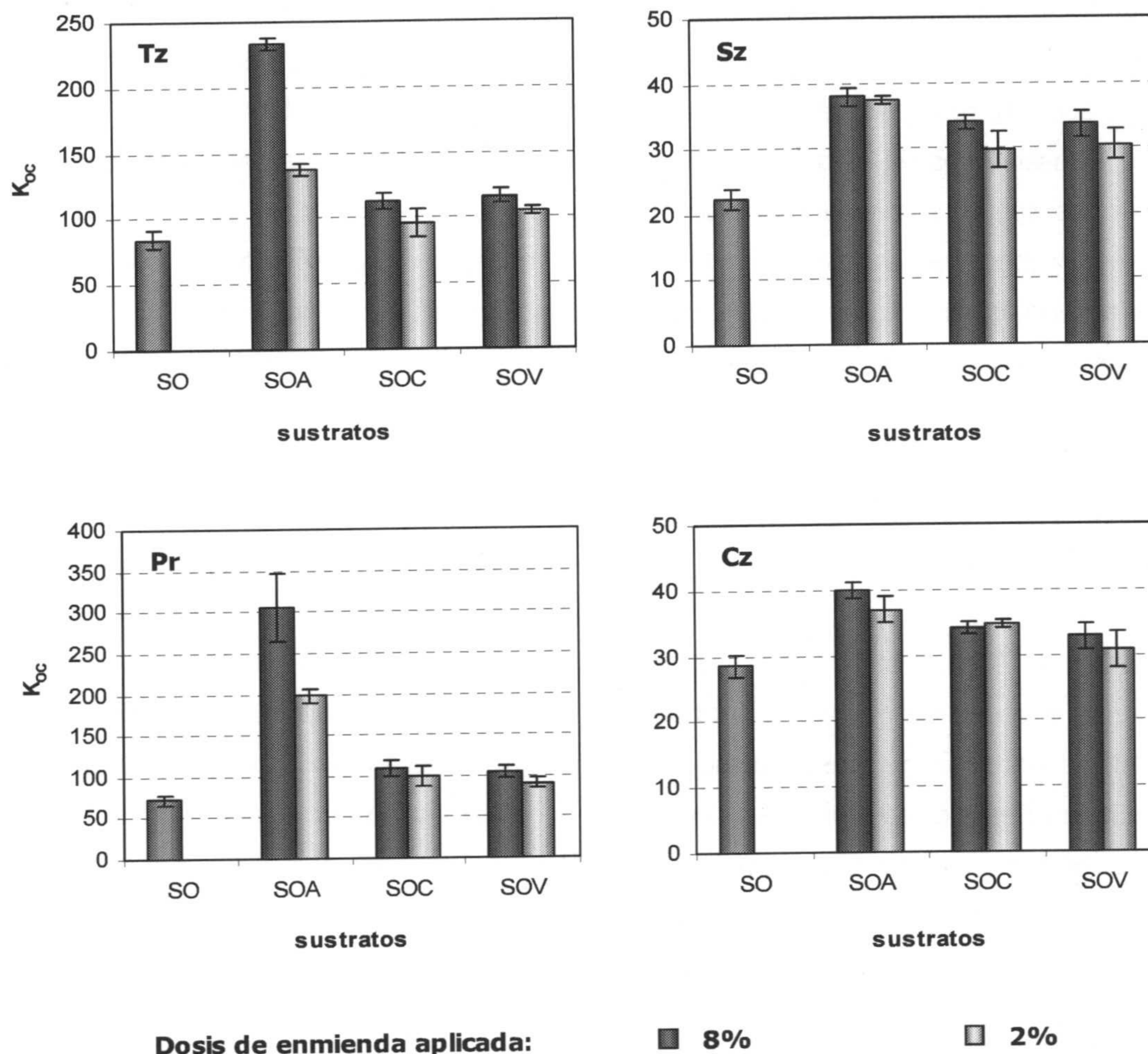


Figura III.6. Comparación de los valores de K_{oc} para terbutilazina (Tz), simazina (Sz), prometrina (Pr) y cianazina (Cz), en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a distintas dosis.

El hecho de que no se observaran diferencias en los valores de K_{oc} de los suelos enmendados con compost y vermicompost para ninguno de los herbicidas triazínicos, independientemente de la dosis empleada (Figura III.6) refleja que la m.o. aportada al suelo por estas dos enmiendas presenta una composición similar debido a que se trata de productos muy estabilizados, procedentes de un mismo material de partida, alperujo, como ya se indicó en el capítulo anterior.

El comportamiento del alperujo frente a la adsorción de triazinas difiere del observado para el compost y vermicompost. Así, la aplicación de esta enmienda supuso un incremento en los valores de K_{oc} para todas las triazinas respecto a los suelos enmendados con los productos

madurados (Tabla III.3; Figura III.6). En el caso de simazina y cianazina este aumento sólo supuso, aproximadamente un 11% del valor de K_{oc} obtenido en suelos enmendados con compost y vermicompost, independientemente de la dosis aplicada. Por el contrario para terbutilazina y prometrina el incremento alcanzó un 50 y 65%, respectivamente, cuando se comparan los suelos enmendados a la dosis más alta, disminuyendo las diferencias cuando la comparación se realiza entre los suelos enmendados a las dosis más bajas.

Basándonos en estos resultados podríamos afirmar que el aumento en los valores de K_{oc} de los suelos enmendados respecto al suelo sin enmendar y del suelo enmendado con alperujo respecto al enmendado con compost y vermicompost sólo puede ser explicado en términos de la distinta naturaleza de la m.o. (Barriuso y Calvet, 1992). En este sentido podríamos plantear varias hipótesis relacionadas con la composición de las diferentes enmiendas aplicadas.

Por un lado, y teniendo en cuenta el carácter hidrófobo de las interacciones entre las triazinas y la m.o. del suelo que hemos apuntado anteriormente, debemos considerar las grasas, ceras y resinas, así como las superficies más alifáticas de las macromoléculas de AH y AF como las estructuras que más contribuyen a la formación de este tipo de enlaces (Stevenson, 1982). Albarrán et al. (2004), encontraron una disminución en el valor de K_{oc} para simazina al reducirse el contenido en grasas de las enmiendas aplicadas (alperujo y alperujo extraído). Piccolo et al. (1998), estudiaron las interacciones entre atrazina y sustancias húmicas de diferente estructura molecular, llegando a la conclusión de que el aumento en la adsorción de atrazina era paralelo al incremento en C alifático en las fracciones húmicas y que los enlaces se producían por interacciones de tipo hidrófobo. Resultados similares fueron encontrados por otros autores (Lesan y Bhandari, 2003).

Aparte del efecto sobre los enlaces hidrófobos, cabe señalar que las superficies macromoleculares basadas en estructuras alifáticas son, en general, más flexibles y poseen un menor grado de enlaces intraestructurales, lo que ayuda a la difusión de pequeñas moléculas orgánicas como las triazinas en la matriz orgánica del suelo. Este hecho contrasta con el caso de adsorbentes basados en estructuras aromáticas, que forman estructuras condensadas constituyendo un obstáculo para el fenómeno de difusión (Piccolo et al., 1996 y 1998).

Lo anterior explica el mayor valor de K_{oc} encontrado para los herbicidas triazínicos en suelos enmendados con alperujo. Esta enmienda es rica en grupos alifáticos y alquílicos (lípidos) (apartados II.3.6.2), consistentes en mezclas de n-alcanos, n-alquenos y ácidos grasos (Stevenson, 1982; González-Vila et al., 1996 y 1999), favoreciendo, por tanto, la retención de los herbicidas triazínicos mediante enlaces hidrofóbicos y su introducción en la matriz orgánica del suelo mediante fenómenos de tipo difusivo.

Sin embargo, cuando hablamos de m.o. (de un suelo o enmienda) no podemos olvidar que se compone de m.o. soluble e insoluble. Se ha descrito que la m.o. soluble disminuye la adsorción de triazinas y favorece su lixiviación, bien por la formación de interacciones estables

en la solución del suelo o en la interfase solución/suelo, bien por competencia con las moléculas de soluto por los sitios activos del adsorbente (Gao et al., 1997; Celis et al., 1998a y b; Spark y Swift, 2002).

El alperujo contiene gran cantidad de m.o. soluble (apartado II.3.4). La adición de este producto al suelo supondrá un aumento en el contenido de m.o. disuelta con la dosis de aplicación de la enmienda. Además, cuando a un suelo se le aplica una enmienda orgánica es esperable que se produzcan interacciones entre la m.o. exógena y el suelo que pudieran bloquear los sitios activos del mismo reduciendo la adsorción de compuestos orgánicos como plaguicidas (Jardine et al., 1989). Según estas dos premisas podríamos suponer que los valores de K_{oc} , normalizados para el contenido en CO, no deberían variar con la dosis de alperujo añadida al tratarse de la misma enmienda, de la misma naturaleza, como ocurre en el caso del suelo enmendado con compost y vermicompost (Figura III.6). Sin embargo para terbutilazina y prometrina ocurre lo contrario, siendo los valores de K_{oc} mayores para la enmienda al 8% que para la del 2% (Tabla III. 3; Figura III.6). Esto sólo sería explicable sobre la base de diversas interacciones entre la m.o de la enmienda y los componentes del suelo que beneficiarían la adsorción de estas moléculas por un aumento de los sitios de unión al aumentar la adición de enmienda

Con los datos disponibles hasta el momento no nos es posible dilucidar qué fracción o fracciones de la m.o. desempeñan un papel dominante en las interacciones entre soluto (herbicidas) y sorbente. Más adelante se aportarán nuevos datos que ayudarán a la comprensión de los mecanismos implicados.

2.2.4. ADSORCIÓN EN SUELOS Y ENMIENDAS INCUBADOS A DISTINTOS TIEMPOS

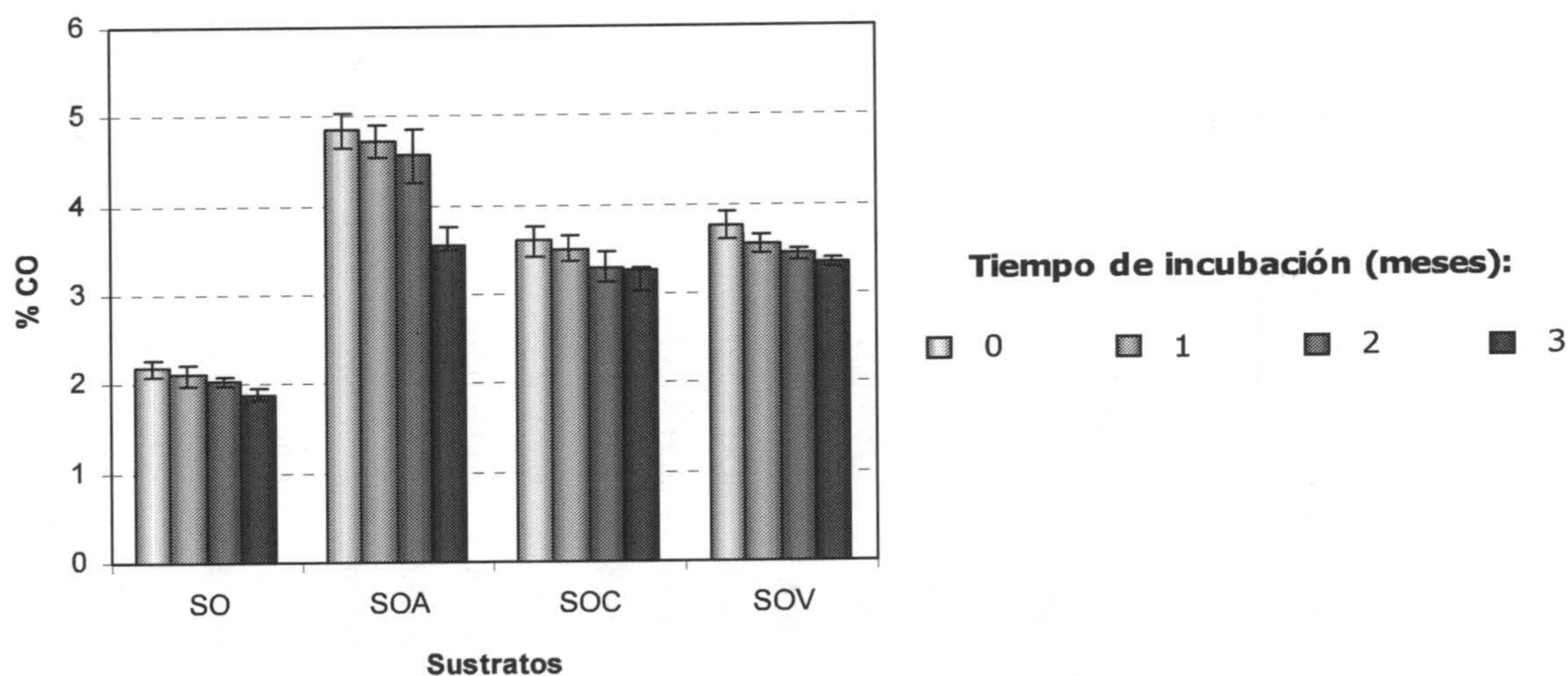


Figura III.7. Variación, con el tiempo de incubación, del porcentaje de CO del suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%).

Tabla III.4. Valores de las constantes de Freundlich (K_f y $1/n$), del coeficiente de determinación (R^2), de la concentración de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio (C_e) de 10 mg L^{-1} (X_{10}) y del coeficiente K_{oc} , para los herbicidas triazínicos estudiados en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%) e incubado a distintos tiempos (1, 2 y 3 meses).

	$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c		$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c
Terbutilazina						Prometrina					
SO	1,81 ± 0,18	0,97 ± 0,05	0,95	84,56 ± 6,47	17,03	SO	3,21 ± 0,26	0,66 ± 0,04	0,94	72,16 ± 5,69	14,54
SO-1	0,67 ± 0,14	1,39 ± 0,11	0,90	75,72 ± 6,27	16,51	SO-1	1,46 ± 0,18	0,99 ± 0,06	0,94	72,20 ± 10,90	14,18
SO-2	1,26 ± 0,14	1,14 ± 0,06	0,95	72,30 ± 5,83	17,42	SO-2	3,71 ± 0,33	0,64 ± 0,05	0,91	82,61 ± 17,56	16,06
SO-3	1,28 ± 0,12	1,07 ± 0,05	0,96	73,91 ± 6,05	15,05	SO-3	2,44 ± 0,20	0,73 ± 0,04	0,95	69,66 ± 5,58	12,94
SOA	11,55 ± 0,67	0,93 ± 0,05	0,95	233,50 ± 4,35	98,55	SOA	17,55 ± 0,72	0,64 ± 0,04	0,97	305,52 ± 40,87	76,45
SOA-1	8,45 ± 0,22	0,72 ± 0,02	0,99	134,73 ± 7,70	44,16	SOA-1	4,83 ± 0,47	0,80 ± 0,05	0,93	193,43 ± 20,53	30,69
SOA-2	2,54 ± 0,09	1,20 ± 0,02	0,99	84,32 ± 5,81	40,37	SOA-2	6,44 ± 0,34	0,79 ± 0,03	0,97	117,47 ± 14,53	39,99
SOA-3	1,61 ± 0,22	1,15 ± 0,07	0,93	49,40 ± 7,48	22,90	SOA-3	3,84 ± 0,37	0,69 ± 0,05	0,91	40,20 ± 5,14	19,01
SOC	5,23 ± 0,35	0,80 ± 0,04	0,96	112,59 ± 6,33	32,73	SOC	6,30 ± 0,41	0,62 ± 0,04	0,97	109,05 ± 8,70	26,36
SOC-1	0,61 ± 0,10	1,74 ± 0,09	0,96	77,57 ± 7,38	33,34	SOC-1	2,30 ± 0,35	1,04 ± 0,08	0,91	90,46 ± 2,19	25,17
SOC-2	2,16 ± 0,12	1,04 ± 0,03	0,99	72,86 ± 6,26	23,66	SOC-2	4,65 ± 0,30	0,70 ± 0,04	0,95	92,81 ± 1,40	23,23
SOC-3	1,86 ± 0,13	1,18 ± 0,04	0,98	66,58 ± 3,42	28,08	SOC-3	3,67 ± 0,27	0,82 ± 0,04	0,96	63,35 ± 3,85	24,05
SOV	6,05 ± 0,29	0,76 ± 0,03	0,98	116,53 ± 4,98	34,56	SOV	6,34 ± 0,32	0,63 ± 0,03	0,97	104,26 ± 8,31	27,28
SOV-1	1,06 ± 0,20	1,49 ± 0,11	0,92	97,28 ± 4,11	32,97	SOV-1	3,06 ± 0,47	1,00 ± 0,07	0,91	104,39 ± 4,30	30,34
SOV-2	2,07 ± 0,12	1,13 ± 0,03	0,99	82,86 ± 7,22	27,68	SOV-2	5,02 ± 0,28	0,76 ± 0,03	0,97	105,98 ± 5,38	28,64
SOV-3	2,37 ± 0,14	1,10 ± 0,03	0,98	82,38 ± 5,17	29,88	SOV-3	4,32 ± 0,43	0,77 ± 0,06	0,91	68,37 ± 8,76	25,47

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^bCalculada como $K_{oc} = K_d (10 \text{ mg L}^{-1}) * 100 / \%CO$. ^cObtenido a partir de la ecuación de Freundlich.

Tabla III.4. Continuación.

	$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c		$K_f \pm de^a$	$1/n \pm de^a$	R^2	$K_{oc}^b \pm de^a$	X_{10}^c
Simazina						Cianazina					
SO	0,72 ± 0,11	0,86 ± 0,07	0,92	22,38 ± 1,66	5,15	SO	0,73 ± 0,09	1,00 ± 0,07	0,94	28,59 ± 1,73	7,27
SO-1	0,33 ± 0,08	1,17 ± 0,11	0,91	28,39 ± 3,59	4,87	SO-1	0,19 ± 0,06	1,55 ± 0,14	0,92	29,71 ± 1,50	6,72
SO-2	1,01 ± 0,11	0,82 ± 0,05	0,94	27,20 ± 1,22	6,68	SO-2	0,39 ± 0,08	1,32 ± 0,10	0,91	26,38 ± 4,93	8,02
SO-3	0,83 ± 0,12	0,73 ± 0,07	0,88	24,64 ± 3,99	4,44	SO-3	0,44 ± 0,10	1,10 ± 0,11	0,89	26,92 ± 7,28	5,56
SOA	1,45 ± 0,17	1,03 ± 0,06	0,95	37,91 ± 1,41	15,55	SOA	1,26 ± 0,11	1,05 ± 0,05	0,98	39,82 ± 1,21	14,00
SOA-1	0,37 ± 0,07	1,49 ± 0,09	0,94	30,67 ± 4,64	11,49	SOA-1	2,87 ± 0,15	0,79 ± 0,03	0,98	33,85 ± 1,98	14,71
SOA-2	0,65 ± 0,42	1,10 ± 0,30	0,94	26,93 ± 1,44	8,23	SOA-2	0,88 ± 0,10	1,21 ± 0,06	0,96	29,70 ± 5,40	14,19
SOA-3	1,14 ± 0,15	0,77 ± 0,07	0,91	13,02 ± 1,93	6,70	SOA-3	0,84 ± 0,11	0,88 ± 0,06	0,93	13,65 ± 1,84	6,33
SOC	1,74 ± 0,11	0,74 ± 0,04	0,95	33,99 ± 1,13	9,55	SOC	1,51 ± 0,12	0,83 ± 0,04	0,97	34,09 ± 1,01	10,22
SOC-1	0,23 ± 0,06	1,44 ± 0,12	0,90	18,88 ± 5,78	6,40	SOC-1	0,52 ± 0,08	1,22 ± 0,07	0,94	26,44 ± 1,78	8,63
SOC-2	0,87 ± 0,09	1,12 ± 0,06	0,96	23,82 ± 3,35	11,58	SOC-2	0,90 ± 0,09	0,96 ± 0,05	0,96	24,32 ± 3,23	8,16
SOC-3	0,79 ± 0,09	0,98 ± 0,05	0,95	23,93 ± 0,70	7,57	SOC-3	0,66 ± 0,11	1,09 ± 0,08	0,93	23,01 ± 4,48	8,21
SOV	3,00 ± 0,16	0,59 ± 0,03	0,97	33,68 ± 1,96	11,70	SOV	1,73 ± 0,23	0,82 ± 0,07	0,91	32,85 ± 1,91	11,31
SOV-1	0,35 ± 0,06	1,43 ± 0,09	0,94	29,39 ± 5,91	9,51	SOV-1	0,44 ± 0,11	1,37 ± 0,13	0,92	38,25 ± 5,96	10,43
SOV-2	0,31 ± 0,06	1,61 ± 0,09	0,96	31,24 ± 2,72	12,83	SOV-2	1,27 ± 0,11	1,01 ± 0,04	0,97	37,39 ± 4,78	13,06
SOV-3	1,39 ± 0,10	0,85 ± 0,03	0,98	33,37 ± 3,33	9,83	SOV-3	0,82 ± 0,14	1,08 ± 0,08	0,91	32,21 ± 1,03	9,99

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^bCalculada como $K_{oc} = K_d (10 \text{ mg L}^{-1}) * 100 / \%CO$. ^cObtenido a partir de la ecuación de Freundlich.

La progresiva transformación en el suelo del compost y vermicompost durante 1, 2 y 3 meses no originó importantes cambios en la cantidad final de m.o. del suelo (Anexo I, Tabla 2; Figura III.7) respecto al suelo enmendado sin incubación. No ocurrió así en el caso del alperujo. En los suelos enmendados con este producto se observó una disminución considerable en el contenido de m.o. tras 3 meses de incubación, lo cual es esperable dado su gran contenido en sustancias solubles y de fácil degradación (Saviozzi et al., 1997). Si bien es cierto, que durante los dos primeros meses de incubación con alperujo, los cambios cuantitativos en la m.o. del suelo no fueron significativos.

En la Tabla III.4 se recogen los valores de los parámetros de adsorción (K_f y $1/n$) obtenidos tras el ajuste de los datos experimentales al modelo de Freundlich [6] y los valores calculados de K_{oc} y X_{10} .

En los suelos enmendados con alperujo, la cantidad de herbicida adsorbido, X_{10} , decrece al aumentar el tiempo de incubación. Para terbutilazina y prometrina, se observó un descenso de más de la mitad de herbicida adsorbido en el primer mes de incubación. Por el contrario, para los herbicidas menos hidrófobos, simazina y cianazina, no se produjeron variaciones en los valores de X_{10} durante los dos primeros meses de incubación. Para todas las triazinas, el valor de X_{10} tras el tercer mes de incubación, fue inferior al obtenido tras el segundo mes, lo que se corresponde con la mayor reducción en el contenido de m.o. experimentada entre el segundo y el tercer mes de incubación (Figura III.7).

En suelos sin enmendar y enmendados con compost y vermicompost las diferencias en los valores de X_{10} de los herbicidas triazínicos estudiados, a lo largo del todo el periodo de incubación, son muy pequeñas (Tabla III.4), al igual que la tendencia observada en el contenido de CO (Figura III.7).

La representación gráfica de las isothermas de adsorción de los herbicidas triazínicos en suelo de olivar, sin enmendar y enmendado con las diferentes enmiendas orgánicas estudiadas e incubado durante tres meses (Figura III.8) muestra que, tras el periodo de incubación, el suelo sin enmendar presenta la menor capacidad de adsorción de herbicidas triazínicos, mientras que el enmendado con vermicompost presenta la capacidad de adsorción más alta, seguido del suelo enmendado con compost. Es decir, después de tres meses de incubación el suelo enmendado con alperujo, que presentaba la mayor adsorción en los sustratos frescos (no incubados) disminuye su capacidad de retención de triazinas por debajo del suelo enmendado con las enmiendas más estabilizadas, a pesar de que el contenido en CO de SOA, después del periodo de incubación, es más alto que en el resto de sustratos (Figura III.7). Para poder explicar este hecho tendremos que recurrir a estudiar el comportamiento del coeficiente de adsorción normalizado por el contenido en CO, K_{oc} .

Los valores de K_{oc} disminuyen con el tiempo de incubación en suelos enmendados con alperujo (Tabla III.4; Figura III.9). Después de tres meses, K_{oc} fue menor en el suelo

enmendado con alperujo frente al suelo sin enmendar lo cual sugiere cambios en la naturaleza de la m.o. durante el proceso de transformación del alperujo en suelo (Saviozzi et al., 2001).

Por otra parte, cuando comparamos los valores de K_{oc} de los distintos herbicidas en suelos enmendados con compost y vermicompost, podemos apreciar una reducción de K_{oc} tras tiempo total de incubación, excepto para simazina y cianazina en el suelo enmendado con vermicompost (Tabla III.4; Figura III.9), si bien, esta reducción es menor (entre 2 y 5 veces) que la experimentada en el suelo enmendado con alperujo.

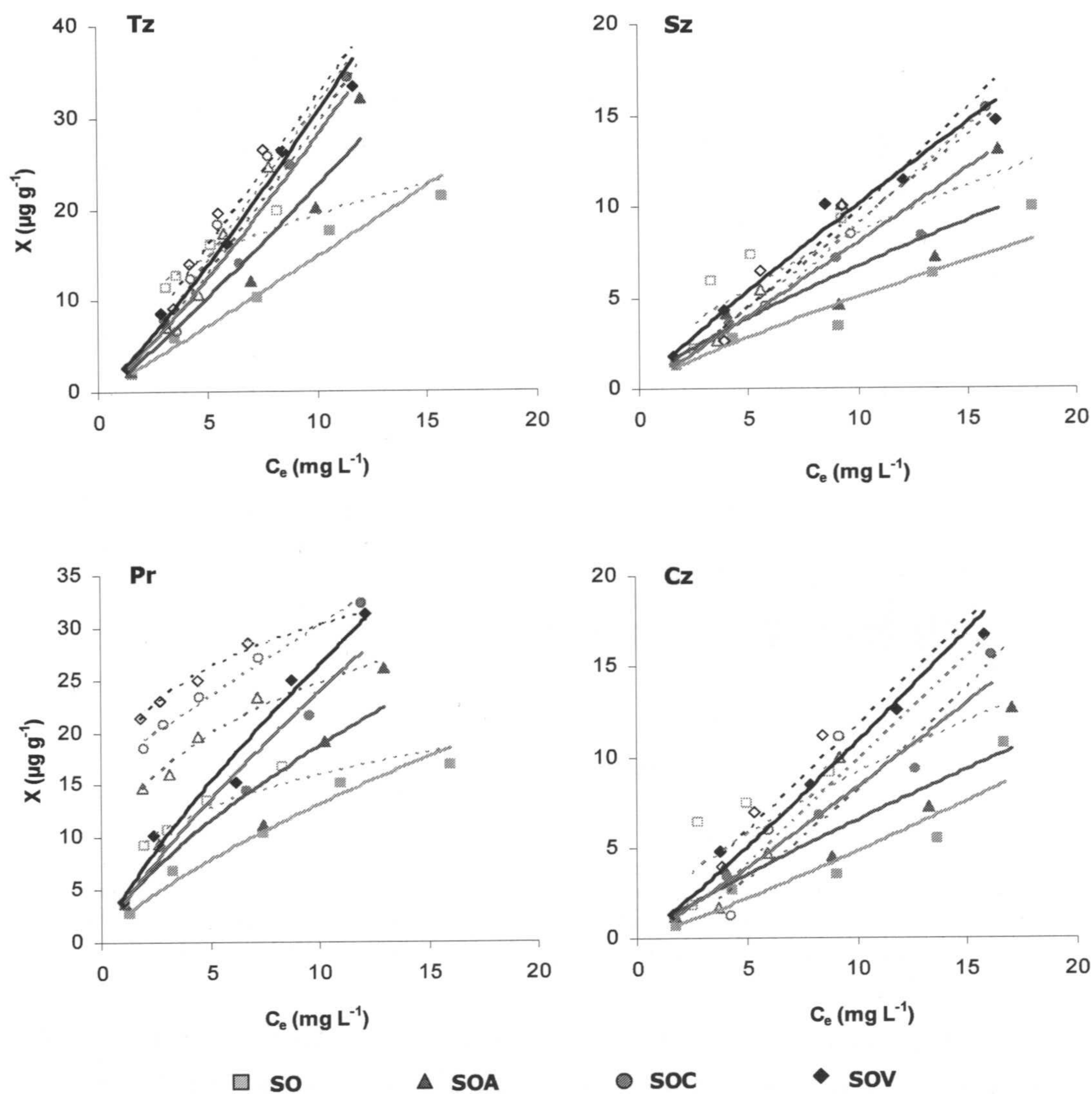


Figura III.8. Isothermas de adsorción (símbolo lleno, línea continua) y desorción (símbolo vacío, línea discontinua) de terbutilazina (Tz), simazina (Sz), prometrina (Pr) y cianazina (Cz), en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%) e incubado 3 meses.

En el suelo sin enmendar no se observaron diferencias en los valores de K_{oc} a lo largo del periodo de incubación.

La disminución en los valores de K_{oc} en los suelos enmendados con el tiempo de incubación contrasta con los resultados de Sluszny et al. (1999). Según estos autores el proceso de incubación de un suelo en presencia o no de enmiendas orgánicas no afecta al coeficiente de distribución normalizado por el contenido en CO.

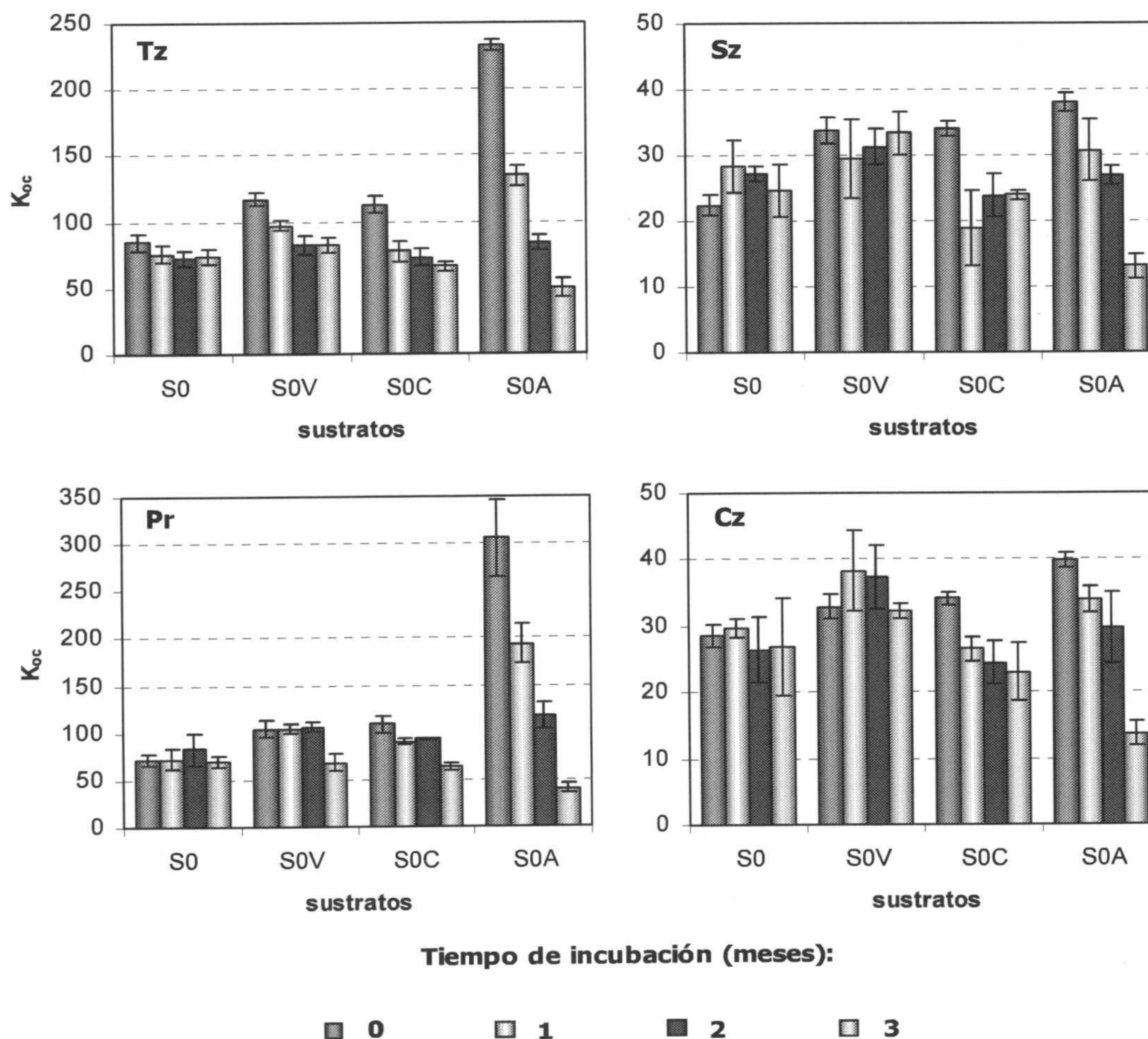


Figura III.9. Comparación de los valores de K_{oc} de terbutilaznia (T), simazina (S), prometrina (P) y cianazina (C), en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a dosis alta (8%) y diferentes periodos de incubación.

Durante la incubación de m.o. exógena en suelo, los compuestos más lábiles son degradados por la actividad microbiana en cuatro o cinco semanas (Riffaldi et al., 1997, 1998; Saviozzi et al., 1997), produciéndose una reducción en el contenido de CO total del suelo enmendado (Anexo I, Tabla 2; Figura III.7) y una transformación de los compuestos más fácilmente degradables. La eliminación de unos compuestos y la aparición de otros nuevos con distintos modos de reaccionar con moléculas orgánicas y con los propios componentes del suelo justifican la variación en los valores de K_{oc} encontrados en este estudio.

La mayor estabilización del compost y vermicompost, supondría un menor grado de transformación de los mismos en el suelo y esto explicaría las menores variaciones en el coeficiente K_{oc} observadas.

Asimismo, durante la degradación de la m.o. exógena en el suelo existe una tendencia hacia la formación de compuestos más estables y un aumento del grado de policondensación (Martínez-Iñigo y Almendros, 1992; Almendros, 1995). Esto dificulta la adsorción en el suelo de las triazinas empleadas, con mayor afinidad por estructuras alifáticas más flexibles, como se ha explicado anteriormente, lo que se refleja en un descenso en K_{oc} con el tiempo de incubación.

Además, en este proceso de mineralización, la fracción soluble de la m.o. juega un papel primordial en las primeras etapas (Cogle et al., 1989; Saviozzi et al., 1997). Alperujo, compost y vermicompost aportan cantidades de m.o. soluble al suelo (apartado II.3.4), la cual pasa a solución, contribuyendo al aumento de la reactividad de la m.o. soluble propia del suelo. La interacción de la m.o. soluble con el suelo durante el periodo de incubación puede alterar las características de la superficie del suelo modificando sus características hidrófobas-hidrófilas lo que repercutiría en la adsorción de los herbicidas triazínicos.

No obstante, nuestro conocimiento de los procesos que involucran a solutos orgánicos procedentes de diferentes enmiendas orgánicas aplicadas al suelo es limitado, debido a que tenemos escasos conocimientos de su composición y reactividad.

Finalmente, es importante señalar, que transcurridos tres meses de incubación, los valores de K_{oc} , independientemente del herbicida y de la enmienda, igualan o son inferiores a los valores del suelo sin incubar. Esto indica una pérdida en la capacidad de adsorción de la m.o. adicionada con el tiempo para todos los herbicidas triazínicos estudiados (Iglesias-Jiménez, 1997).

2.2.5. DESORCIÓN TRIAZINAS. EFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN.

Los parámetros de desorción resultantes del ajuste de los datos experimentales a la ecuación [10], así como el coeficiente de histéresis, H , calculado según la ecuación [11] y el porcentaje de herbicida desorbido (D) se presentan en la Tabla III.5.

Según la ecuación [11], el coeficiente de histéresis, H , depende de la pendiente de las isothermas de adsorción/desorción ($1/n_{ads}$ y $1/n_{des}$, respectivamente). Debido a la gran variabilidad del valor de $1/n_{ads}$, a efectos comparativos, se usará el porcentaje desorbido (D) en lugar del coeficiente de histéresis.

En el suelo no enmendado, el proceso de desorción mostró histéresis para todos los herbicidas estudiados ($1/n_{ads} > 1/n_{des}$), lo que indica que la adsorción no fue un proceso reversible como refleja el coeficiente de histéresis ($H < 1$) y el porcentaje de herbicida desorbido (D) después de las cuatro etapas de desorción.

Simazina y cianazina alcanzan porcentajes de desorción en torno al 50% de la concentración inicial, mientras que prometrina y terbutilazina sobre un 40%.

La adición de enmiendas al suelo aumentó la retención de terbutilazina y prometrina, siendo la cantidad final de herbicida desorbido inferior a la del suelo sin enmendar (Tabla III.5), disminuyendo, por tanto, la capacidad de lixiviación hacia aguas subterráneas de estos dos plaguicidas.

Por otro lado, para simazina y cianazina no hubo diferencias significativas (P entre 0,08 y 0,75) en la cantidad desorbida de los suelos enmendados respecto al suelo sin enmendar. Este hecho contrasta con los resultados de otros autores (Albarrán et al., 2003) que muestran una histéresis negativa de simazina en suelos sin enmendar y enmendado con alperujo, señal de una alta reversibilidad del proceso de adsorción-desorción. No obstante, Benoit y Preston (2000) hallaron un incremento en los residuos de atrazina (Cl-triazina) en suelo enmendado con residuos vegetales frescos y compostados.

La transformación de las enmiendas en el suelo durante tres meses produjo un incremento en la cantidad de herbicida desorbido. Para las Cl-triazinas (terbutilazina, simazina y cianazina) el aumento fue entre un 43 y un 60% de la cantidad adsorbida, lo que supuso que la desorción para simazina y cianazina fuera completamente reversible (Tabla III.5). Sin embargo, la prometrina experimentó un menor aumento de la cantidad desorbida (5%, 16% y 27% de la cantidad adsorbida, para SOV, SOC y SOA, respectivamente). La estructura química de esta s-triazina, con un grupo SCH_3 , puede que sea determinante en la formación de uniones más fuertes con la m.o. de los sustratos utilizados que las Cl-triazinas (Chefetz et al., 2004).

El incremento en el porcentaje de herbicida desorbido después de tres meses de transformación de la m.o. en el suelo es consecuencia de cambios fisico-químicos de la m.o. durante los procesos de humificación y maduración, como se indicó anteriormente. Además, las interacciones con los componentes del suelo de los nuevos compuestos originados podrían bloquear los sitios más reactivos del mismo, de modo que la adsorción de las triazinas estaría restringida a aquellos sitios donde las fuerzas de retención fueran más débiles y por tanto donde la desorción fuera más fácil. Esta suposición está de acuerdo con la disminución de los valores de las cantidades adsorbidas y de K_{oc} a lo largo del periodo de incubación para todos los herbicidas estudiados. En este sentido, González-Vila et al., (1999) encontraron diferencias significativas en la composición cualitativa de la fracción lipídica en suelos enmendados con compost de residuos urbanos. Numerosos estudios ponen de manifiesto un fenómeno de competencia por los sitios de adsorción entre plaguicidas y m.o. disuelta de naturaleza exógena (Barriuso et al., 1997; Businelli, 1997; Celis et al., 1998), pero se conoce poco sobre cómo el proceso de maduración de la m.o. exógena en el suelo y sus interacciones con los constituyentes del mismo puede afectar a la desorción de herbicidas. Este punto debería ser contemplado en futuros estudios.

Tabla III.5. Valores de las constantes de Freundlich (k_{des} y $1/n_{des}$), del coeficiente de determinación (R^2), del coeficiente de histéresis, H, y del porcentaje desorbido de herbicidas triazínicos en suelo de olivar sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV) a tiempo de incubación 0 y 3 meses.

	$K_{des} \pm de^a$	$1/n_{des} \pm de^a$	R^2	$H^b \pm de^a$	$D^c \pm de^a$		$K_{fdes} \pm de^a$	$1/n_{des} \pm de^a$	R^2	$H^b \pm de^a$	$D^c \pm de^a$
Terbutilazina						Simazina					
SO	13,44 ± 0,40	0,28 ± 0,02	0,92	0,29 ± 0,03	40,27 ± 0,66	SO	4,09 ± 0,17	0,35 ± 0,02	0,94	0,41 ± 0,04	52,02 ± 2,25
SO-3	7,77 ± 0,45	0,41 ± 0,03	0,90	0,38 ± 0,03	43,85 ± 0,51	SO-3	3,83 ± 0,33	0,37 ± 0,04	0,91	0,50 ± 0,07	47,45 ± 4,66
SOA	40,64 ± 0,27	0,19 ± 0,01	0,93	0,20 ± 0,01	22,25 ± 1,15	SOA	5,55 ± 0,32	0,41 ± 0,03	0,90	0,46 ± 0,04	56,96 ± 3,69
SOA-3	2,10 ± 0,27	1,13 ± 0,07	0,94	0,98 ± 0,08	78,13 ± 0,18	SOA-3	0,59 ± 0,11	1,19 ± 0,09	0,92	1,55 ± 0,19	99,84 ± 1,76
SOC	21,22 ± 0,39	0,21 ± 0,01	0,95	0,27 ± 0,02	30,37 ± 0,12	SOC	5,36 ± 0,17	0,30 ± 0,02	0,97	0,39 ± 0,03	51,23 ± 2,06
SOC-3	1,60 ± 0,31	1,33 ± 0,11	0,91	1,14 ± 0,1	81,33 ± 0,81	SOC-3	0,53 ± 0,12	1,21 ± 0,10	0,94	1,27 ± 0,14	110,55 ± 20,73
SOV	23,74 ± 0,45	0,17 ± 0,01	0,92	0,22 ± 0,02	25,95 ± 0,53	SOV	4,48 ± 0,17	0,44 ± 0,02	0,97	0,74 ± 0,05	59,72 ± 5,31
SOV-3	3,23 ± 0,41	0,99 ± 0,07	0,92	0,90 ± 0,07	72,80 ± 0,83	SOV-3	1,79 ± 0,24	0,76 ± 0,06	0,94	0,87 ± 0,09	114,83 ± 9,09
Prometrina						Cianazina					
SO	11,34 ± 0,32	0,27 ± 0,02	0,95	0,40 ± 0,03	42,69 ± 0,82	SO	5,09 ± 0,18	0,31 ± 0,02	0,95	0,31 ± 0,03	47,36 ± 1,55
SO-3	7,87 ± 0,31	0,32 ± 0,02	0,92	0,44 ± 0,04	46,51 ± 2,29	SO-3	4,53 ± 0,25	0,35 ± 0,03	0,93	0,31 ± 0,04	44,98 ± 0,96
SOA	35,14 ± 0,61	0,21 ± 0,01	0,93	0,33 ± 0,03	20,11 ± 0,84	SOA	10,50 ± 0,17	0,32 ± 0,01	0,99	0,30 ± 0,02	51,56 ± 0,99
SOA-3	11,11 ± 0,35	0,36 ± 0,02	0,96	0,53 ± 0,05	46,98 ± 1,03	SOA-3	0,46 ± 0,11	1,26 ± 0,12	0,92	1,43 ± 0,16	118,62 ± 3,18
SOC	19,01 ± 0,49	0,21 ± 0,02	0,93	0,35 ± 0,03	26,34 ± 2,83	SOC	6,17 ± 0,33	0,39 ± 0,03	0,91	0,46 ± 0,05	54,37 ± 2,46
SOC-3	14,84 ± 0,35	0,31 ± 0,01	0,96	0,37 ± 0,02	42,58 ± 0,88	SOC-3	1,16 ± 0,27	0,95 ± 0,10	0,90	0,87 ± 0,11	108,08 ± 1,60
SOV	19,65 ± 0,44	0,18 ± 0,01	0,96	0,29 ± 0,02	28,25 ± 1,49	SOV	6,04 ± 0,39	0,39 ± 0,04	0,91	0,48 ± 0,06	57,54 ± 5,49
SOV-3	18,68 ± 0,37	0,21 ± 0,01	0,95	0,27 ± 0,03	33,39 ± 2,29	SOV-3	1,76 ± 0,27	0,80 ± 0,07	0,91	0,74 ± 0,09	101,71 ± 1,91

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^b Coeficiente de histéresis, $H = 1/n_{des}/1/n$. ^c D: porcentaje de herbicida desorbido después de cuatro etapas de desorción.

2.2.6. ADSORCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO AL QUE SE EXTRAEN DISTINTAS FRACCIONES ORGÁNICAS

Como hemos apuntado anteriormente distintas fracciones orgánicas del suelo y de las enmiendas podrían estar implicadas de forma más activa en la adsorción de herbicidas triazínicos, bien favoreciendo la retención de estos compuestos o dificultándola. Así por ejemplo, existen estudios que manifiestan una potenciación de la adsorción de simazina y otras triazinas por la fracción lipídica de la m.o. (Albarrán et al., 2004), mientras que la m.o. disuelta disminuye la adsorción (Gao et al., 1997; Spark y Swift, 2002). Con objeto de aclarar este punto y estudiar el efecto sobre la adsorción de triazinas en suelo de distintas fracciones orgánicas aportadas por las enmiendas se realizó un estudio comparativo entre la adsorción de herbicidas en suelo sin enmendar o enmendado y los mismos sustratos sometidos a distintos procesos de extracción (apartado II.2.2.3.j) para eliminar la fracción hidrosoluble, los lípidos y los ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF).

A los resultados se les practicó un análisis estadístico ANOVA de comparación de la varianza para establecer las diferencias significativas entre muestras.

El contenido en CO y el pH de las muestras se recogen en el Anexo I. Tabla 1.

2.2.6.a) Suelo sin enmendar

Los resultados del estudio de adsorción de los herbicidas triazínicos estudiados en distintas fracciones orgánicas de suelo de olivar sin enmendar se recogen en la Tabla III.6.

Cuando estudiamos la adsorción de herbicidas triazínicos en distintas fracciones del suelo de olivar, fracción hidrosoluble, lípidos y AF y AH, deducimos que todas las triazinas presentan un comportamiento similar frente a la adsorción.

La constante de adsorción, K_d , de las triazinas disminuye con la reducción del porcentaje de CO (Tabla III.6, Figura III.10). Dado que el contenido en hidrosoluble y lípidos del suelo fue prácticamente nulo (apartado II.3.4), no se produjeron variaciones en el contenido de CO del suelo y tampoco en los valores de K_d para ninguna de las triazinas estudiadas (Tabla III.6, Figura III.10). Sin embargo, la disminución de CO del suelo tras la extracción de AH Y AF fue aproximadamente 37%, lo que produjo un descenso en los valores de K_d de un 56%, 50%, 62% y 57%, para simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina, respectivamente.

La misma tendencia, que la explicada para K_d , disminución con el % de CO, se observó en los valores de K_{oc} indicando la contribución de los AH y AF a la adsorción de triazinas al suelo (Tabla III.6, Figura III.10). Sin embargo, la reducción de los valores de K_{oc} en suelo sin hidrosoluble, lípidos y AH y AF (SO_{HF}) supuso, aproximadamente, un 30% para simazina, cianazina y prometrina y un 20 % para terbutilazina respecto al valor de este parámetro en

suelo de olivar sin extraer (SO). Existe por tanto, una adsorción importante en otras fracciones orgánicas como la humina, que representa un 63% del CO del suelo y/o en la fracción mineral (Barriuso et al., 1994; Burkart et al., 1999). Payá-Pérez et al. (1992) establecieron mediante un análisis de regresión lineal múltiple que los ácidos húmicos y la humina eran las fracciones de la m.o. que más activamente afectaban a la adsorción de atrazina (71% y 26%, respectivamente). Por el contrario otros componentes del suelo como arcillas, limos, óxidos de aluminio, magnesio e hierro jugaban un papel menor, pero su importancia aumentaba en suelos con bajo contenido en m.o. (Arienzo et al., 1994; Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano, 1991).

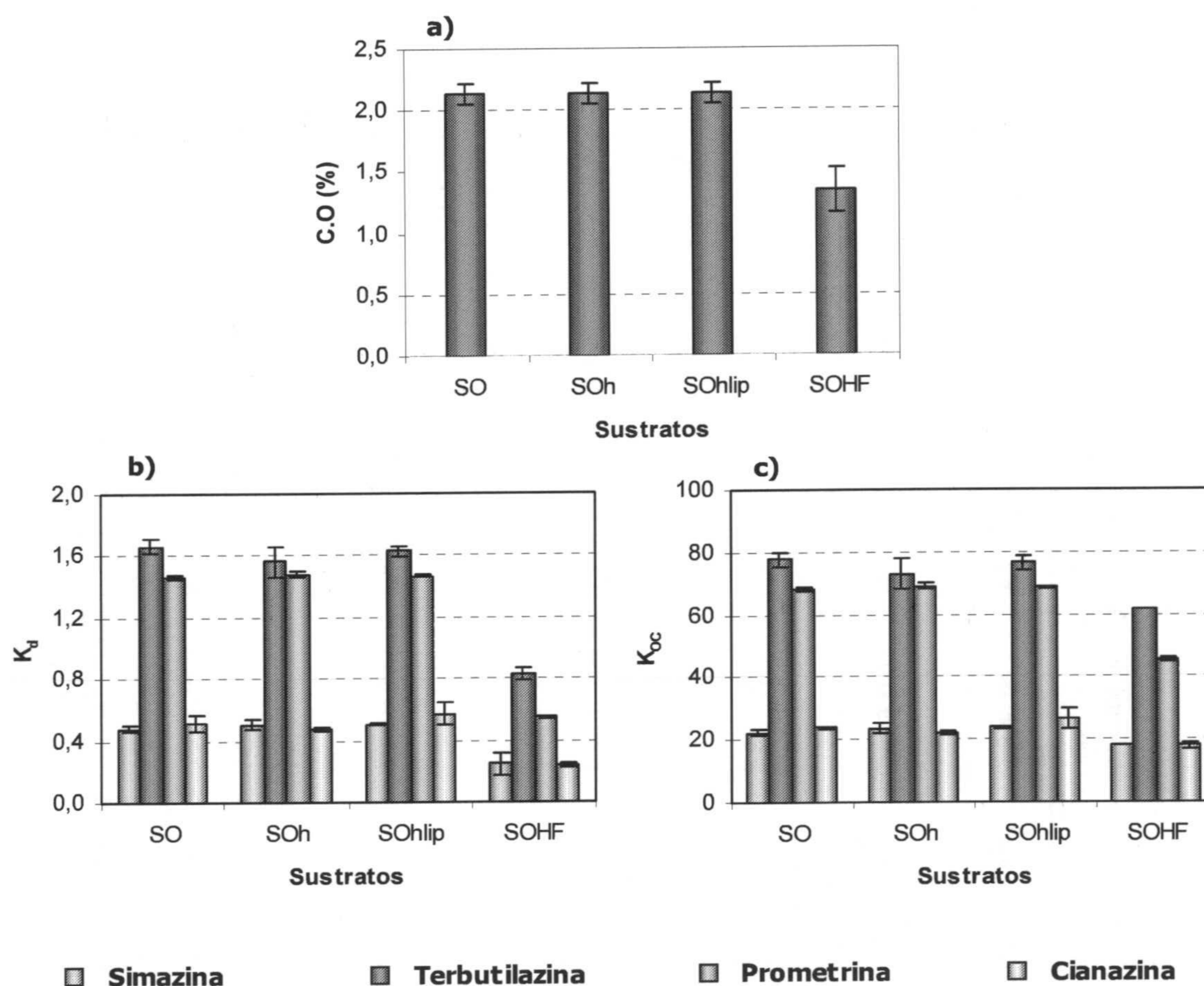


Figura III.10. a) Valores del contenido de CO (%) de suelo de olivar (SO) y suelo de olivar sin la fracción hidrosoluble (SO_h), sin la fracción hidrosoluble y lípidos (SO_{hlip}) y sin la fracción hidrosoluble, lípidos y AH y F (SO_{HF}); b) Valores de K_d y c) valores de K_{oc} de los herbicidas triazínicos en los sustratos anteriores.

Tabla III.6. Valores de los coeficientes de adsorción, K_d y K_{oc} , de triazinas en suelo de olivar sin enmendar y enmendado a dosis alta (8 %) para las distintas fracciones del suelo.

	C.O (%)± de^a	K_d ± de^a	K_{oc}^b ± de^a		C.O (%)± de^a	K_d ± de^a	K_{oc}^b ± de^a
Terbutilazina				Prometrina			
SO	2,14 ± 0,08	1,66 ± 0,05	77,76 ± 2,16	SO	2,14 ± 0,08	1,46 ± 0,01	68,08 ± 0,61
SO_h	2,14 ± 0,08	1,56 ± 0,10	72,95 ± 4,70	SO_h	2,14 ± 0,08	1,48 ± 0,02	68,98 ± 0,97
SO_{hlip}	2,13 ± 0,09	1,63 ± 0,04	76,33 ± 2,12	SO_{hlip}	2,13 ± 0,09	1,46 ± 0,01	68,55 ± 0,29
SO_{HF}	1,34 ± 0,18	0,83 ± 0,04	61,80 ± 2,99	SO_{HF}	1,34 ± 0,18	0,55 ± 0,01	45,58 ± 0,65
SOA	4,85 ± 0,20	9,12 ± 0,27	187,11 ± 5,49	SOA	4,85 ± 0,20	11,78 ± 0,46	241,51 ± 9,50
SOA_h	4,63 ± 0,25	6,51 ± 0,45	140,01 ± 9,67	SOA_h	4,63 ± 0,25	7,85 ± 0,33	168,68 ± 7,13
SOA_{hlip}	4,38 ± 0,25	8,08 ± 0,09	183,58 ± 2,13	SOA_{hlip}	4,38 ± 0,25	10,53 ± 0,45	239,12 ± 10,17
SOA_{HF}	3,24 ± 0,37	6,47 ± 0,11	197,83 ± 3,40	SOA_{HF}	3,24 ± 0,37	7,78 ± 0,22	237,89 ± 6,67
SOC	3,59 ± 0,16	2,90 ± 0,23	80,12 ± 6,34	SOC	3,59 ± 0,16	2,83 ± 0,18	78,16 ± 0,26
SOC_h	3,53 ± 0,16	2,65 ± 0,17	74,48 ± 4,65	SOC_h	3,53 ± 0,16	2,65 ± 0,16	70,25 ± 5,65
SOC_{hlip}	3,53 ± 0,16	2,85 ± 0,15	80,24 ± 4,36	SOC_{hlip}	3,53 ± 0,16	2,53 ± 0,11	71,16 ± 3,19
SOC_{HF}	2,81 ± 0,22	2,30 ± 0,08	81,10 ± 2,91	SOC_{HF}	2,81 ± 0,22	2,23 ± 0,04	78,61 ± 1,39
SOV	3,75 ± 0,16	3,50 ± 0,13	92,77 ± 3,38	SOV	3,75 ± 0,16	3,67 ± 0,07	97,15 ± 1,80
SOV_h	3,71 ± 0,11	3,19 ± 0,14	85,54 ± 4,56	SOV_h	3,71 ± 0,11	3,33 ± 0,26	89,27 ± 6,97
SOV_{hlip}	3,70 ± 0,11	3,26 ± 0,08	87,52 ± 2,86	SOV_{hlip}	3,70 ± 0,11	3,51 ± 0,08	94,05 ± 2,02
SOV_{HF}	2,77 ± 0,16	2,66 ± 0,12	95,07 ± 4,13	SOV_{HF}	2,77 ± 0,16	2,81 ± 0,16	102,45 ± 5,64

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^bCalculada como $K_{oc} = K_d (10 \text{ mg L}^{-1}) * 100 / \%OC$.

Significado de los subíndices en las muestras de suelo, h: suelo sin hidrosoluble; hlip: suelo sin hidrosoluble, ni lípidos; HF: suelo sin hidrosoluble, ni lípidos, ni ácidos húmicos y fúlvicos.

Tabla III.6. Continuación

	C.O (%)± de ^a	K _d ± de ^a	K _{oc} ^b ± de ^a		C.O (%)± de ^a	K _d ± de ^a	K _{oc} ^b ± de ^a
Simazina				Cianazina			
SO	2,14 ± 0,08	0,48 ± 0,02	22,31 ± 0,83	SO	2,14 ± 0,08	0,51 ± 0,05	23,87 ± 0,41
SO_h	2,14 ± 0,08	0,51 ± 0,03	23,63 ± 1,60	SO_h	2,14 ± 0,08	0,48 ± 0,01	22,22 ± 0,59
SO_{hlip}	2,13 ± 0,09	0,50 ± 0,01	23,71 ± 0,16	SO_{hlip}	2,13 ± 0,09	0,57 ± 0,07	26,78 ± 3,40
SO_{HF}	1,34 ± 0,18	0,24 ± 0,04	18,20 ± 0,14	SO_{HF}	1,34 ± 0,18	0,24 ± 0,02	17,91 ± 1,17
SOA	4,85 ± 0,20	1,38 ± 0,09	36,07 ± 2,82	SOA	4,85 ± 0,20	1,99 ± 0,11	28,57 ± 2,34
SOA_h	4,63 ± 0,25	1,35 ± 0,09	29,92 ± 2,04	SOA_h	4,63 ± 0,25	1,28 ± 0,13	27,44 ± 3,07
SOA_{hlip}	4,38 ± 0,25	1,42 ± 0,06	32,93 ± 2,52	SOA_{hlip}	4,38 ± 0,25	1,40 ± 0,03	31,76 ± 0,73
SOA_{HF}	3,24 ± 0,37	1,12 ± 0,05	34,28 ± 1,56	SOA_{HF}	3,24 ± 0,37	0,98 ± 0,03	30,05 ± 0,94
SOC	3,59 ± 0,16	1,04 ± 0,04	28,77 ± 1,04	SOC	3,59 ± 0,16	0,82 ± 0,17	22,59 ± 4,67
SOC_h	3,53 ± 0,16	0,98 ± 0,03	27,63 ± 0,71	SOC_h	3,53 ± 0,16	0,88 ± 0,11	24,85 ± 2,97
SOC_{hlip}	3,53 ± 0,16	0,98 ± 0,02	27,47 ± 0,51	SOC_{hlip}	3,53 ± 0,16	0,80 ± 0,07	22,42 ± 2,10
SOC_{HF}	2,81 ± 0,22	0,71 ± 0,07	25,09 ± 2,44	SOC_{HF}	2,81 ± 0,22	0,57 ± 0,07	20,21 ± 2,60
SOV	3,75 ± 0,16	1,04 ± 0,12	27,62 ± 3,15	SOV	3,75 ± 0,16	0,85 ± 0,13	22,63 ± 3,51
SOV_h	3,71 ± 0,11	1,04 ± 0,13	28,88 ± 1,28	SOV_h	3,71 ± 0,11	0,92 ± 0,08	24,77 ± 2,13
SOV_{hlip}	3,70 ± 0,11	1,09 ± 0,07	30,25 ± 0,60	SOV_{hlip}	3,70 ± 0,11	0,92 ± 0,08	24,38 ± 1,75
SOV_{HF}	2,77 ± 0,16	0,80 ± 0,04	28,60 ± 2,70	SOV_{HF}	2,77 ± 0,16	0,53 ± 0,05	21,88 ± 2,30

^aDesviación estándar de dos réplicas. ^bCalculada como $K_{oc} = K_d (10 \text{ mg L}^{-1}) * 100 / \%OC$.

Significado de los subíndices en las muestras de suelo, h: suelo sin hidrosoluble; hlip: suelo sin hidrosoluble, ni lípidos; HF: suelo sin hidrosoluble, ni lípidos, ni ácidos húmicos y fúlvicos.

2.2.6.b) SUELOS ENMENDADOS

Al igual que ocurre en el suelo sin enmendar, en los suelos enmendados con alperujo, compost y vermicompost de alperujo, los valores de K_d disminuyen, en general, al descender el porcentaje de CO, manifestando, una vez más, la importancia de la m.o. en la adsorción de las triazinas estudiadas (Tabla III.6; Figuras III.11 y III.12).

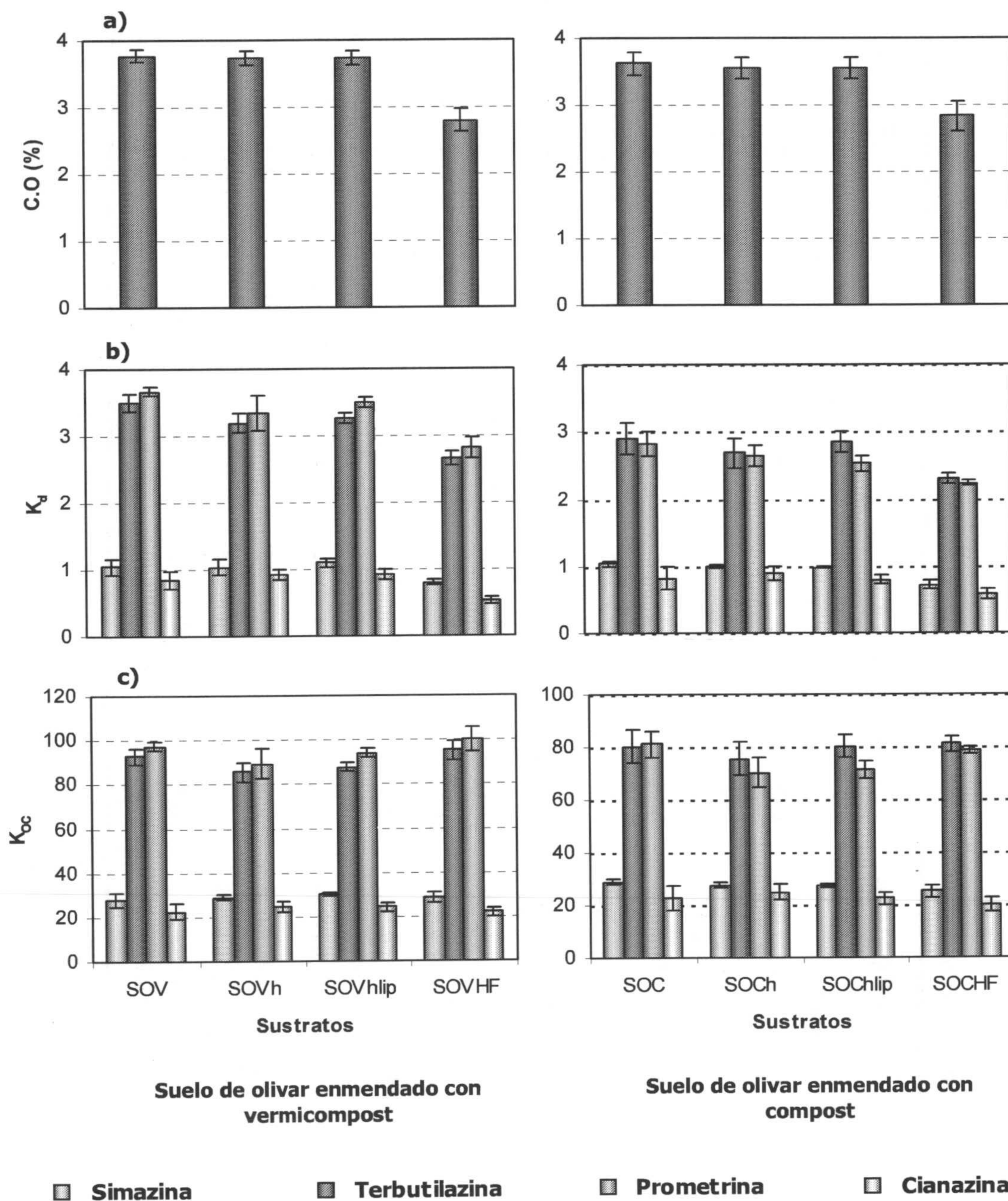


Figura III.11. a) Valores del contenido de CO (%) de suelo de olivar enmendado con vermicompost y compost de alperujo y los mismos sustratos sin la fracción hidrosoluble (SOV_h y SOC_h), sin la fracción hidrosoluble y lípidos (SOV_{hlip} y SOC_{hlip}) y sin la fracción hidrosoluble, lípidos y AH y F (SOV_{HF} y SOC_{HF}); b) Valores de K_d y c) valores de K_{oc} de herbicidas triazínicos en los sustratos anteriores.

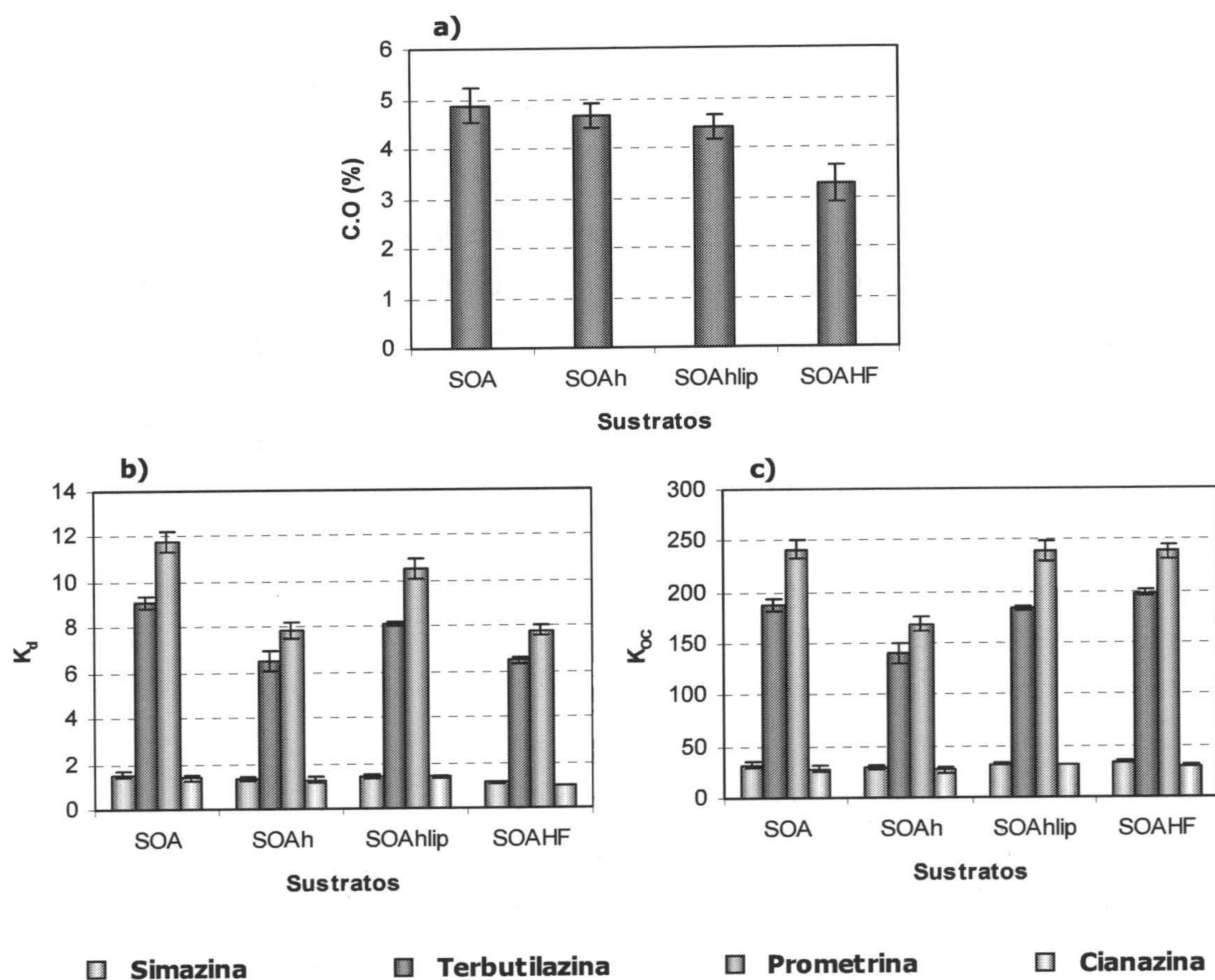


Figura III.12. a) Valores del contenido de CO (%) de suelo de olivar enmendado con alperujo y el mismo sustrato sin la fracción hidrosoluble (SOA_h), sin la fracción hidrosoluble y lípidos (SOA_{hlip}) y sin la fracción hidrosoluble, lípidos y AH y F (SOA_{HF}); b) Valores de K_d y c) valores de K_{oc} de herbicidas triazínicos en los sustratos anteriores.

En suelos enmendados con compost y vermicompost la extracción de la fracción hidrosoluble y lipídica no produjo una variación significativa ($P > 0,05$) en el valor de K_d obtenido en suelo enmendado con compost y vermicompost para cada una de las triazinas empleadas, lo cual es esperable puesto que, como se observa en la Figura III.11, la eliminación de estas dos fracciones no supuso cambios significativos en el contenido en CO del suelo. Por el contrario, la eliminación de AH y AF produce una reducción del CO del suelo del 20% en el caso del suelo enmendado con compost y el 25% en el enmendado con vermicompost. Esta disminución del CO del suelo originó un descenso en los valores de K_d entre el 20 y el 30% para todas las triazinas estudiadas.

En el suelo enmendado con alperujo, el parámetro K_d de los herbicidas menos hidrófobos, simazina y cianazina, presentó la misma tendencia que se ha explicado en el párrafo anterior en suelos enmendados con los productos biotransformados (Tabla III.6; Figura III.12), es decir, tan sólo la extracción previa de AH y AF (fracción que representa el 26% del

CO del suelo enmendado con alperujo) produjo una reducción de aproximadamente el 30% en los valores de K_d para estos dos herbicidas. A pesar de que en este caso, dado el gran contenido en hidrosoluble y lípidos del alperujo (Tabla II.7), la extracción de estas dos fracciones supuso una disminución en el contenido en CO del suelo del 4,6 y 5,3, respectivamente. La baja adsorción de estos dos herbicidas determina este comportamiento. Por otro lado, la extracción sucesiva de las distintas fracciones orgánicas, hidrosoluble, lípidos y AH y AF, produjeron la disminución de los valores de K_d de los herbicidas más hidrófobos, terbutilazina y prometrina. Para estos dos plaguicidas, cabe destacar la mayor reducción experimentada en el suelo enmendado con alperujo sin hidrosoluble (28,6% y 33,4% para T y P, respectivamente) respecto al suelo sin hidrosoluble y lípidos (11,4% para T y 10,6% para P) (Tabla III.6; Figura III.12). Este hecho podría atribuirse a que la m.o. disuelta del alperujo presenta una gran capacidad de adsorción para estos dos compuestos, como se explicará más adelante, y por tanto su eliminación reduce la adsorción de estos dos herbicidas. Los lípidos del alperujo, por su parte, producirían el efecto contrario, es decir, perjudicarían la adsorción de triazinas en suelo de olivar. La extracción de AH y AF del suelo enmendado con alperujo supuso una reducción en los valores de K_d de 19,9% para terbutilazina y 26,1% para prometrina, similar a la producida cuando se extrae el hidrosoluble.

Los valores de K_{oc} dan idea de cual de las fracciones orgánicas estudiadas tiene mayor capacidad de adsorción. En la Tabla III.6 se recogen los valores de este parámetro para el suelo enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo y estos mismos sustratos sin la fracción hidrosoluble, sin lípidos y sin AH y AF.

Como puede deducirse de la Tabla III.6 y de la Figura III.11, las distintas fracciones del suelo enmendado con compost y vermicompost presentan una pauta similar frente a la adsorción de triazinas, lo cual era esperable si tenemos en cuenta las similitudes relativas a la composición de ambas enmiendas, previamente descritas. Para estas enmiendas no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) en los valores de K_{oc} de los distintos herbicidas para los distintos sustratos ensayados. Los valores de K_{oc} del suelo sin hidrosoluble, lípidos y AH y AF, no difieren de los del suelo enmendado con compost y vermicompost sin someterlo a procesos de extracción ($P > 0,05$). Esto sugiere la poca influencia de la fracción de ácidos húmicos y fúlvicos aportada por compost y vermicompost en la adsorción de triazinas al suelo.

En el suelo enmendado con alperujo, la extracción de distintas fracciones orgánicas no supuso cambios significativos en los valores de K_{oc} de los herbicidas menos hidrófobos, simazina y cianazina, al igual que sucede en suelo adicionado con compost y vermicompost. Para terbutilazina y prometrina, sin embargo, se observó una disminución en los valores de K_{oc} cuando se retira el hidrosoluble del suelo enmendado, lo que manifiesta la importancia de esta fracción orgánica del alperujo en la retención en el suelo de estos dos compuestos. Por su parte, los lípidos aportados por el alperujo al suelo, no parecen contribuir a la adsorción en el medio edáfico de los herbicidas triazínicos, si no todo lo contrario puesto que, al igual que

ocurre cuando se extraen los AH y AF, no se produce diferencias significativas ($P > 0,05$) en los valores de K_{oc} respecto al suelo enmendado con alperujo que no ha sido sometido a ningún proceso de extracción.

Según estos resultados, la fracción hidrosoluble del alperujo contribuye de forma notoria a la adsorción de terbutilazina y prometrina en el suelo. La reducción de K_{oc} que experimentan las dos triazinas al eliminar esta fracción fue de 25% para terbutilazina y 30% para prometrina. Esto contradice lo manifestado por otros autores que atribuyen una menor adsorción de triazinas en presencia de MOS, principalmente debido a dos razones, la formación en solución de uniones estables entre las moléculas de plaguicida y la m.o. disuelta (Lee y Farmer, 1989; Barriuso et al., 1992; Businelli, 1997; Graber et al., 2001) y la competencia de ambas especies por los sitios de unión activos del suelo (Lee et al., 1990). No obstante, también existen referencias que exponen lo contrario (Spark y Swift, 2002). Celis et al. (1998) establecen que la m.o. soluble procedente de lodos de depuradora reduce la adsorción de atrazina, mientras que la procedente de los lodos compostados exhibe una elevada capacidad de adsorción de este plaguicida debido a un incremento de las interacciones entre la atrazina-MOS-suelo. Los diferentes efectos encontrados de la m.o. soluble sobre la adsorción de triazinas sugieren que su naturaleza química y composición juegan un papel fundamental en los mecanismos de adsorción.

Barriuso et al. (1992) estudiaron el efecto de la m.o. soluble en la adsorción de diferentes plaguicidas, entre ellos atrazina y observaron que cuando la atrazina se mezcla con la m.o. disuelta antes de su adición al suelo y por un periodo de tiempo de 8 d, se producían complejos solubles entre las moléculas de herbicida y las de la m.o. disuelta que aumentaban la solubilidad del herbicida y por tanto disminuyen su adsorción. Por el contrario si la m.o. soluble se adiciona al suelo antes de la aplicación del plaguicida (como sucede en nuestro caso), y se preincuba durante 8 d, se observa un aumento en la adsorción de atrazina.

Además, estos autores manifiestan una disminución en la concentración de CO en solución después de 8 d de preincubación de la MOS y el suelo, respecto a la concentración inicial, produciéndose el mayor descenso durante las primeras 24 h de contacto. En efecto, muchos investigadores han mostrado que la MOS puede ser inmovilizada en el suelo a través de complejas interacciones con la fracción mineral y m.o. del suelo (Jardine et al., 1989; Dalva y Moore, 1992; Riffaldi et al., 1998).

Las características del suelo usado probablemente lo hagan apto para la adsorción de una porción de la MOS en función de su reactividad, hidrofobicidad y tamaño molecular. De modo que sólo las moléculas hidrofílicas de la MOS permanecerían en solución. La adsorción de parte de la fracción hidrosoluble podría modificar las características hidrofóbicas e hidrofílicas de la superficie del suelo y aumentar los sitios de adsorción para las moléculas más hidrófobas como terbutilazina y prometrina, sin intervenir en la adsorción de las más hidrófilas como simazina y cianazina (Ilani et al., 2005).

Además, al extraer las fracciones solubles, como estas pueden actuar de puentes entre la m.o. y la fracción mineral (sobre todo en presencia de Ca y Fe, Al y Mg), cambia la microestructura del suelo, se destruyen agregados, y se pierden posibles sitios de adsorción consistentes en microporos, microcanales o microcompartimentos donde los pesticidas se retienen por difusión (Cox et al., 1997). Es también presumible que la extracción de estas fracciones disminuya la agregación y con ello la superficie total activa del suelo.

La retirada de lípidos y AH y AF tiene como consecuencia la liberación de sitios activos de la fracción húmica, que permanece en el suelo y que representa el 65% del CO del suelo enmendado con alperujo, y/o de la fracción mineral, antes ocupados por las fracciones de la m.o. exógena extraídas y que ahora pudieran quedar accesibles a las moléculas de plaguicidas. Esto contrarestaría la disminución en la adsorción de terbutilazina y prometrina provocada por la eliminación del hidrosoluble y explicaría el aumento en los valores de K_{oc} del suelo sin hidrosoluble, ni lípidos (SOA_{lip}) y del suelo sin hidrosoluble, ni lípidos ni AH y AF (SOA_{HF}), respecto al suelo al que sólo se le ha extraído la fracción hidrosoluble.

Además de lo anterior, es importante tener en cuenta que durante los procesos de extracción de las distintas fracciones se pueden producir alteraciones en las características del suelo que condicionarían cambios en la adsorción de compuestos orgánicos como los plaguicidas. Por ejemplo, la extracción de la fracción lipídica en Soxhlet usando como extractante éter de petróleo puede provocar una reducción en el área superficial del suelo, del mismo modo que se ha descrito por otros autores (Wolf et al., 1989) para los procesos de esterilización por autoclavado, como consecuencia del aumento de temperatura. También, la extracción con soluciones alcalinas elimina los cationes polivalentes del suelo que actuarían como puentes entre la m.o. y la fracción mineral afectando a la competencia por los sitios activos. Otros cambios químicos que puede pueden ocurrir en soluciones alcalinas son la autooxidación de algunos constituyentes orgánicos en contacto con el aire y la condensación entre aminoácidos y el grupo C=O de los aldehidos aromáticos o las quinonas (Stevenson, 1982). Según esto, los resultados sobre la adsorción de triazinas en los sustratos sin lípidos, ni AH y AF, en los que el proceso de extracción es susceptible de provocar cambios mayores, podrían inducir conclusiones erróneas. Sin embargo, como describe Hamaker y Thomson (1992) el suelo es una mezcla "sucia" en la que muchas sustancias compiten por lugares de adsorción. Por lo tanto, la adsorción de moléculas complejas en el suelo no puede considerarse como la suma de la adsorción en fracciones de suelo. En resumen, el estudio de la adsorción sobre las distintas fracciones debe entenderse como una estrategia para comprender los procesos implicados aunque supongan tan sólo una aproximación al mecanismo real.



SULFONILUREAS



3.1. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.1. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN

La Figura III.13 esquematiza el procedimiento seguido en los estudios cinéticos y de adsorción de los herbicidas sulfonilureicos en suelo.

Para la realización de los estudios cinéticos se pesaron por duplicado, en tubos Pyrex de vidrio de 25 mL con tapón de rosca, 5 g de sustrato, a los que se añadieron 20 mL de una solución acuosa de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón a una concentración de 5 mg L⁻¹.

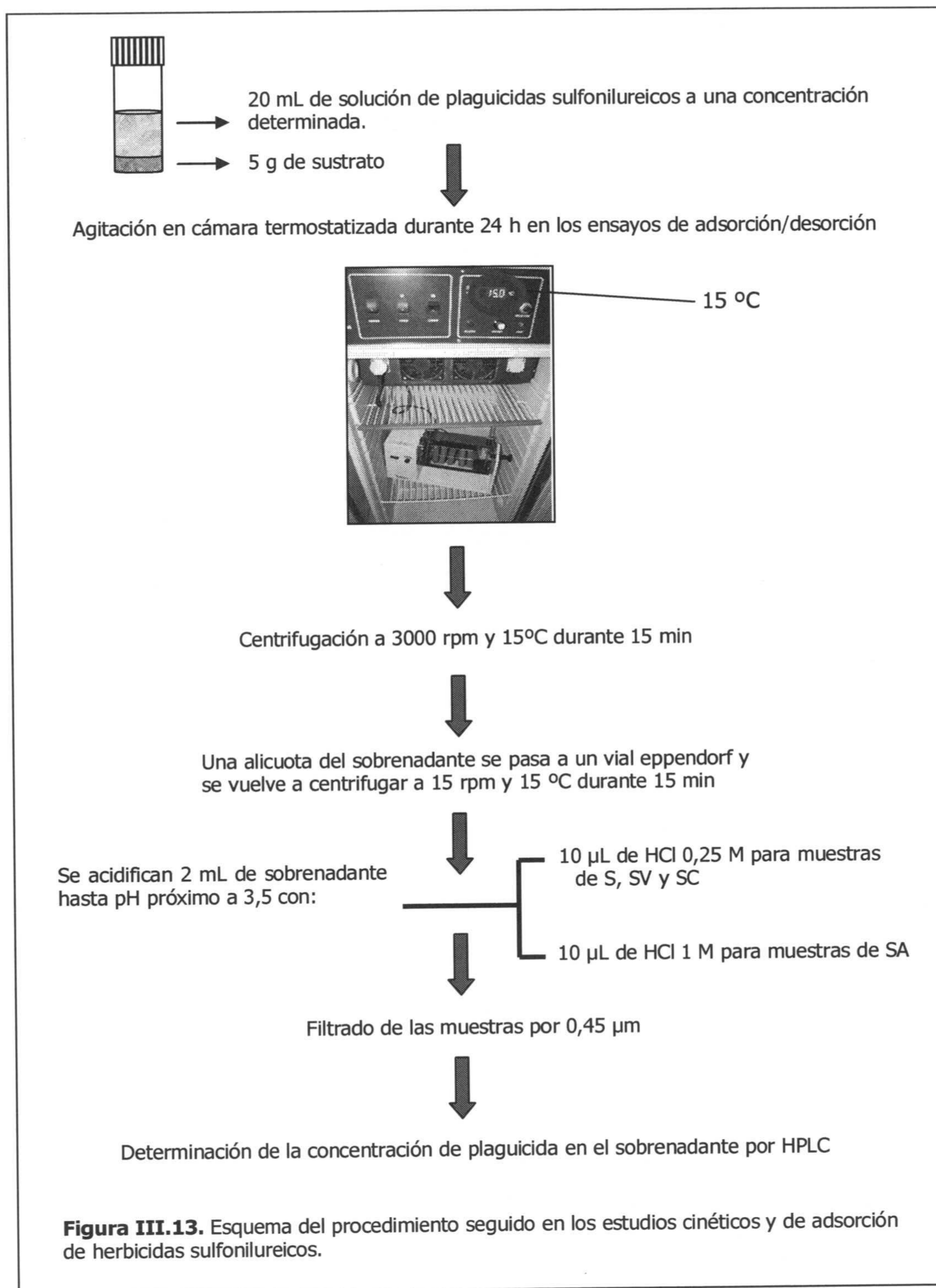
El sustrato empleado en los estudios cinéticos consistió en suelo de la vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%).

La mezcla se agitó y se introdujo en cámara termostatzada (Selecta Hotcold-M) a 15 °C ± 1 °C. Cada muestra, preparada de igual forma que el resto, permaneció incubándose un tiempo comprendido entre 0 min y 48 h. Transcurrido el tiempo correspondiente, la muestra se centrifugó a 3000 rpm y 15 °C ± 1 °C durante 15 min (centrífuga Eppendorf 5810 CR).

Tras la centrifugación se obtuvo un sobrenadante coloreado y con materia en suspensión. La cantidad, el tamaño y la existencia de grupos cromóforos en el material en suspensión dependen del sustrato empleado (Figura III.14). Así, las muestras de suelo enmendado con alperujo presentaron el sobrenadante más coloreado y con partículas en suspensión de mayor tamaño, visibles a simple vista, mientras que en las de suelo sin enmendar el sobrenadante fue prácticamente transparente y la cantidad de partículas en suspensión visibles a simple vista fue muy baja. La presencia de materia en suspensión en el sobrenadante dificultaba el filtrado de la muestra antes de ser inyectada en el HPLC, para evitar este inconveniente una alícuota del sobrenadante obtenido tras la centrifugación, se pasó a un vial eppendorf y se volvió a centrifugar a 15000 g y 15 °C ± 1 °C durante 15 min (centrífuga Sigma modelo 2K15).

Posteriormente, para evitar variaciones en el tiempo de retención durante la determinación por HPLC se acidificaron 2 mL de sobrenadante hasta pH próximo a 3,5 con 10 µL de HCl 0,25 M para muestras con suelo sin enmendar y enmendado con compost y vermicompost y con 10 µL de HCl 1M para suelo enmendado con alperujo.

Todas las muestras fueron filtradas por filtros de 0,45 µm (Millipore) antes de su inyección en el cromatógrafo con objeto de eliminar partículas de tamaño superior que pudieran obturar los capilares del cromatógrafo o depositarse en la cabeza de la columna, lo que conllevaría un aumento en la presión y/o una modificación de la capacidad de separación de la columna cromatográfica.



La determinación analítica de los plaguicidas se realizó según se indica en el apartado 2.1.2.b.

La cantidad de plaguicida adsorbido (X , expresado en μg de plaguicida por g de suelo), se calculó por diferencia entre la concentración inicial y final del plaguicida en solución. Los datos se ajustaron a la ecuación hiperbólica [2] y los parámetros cinéticos se derivaron de la aplicación de la ecuación [3].

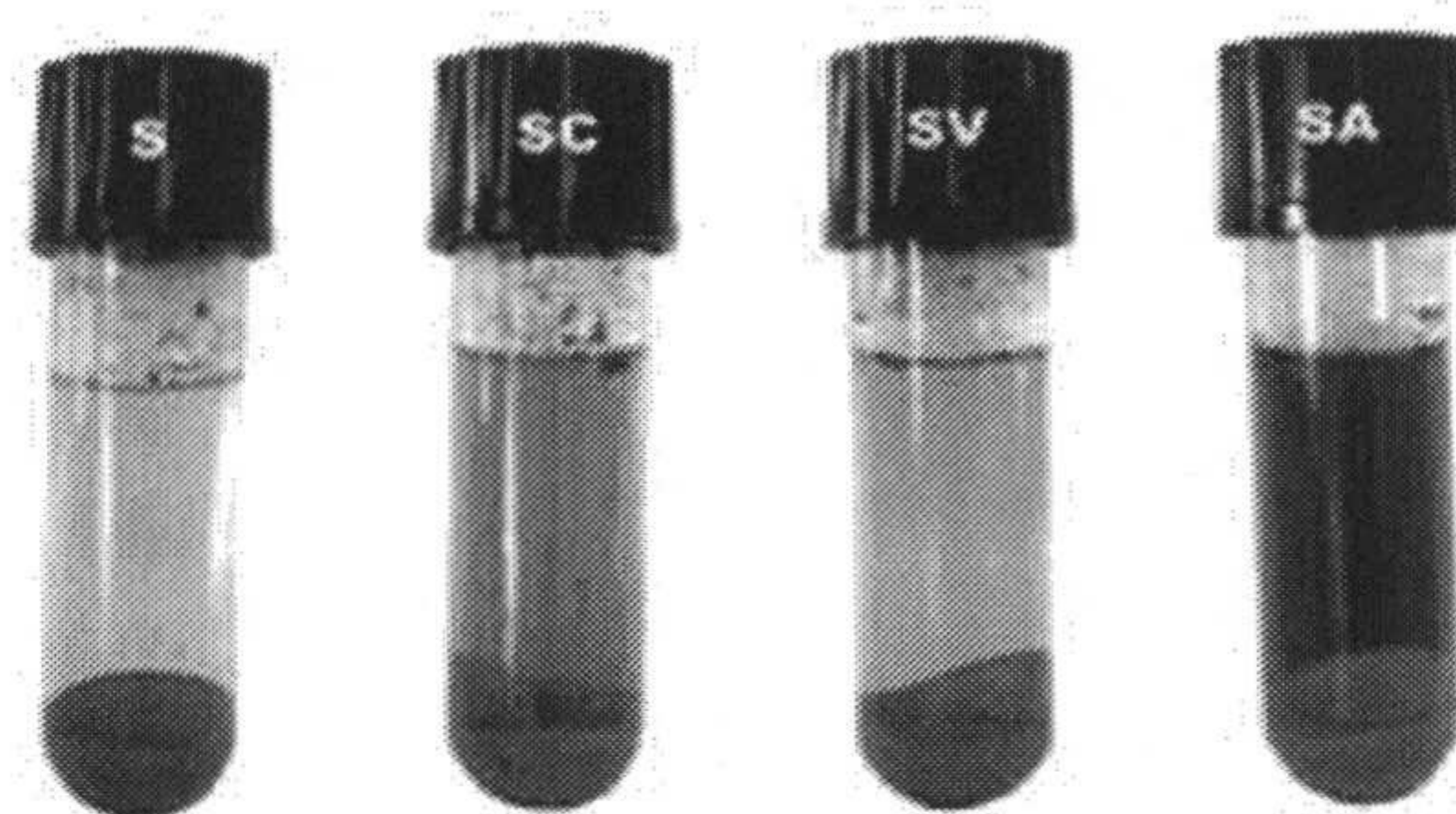


Figura III.14. Sobrenadantes obtenidos tras la centrifugación de una mezcla de una solución de sulfonilureas y suelo sin enmendar (S) y enmendado con compost (SC), vermicompost (SV) y alperujo (SA).

3.1.2. ISOTERMAS DE ADSORCIÓN/DESORCIÓN

Se pesaron por duplicado 5 g de sustrato a los que se añadieron 20 mL de soluciones acuosas de los herbicidas sulfonilureicos de concentración 2, 4, 6, 8 y 10 mg L⁻¹.

La mezcla se introdujo en tubos Pyrex de vidrio de 25 mL con tapón de rosca, se colocó en cámara termostatzada a 15 °C y se agitó durante 24 h, ya que según los resultados cinéticos a este tiempo se alcanza el equilibrio. A partir de aquí se siguió el mismo procedimiento indicado para las cinéticas en el apartado anterior.

Los estudios de desorción se realizaron con la concentración más alta de herbicida (10 mg L⁻¹). Después del periodo de adsorción, se reemplazaron 10 mL de sobrenadante con el mismo volumen de agua Milli-Q. La mezcla de los tubos se dispersó con la ayuda de un vórtex y los tubos se agitaron en cámara termostatzada a 15 °C durante 24 h. A partir de aquí se siguió el mismo procedimiento indicado para las cinéticas en el apartado anterior. El proceso de desorción se repitió cuatro veces.

Después del periodo de equilibrio en los ensayos de adsorción y desorción, se midió el pH de las muestras.

La cantidad de plaguicida adsorbido se calculó por diferencia entre la concentración inicial y final del plaguicida en solución. Los datos de adsorción se ajustaron a la ecuación de Freundlich [6].

Las isotermas de adsorción de herbicidas sulfonilureicos se realizaron para los siguientes sustratos:

- Suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%).
- Suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), incubado 3 meses.

- Suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble.
- Suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble, ni lípidos.
- Suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin hidrosoluble, ni lípidos, ni ácidos húmicos, ni fúlvicos.

La nomenclatura empleada para cada muestra, su contenido en carbono orgánico y el pH se recogen en el Anexo I, Tabla 3.

Los estudios de desorción sólo se realizaron para las isothermas realizadas con suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo a dosis alta (8%), sin incubar e incubado durante 3 meses.

3.1.3. EFECTO DE LA FUERZA IÓNICA Y DEL PH DEL SUELO EN LA ADSORCIÓN DE SULFONILUREAS.

Numerosos estudios (Spark et al., 2002; Hubert de Jorge et al., 1998; Dubus et al., 2001) evidencian la influencia de la fuerza iónica y el pH del suelo sobre la adsorción de compuestos de carácter ionizable, ya sean ácidos como las sulfonilureas o básicos.

Para determinar el efecto de la fuerza iónica en la adsorción de plaguicidas al suelo de la vega sin enmendar y enmendado con los distintos residuos de la industria del olivar, la solución de plaguicidas se preparó en agua MilliQ y en solución acuosa de CaCl_2 0,01 M.

También se realizaron estudios de adsorción en suelo de la vega variando el pH del mismo con objeto de establecer la influencia del pH del suelo en la adsorción de las sulfonilureas. Siguiendo el método descrito en Fontaine et al (1991), se prepararon seis soluciones de HCl en agua Milli-Q de concentraciones, 0,015 M, 0,15 M, 0,25, 1 M, 2 M y 3 M. A 5 g de suelo se añaden 10 mL de la solución acidificada. La mezcla se agitó en cámara termostaticada a $15\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ durante 12 h aproximadamente. Transcurrido este tiempo, se añadieron a las muestras 10 mL de una solución acuosa de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón de concentración 10 mg L^{-1} . Después de un periodo de agitación de 24 h a $15\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm y $15\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$, durante 15 minutos y se filtró una alícuota del sobrenadante por filtros HV de $0,45\mu\text{m}$.

La medida del pH final se realizó transcurridas 24h después de la agitación del suelo con la solución de herbicidas.

Las muestras se realizaron por triplicado y la determinación analítica de los plaguicidas se llevó a cabo por HPLC como se indica en el apartado II.2.1.2.b.

La cantidad de plaguicida adsorbido se calculó por diferencia entre la concentración inicial y final del plaguicida en solución. Los datos de adsorción se ajustaron a la ecuación lineal ($X = C_e * K_d$) y se determinó el coeficiente de distribución, K_d , definido en el apartado III.1.2.

3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.2.1. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN DE SULFONILUREAS

Los valores experimentales se han ajustado a la ecuación hiperbólica [2]. En la Figura III.15 se representan los puntos experimentales, junto con la curva teórica calculada a partir de los parámetros de dicha ecuación. No se representan las curvas cinéticas para clorsulfurón y prosulfurón en suelo de vega sin enmendar porque la adsorción de estos herbicidas fue nula en este sustrato.

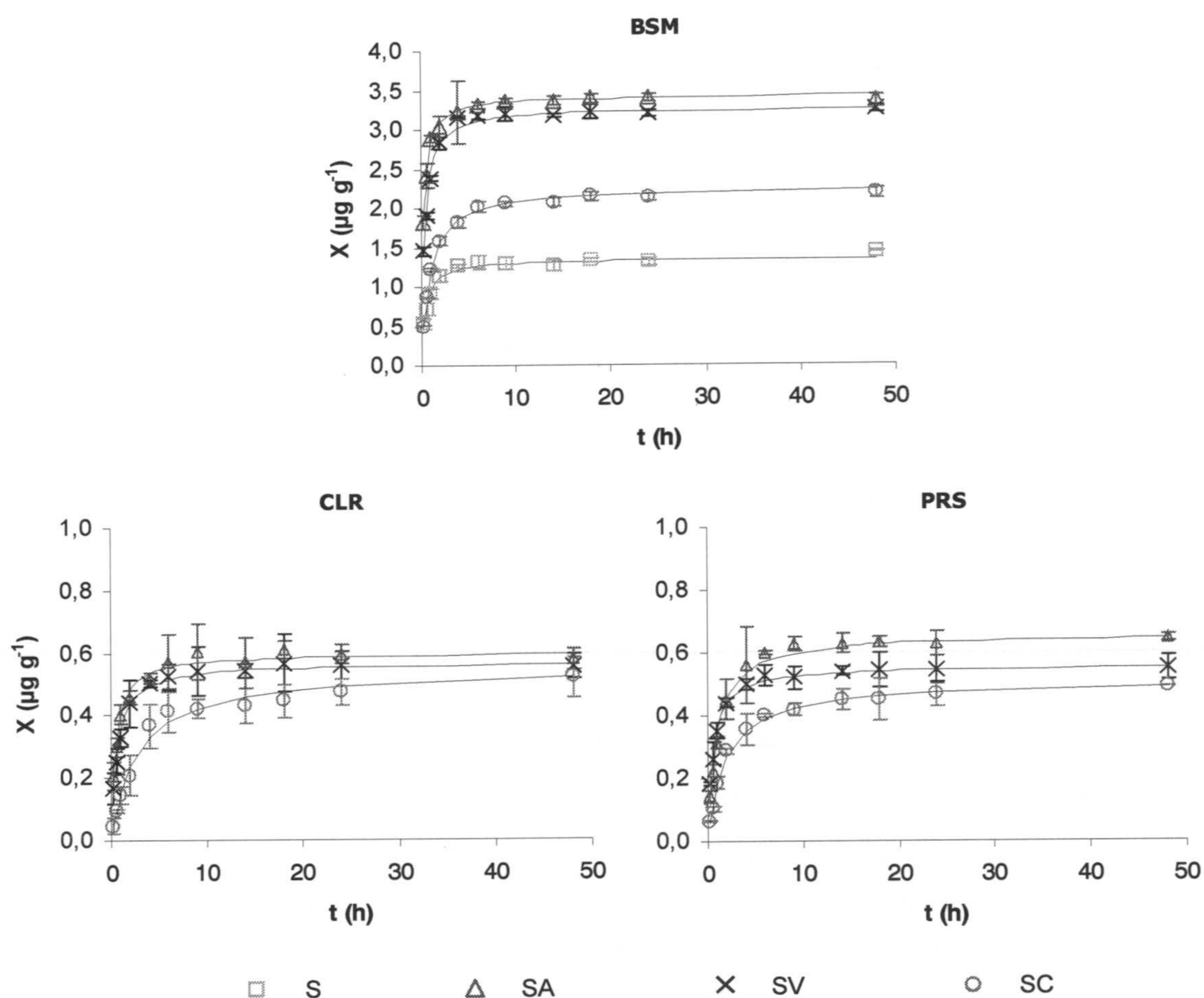


Figura III.15. Cinéticas de bensulfurón metilo (BSM), clorsulfurón (CLR) y prosulfurón (PRS) en suelo de vega (S) enmendado con alperujo (SA), compost de alperujo (SC) y vermicompost de alperujo (SV).

De las representaciones gráficas y del ANOVA de los resultados se deduce que la adsorción de los tres plaguicidas en suelo de vega enmendado con alperujo y vermicompost de alperujo alcanza el equilibrio transcurridas 4h de contacto entre el suelo y la solución de plaguicida. A partir de este tiempo no se encontraron diferencias significativas en los resultados obtenidos ($P \geq 0,4146$ y $P \geq 0,0745$, para vermicompost y alperujo, respectivamente). Cuando

el suelo es enmendado con compost de alperujo la concentración de los tres herbicidas ureicos alcanza el equilibrio a las 6h de contacto con el suelo, no observándose diferencias significativas de los resultados obtenidos a partir de ese momento ($P \geq 0,1359$).

La adsorción de bensulfurón en suelo de vega alcanza el equilibrio tras 4h de contacto, a partir de este tiempo las diferencias entre los resultados de concentración obtenidos no fueron significativas estadísticamente ($P = 0,1510$). No se produjo adsorción para clorsulfurón y prosulfurón en suelo de vega sin enmendar de ahí que no se representen las curvas cinéticas en este caso.

Transcurridas 48h de contacto no se observaron cambios en la concentración de plaguicidas respecto al tiempo al que se alcanza el equilibrio como se ha indicado anteriormente.

Otros autores muestran tiempos de equilibrio para sulfonilureas similares a los obtenidos en este trabajo. Así, Pusino et al. (2003, 2004a,) encuentran que aproximadamente el 95% de la adsorción de primisulfurón y triasulfurón en suelo se alcanza en las primeras 5h de contacto. Los mismos autores (Pusino et al., 2004b) observan que la concentración de azimsulfuron alcanza un pseudoequilibrio tras 7 h de contacto entre la solución del plaguicida y el suelo y que no se produjeron cambios en la concentración de azimsulfuron transcurridas 48h de agitación.

Los valores de los parámetros cinéticos obtenidos con las ecuaciones teóricas (2 y 3) aparecen resumidos en la Tabla III.7.

El ajuste de los datos al modelo hiperbólico ($R^2 > 0,95$) permite calcular el valor de la máxima cantidad de plaguicida adsorbida por el suelo, X_{max} (Tabla III.7). El mayor valor de X_{max} lo encontramos en el suelo enmendado con alperujo, aunque en el caso de CLR y PRS apenas hay diferencias con los valores de X_{max} obtenidos en el suelo enmendado con compost y vermicompost debido a la baja adsorción de estos compuestos.

Podemos establecer una correlación positiva entre X_{max} y el contenido en CO de los sustratos, obteniendo coeficientes de correlación de 0,96, 0,90 y 0,99 para clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón, respectivamente; y una correlación negativa entre X_{max} y el pH de cada sustrato. En este último caso los valores de los coeficientes de correlación son 0,99 para CLR, 0,62 para BSM y 0,99 para PRS. Estos resultados indican que el contenido en m.o. y el pH de los sustratos son los principales factores que controlan la adsorción de los tres herbicidas sulfonilureicos, si bien, la influencia del pH es mayor para los compuestos con pK_a más bajo, clorsulfurón y prosulfurón (Tabla II.7), como se verá posteriormente.

Tabla III.7. Datos cinéticos de la adsorción de clorsulfurón (CLR), bensulfurón (BSM) y prosulfurón (PRS) en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV).

	CLR			BSM			PRS		
	X_{\max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n	X_{\max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n	X_{\max} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	n
S	-	-	-	1,35	1,82	2,08	-	-	-
SC	0,55	1,32	2,12	2,27	1,95	2,01	0,51	1,39	2,17
SV	0,57	2,07	1,78	3,27	1,04	1,98	0,55	2,36	1,77
SA	0,60	2,80	1,93	3,43	1,31	2,00	0,66	1,51	1,85

El valor bajo de la constante de velocidad del proceso, k , indica una tasa de reacción relativamente baja, lo que sugiere que la adsorción es consecuencia de procesos de difusión en los poros de la materia orgánica (Dios Cancela et al., 1990). El orden de reacción, n , de la ecuación [3] es próximo a 2 (Tabla III.7) en todos los casos, lo que indica que se trata de reacciones de segundo orden, como se ha descrito para otros plaguicidas (Dios Cancela et al., 1992; Sánchez et al., 2003), proporcionando un buen ajuste con los datos experimentales ($R^2 > 0,92$) (Ho y McKay, 1999).

3.2.2. ADSORCIÓN DE SULFONILUREAS EN SOLUCIÓN ACUOSA

La adsorción de clorsulfurón y prosulfurón en solución acuosa fue muy baja en todos los sustratos estudiados. La disminución en la concentración de estos dos plaguicidas después de que se alcanzara el equilibrio entre la solución y el suelo fue inferior al 5% en todas las muestras, sin que existieran diferencias en las concentraciones de herbicidas en el sobrenadante. Algunos resultados mostraron incluso una ligera adsorción negativa previamente observada por otros autores (Borggaard y Streibig, 1988). En estas condiciones no pudieron ajustarse los resultados al modelo de Freundlich. En estos casos, en los que la adsorción es tan baja, el método en "batch" empleado para el estudio de este fenómeno presenta poca precisión (Green y Yanane, 1970; Boesten, 1990). En general, se han encontrado valores bajos de adsorción para estas y otras sulfonilureas de similar pK_a (Walter et al., 1989; Barriuso et al., 1997; Streck, 1998; Oliveira et al., 2001; Berglöff et al., 2003).

Por el contrario, la ecuación de Freundlich [6] describe satisfactoriamente la adsorción de BSM en todos los sustratos estudiados. En la tabla III.8 se recogen los valores de K_f y $1/n$ 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.

Los valores de K_f (1,26 – 2,48) indican una adsorción de bensulfurón al suelo de moderada a baja. En todos los casos, el exponente $1/n$ es inferior a 1, lo que se refleja en una isoterma de tipo L según la clasificación de Giles et al. (1960) (Figura III.16), indicando una afinidad relativamente alta del herbicida por los sitios de adsorción.

El examen de los datos recogidos en la Tabla III.8 muestra que los valores de K_f para bensulfurón disminuyen en el orden $SA > SV \geq S > SC$. Este resultado parece indicar que el contenido en materia orgánica juega un papel importante en la adsorción de BSM en suelos. Sin embargo, el coeficiente de correlación entre K_f y CO fue de 0,70, lo que indica que el contenido en CO no es el único factor que afecta a la adsorción de bensulfurón en suelos. Los valores de K_{oc} obtenidos (Tabla III.8), más altos en suelo de vega sin enmendar que en suelo enmendado

con los distintos residuos de las olivareras, apoyan la teoría de que existen otros factores, distintos al contenido en m.o., que influyen en la adsorción de bensulfurón en el suelo.

Tabla III.8. Valores de las constantes de Freundlich (k_f y $1/n$), del coeficiente de determinación (R^2), de la concentración de plaguicida adsorbido a una concentración de equilibrio (C_e) de 10 mg L^{-1} (X_{10}) y del coeficiente K_{oc} , para BSM en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV). Las isotermas se realizaron en agua MilliQ o en solución acuosa de CaCl_2 $0,01\text{M}$.

		$\text{pH} \pm \text{de}^a$	$K_f \pm \text{de}^a$	$1/n \pm \text{de}^a$	R^2	X_{10}^b	$K_{oc}^c \pm \text{de}^a$
S	CaCl_2	$7,53 \pm 0,06$	$3,79 \pm 0,25$	$0,70 \pm 0,05$	0,96	19,0	$166,80 \pm 19,21$
	H_2O	$8,06 \pm 0,09$	$1,58 \pm 0,12$	$0,66 \pm 0,05$	0,96	7,3	$54,84 \pm 1,31$
SA	CaCl_2	$6,92 \pm 0,05$	$3,62 \pm 0,27$	$0,88 \pm 0,06$	0,96	27,7	$73,76 \pm 13,18$
	H_2O	$7,31 \pm 0,08$	$2,48 \pm 0,11$	$0,73 \pm 0,03$	0,98	13,3	$35,69 \pm 3,98$
SC	CaCl_2	$7,67 \pm 0,14$	$3,98 \pm 0,25$	$0,70 \pm 0,05$	0,96	19,8	$81,60 \pm 5,78$
	H_2O	$8,24 \pm 0,18$	$1,26 \pm 0,12$	$0,72 \pm 0,06$	0,96	6,6	$24,83 \pm 0,54$
SV	CaCl_2	$7,47 \pm 0,12$	$5,49 \pm 0,39$	$0,64 \pm 0,06$	0,93	23,9	$103,48 \pm 5,02$
	H_2O	$8,00 \pm 0,14$	$1,70 \pm 0,18$	$0,82 \pm 0,07$	0,96	7,2	$33,17 \pm 0,70$

^aDesviación estándar de dos réplicas; ^bObtendio a partir de la ecuación de Freundlich; ^c K_{oc} calculado a partir del coeficiente de distribución K_d a una concentración de BSM de 10 mg L^{-1} .

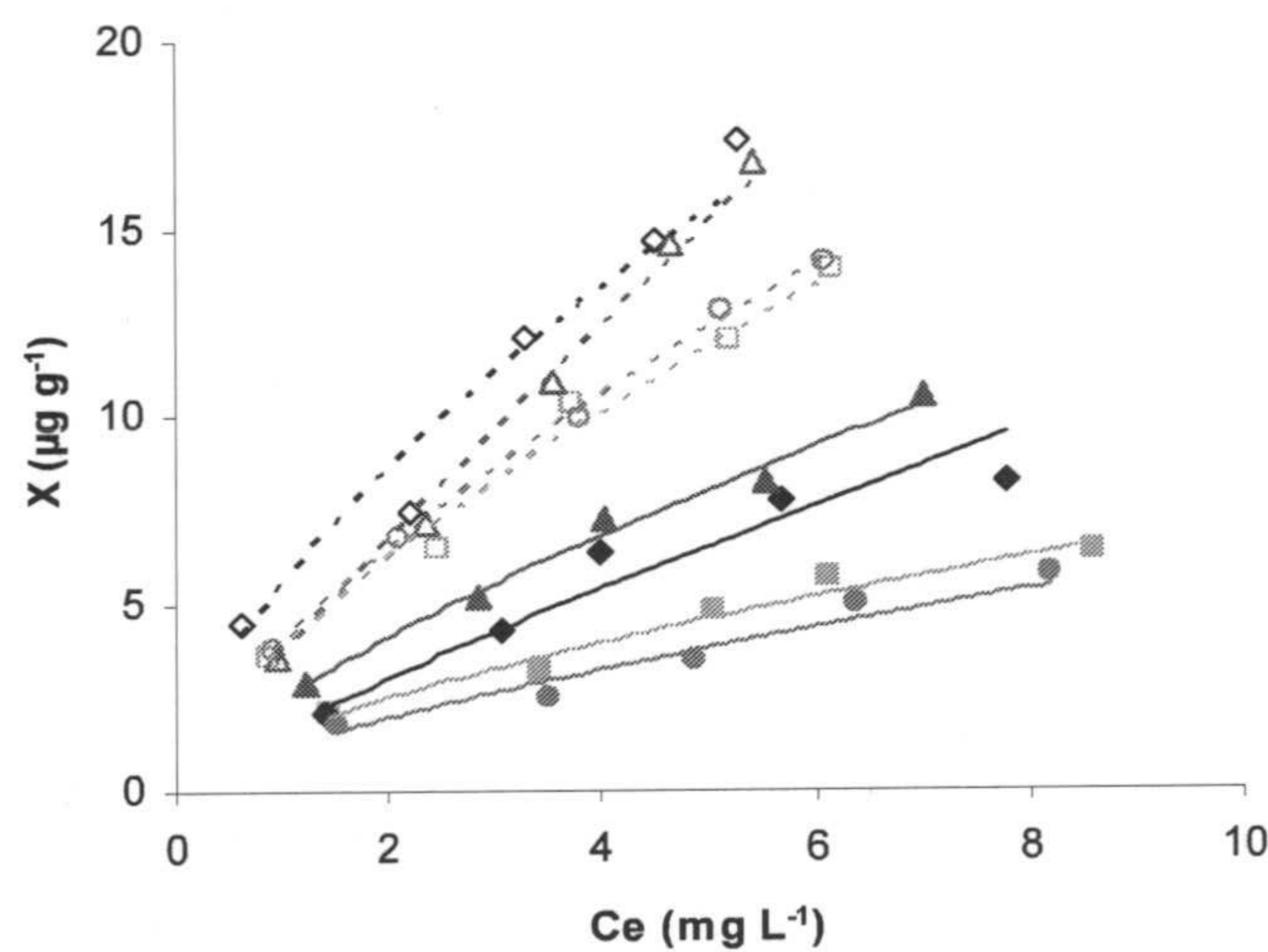


Figura III.16. Isotermas de adsorción para BSM en suelo de vega (■) y suelo de vega enmendado con alperujo (▲), compost (●) y vermicompost de alperujo (◆), en solución acuosa (símbolo lleno, línea continua) y con CaCl_2 (símbolo vacío, línea discontinua).

3.2.3. INFLUENCIA DEL PH EN LA ADSORCIÓN DE SULFONILUREAS.

Con objeto de establecer la influencia de otros factores distintos a la materia orgánica en la adsorción de BSM se calculó el coeficiente de correlación entre la constante de adsorción, K_f , y el pH del suelo obteniéndose un valor de -0,97, lo que nos lleva a pensar que el pH desempeña un papel muy destacado en la adsorción de BSM al suelo.

Para corroborar esta hipótesis se estudió la adsorción de los herbicidas sulfonilureicos en suelo de vega modificando su pH con la adición de HCl. Los valores de pH finales obtenidos para el suelo de vega se recogen en la Tabla III.9.

Tabla III.9. Valores de pH del suelo de vega (S) tras la adición de 10 mL de HCl a distintas concentraciones.

Concentración HCl	pH _f
0,015 M	7,01 ± 0,16
0,15 M	6,00 ± 0,03
0,25 M	5,54 ± 0,05
1 M	4,90 ± 0,01
2 M	4,02 ± 0,03
3 M	3,54 ± 0,12

pH_f: pH final del suelo después de alcanzar el equilibrio con la solución de plaguicidas.

En la Figura III.17 se representan los valores del coeficiente de distribución K_d de bensulfurón, clorsulfurón y prosulfurón en suelo de vega sin enmendar frente a los valores de pH del suelo. Como se deduce de los gráficos existe una relación inversa entre el pH del suelo y la capacidad de adsorción de los herbicidas sulfonilureicos estudiados, lo que se traduce en una disminución de la adsorción de estos compuestos con el aumento de pH del suelo. Este comportamiento ha sido observado por numerosos autores (Pusino et al., 2003; Morrica et al., 2000; Walker et al., 1989; Borggaard y Streibig, 1988; Shea, 1986).

La dependencia de la adsorción con el pH del suelo es característica del grupo de las sulfonilureas (Koskinen et al., 1996; Barriuso et al., 1997) debido a su carácter de ácidos débiles (Tabla II.1). Numerosos estudios con ácidos débiles ponen de manifiesto este hecho. Pusino et al. (1997), estudian la adsorción de imazapyr en suelo y observan, que debido a sus propiedades anfotéricas (presencia en la molécula de ácido carboxílico, $pK_a = 3,6$ y la base piridina, $pK_a = 2,6$), la adsorción de este herbicida aumenta cuando el pH de la solución del suelo decrece. Asimismo, el pH es el principal factor que controla la adsorción de 2,4-D ($pK_a = 2,6$) debido a la ionización de los sitios superficiales que determina la aparición o desaparición de carga eléctrica positiva (Barriuso y Calvet, 1991; Dubus et al., 2001).

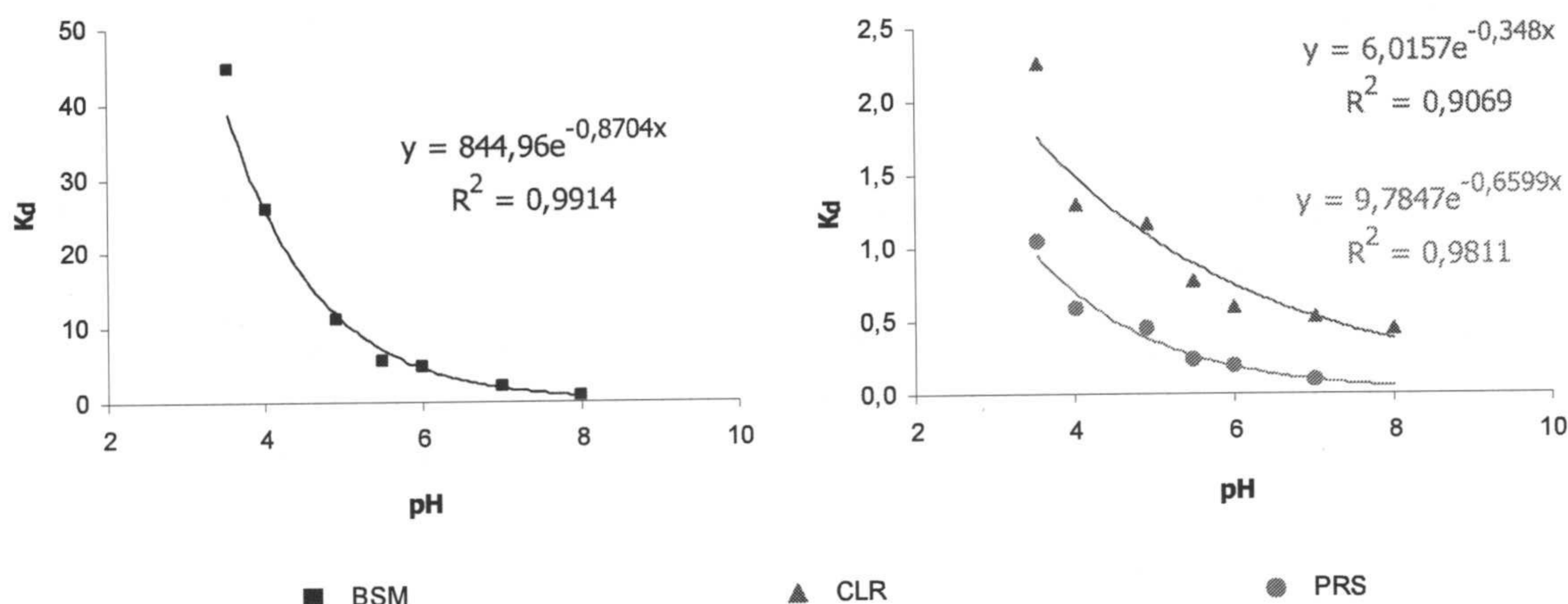


Figura III. 17. Variación del coeficiente de distribución, K_d , de las sulfonilureas estudiadas con el pH del suelo.

Los ácidos débiles en soluciones acuosas pueden encontrarse en su forma neutra o aniónica. La cantidad relativa de cada forma está determinada por la constante de equilibrio del ácido, K_a , y el pH de la solución. La ecuación de equilibrio de un ácido puede representarse como:



$$K_a \equiv \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad [13]$$

donde, $[AH]$ representa la concentración de la forma neutra, $[H^+]$ es la concentración del ión hidrógeno y $[A^-]$, la concentración de la forma aniónica.

La relación entre la forma neutra y la aniónica en función del pH podría según la ecuación [14] (Fontaine et al., 1991):

$$\frac{[HA]}{[A^-]} = 10^{(pK_a - pH)} \quad [14]$$

Basándonos en la ecuación [14] y teniendo en cuenta la concentración en el equilibrio (C_e) a los distintos valores de pH estudiados para el suelo de vega (Tabla III.9), se calculó el porcentaje de la forma aniónica y neutra de los tres herbicidas en función del pH (Figura III.18). Los resultados muestran que para CLR, BSM y PRS la disociación es completa a valores de pH superiores a 7. A valores de pH entre 5 y 7 la forma aniónica de CLR y PRS (superior al 94%) domina sobre la neutra. Para valores de pH próximos al pK_a de las moléculas de plaguicida, el porcentaje de la forma aniónica fue aproximadamente 47%, 43% y 67% para CLR, PRS y BSM, respectivamente. Estos resultados confirman las aproximaciones adoptadas

por Pionke y DeAngelis (1980), los cuales establecen que el 50% de un plaguicida ácido está negativamente cargado cuando el pH de la solución del suelo iguala al pK_a del ácido. Además, es posible aplicar el criterio sugerido por Pionke (Green y Karickhoff, 1990) que considera que los ácidos débiles se encontrarán en su forma aniónica cuando se cumple que el pK_a de la molécula es igual o inferior al pH del medio menos tres unidades ($pK_a \leq pH-3,0$). Según esto, al pH del suelo enmendado y sin enmendar (Tabla III.8) los herbicidas CLR y PRS (pK_a de la molécula 3,6 y 3,76, respectivamente) se encontrarán en su forma aniónica ($pK_a < pH-3,0$), por lo que la adsorción estará dominada por la repulsión entre las cargas negativas del adsorbente (arcilla y m.o.) y el sorbato lo que justifica la baja adsorción que presentan estos plaguicidas en todos los sustratos estudiados.

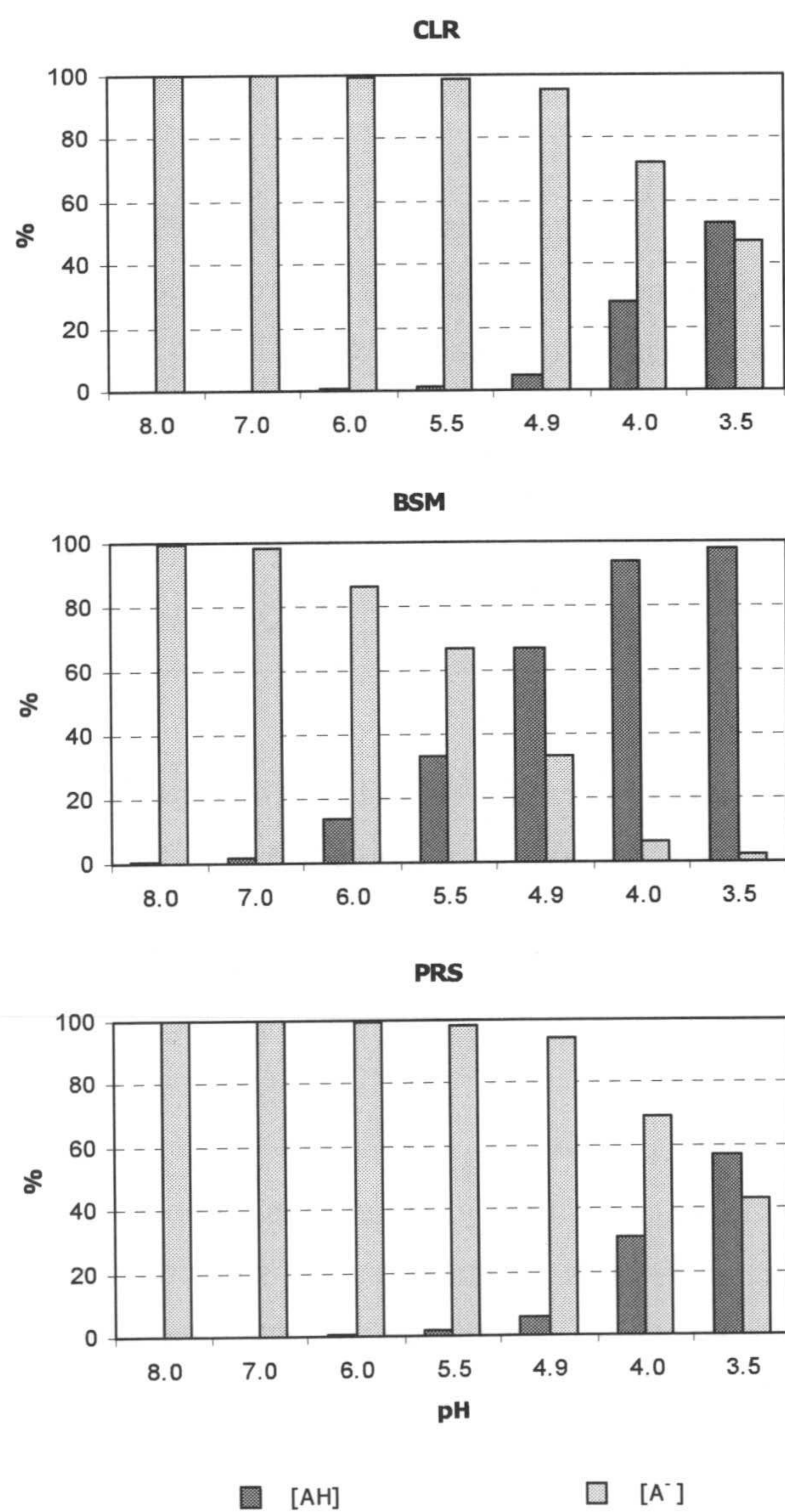


Figura III. 18. Porcentaje de la forma neutra y aniónica de CLR, BSM y PRS a distintos valores de pH del suelo.

En el caso de BSM, con $pK_a (5,2) \geq pH-3,0$ para todas las muestras, predominará la forma neutra sobre la aniónica, lo que explica la mayor adsorción de este compuesto en el suelo frente a las otras sulfonilureas estudiadas.

Es importante tener en cuenta una consideración más respecto al papel que ejerce el pH del suelo para entender su efecto en la adsorción de los herbicidas ureicos estudiados: los grupos ionizables que se encuentran en la superficie reactivas del suelo liberan protones si el pH aumenta originándose un aumento de la carga neta del suelo y una solubilización de la materia orgánica (Hubert de Jorge et al., 1998). Como la materia orgánica es un agente estabilizante de los agregados del suelo, un aumento de pH produce la dispersión de éstos. Los coloides se encontrarían en suspensión y por tanto, se favorecería la adsorción sobre ellos en detrimento de una reducción en el coeficiente de adsorción (Gao et al., 1997; Hubert de Jorge et al., 1998; Baskaran et al., 1996).

3.2.4. INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA EN LA ADSORCIÓN DE HERBICIDAS SULFONILURÉICOS

La adsorción de los tres herbicidas sulfoniluréticos se incrementó con la adición de $CaCl_2$ (0,01 M) (Figura III.16). Los valores de K_f y X_{10} fueron superiores en las muestras a las que se adiciona $CaCl_2$ (Tabla III.8).

Clorsulfuron y prosulfuron, aumentaron su adsorción en todas las muestras de suelo al aumentar la fuerza iónica. El incremento fue mayor para prosulfurón, mientras que la disminución en la concentración de clorsulfurón en el sobrenadante después de haberse alcanzado el equilibrio no fue superior a 10%. Para ambos herbicidas, el ajuste al modelo de Freundlich no fue bueno, con valores de R^2 entre 0,42 y 0,99 para CLR y 0,62 y 0,86 para PRS en las diferentes muestras, lo que hace imposible la comparación de los resultados (no se muestran datos).

Para bensulfurón, las isotermas de adsorción se ajustaron al modelo de Freundlich (Figura III.16). El valor de K_f , para este herbicida, aumentó en todos los suelos en relación al obtenido con soluciones acuosas de plaguicidas (Tabla III.8). Se observaron cambios en los valores de $1/n$ en el suelo enmendado con vermicompost y en el enmendado con alperujo respecto a las isotermas obtenidas en los ensayos con soluciones acuosas (Tabla III.8).

La comparación de los valores de K_f de las isotermas de Freundlich cuando estas no presentan el mismo grado de no-linealidad (diferentes valores de $1/n$) puede dar lugar a conclusiones erróneas. Para evitar este hecho, se calculó, por sustitución en la ecuación de Freundlich (6), la concentración adsorbida por el suelo cuando la concentración inicial de plaguicida añadido fue de 10 mg L^{-1} (X_{10}) (Tabla III.8). El empleo de este parámetro, X_{10} , con fines comparativos ha sido referido anteriormente por otros autores (Ureña-Amate et al., 2005; Sánchez et al., 2003). Los valores de X_{10} ponen de manifiesto un aumento de entre 2 y 3 veces

en este parámetro cuando la isoterma se realiza en solución acuosa con CaCl_2 0,01 M frente a la realizada sin CaCl_2 .

Si correlacionamos los valores de X_{10} de bensulfurón con el contenido en CO de las distintas muestras y con el pH obtenemos coeficientes de correlación de 0,90 y -0,89, respectivamente. Todo ello indica, que ambos factores desempeñan un papel importante en la adsorción de bensulfurón al suelo, estando la adsorción de este plaguicida directamente relacionada con el contenido de CO de un suelo e indirectamente relacionados con el pH lo que se traduce en un aumento del valor de X_{10} en el sentido $S \leq SC < SV < SA$.

Teniendo en cuenta que el contenido en materia orgánica es el mismo en el ensayo de adsorción realizado con soluciones acuosas y el realizado adicionando al suelo CaCl_2 , el incremento observado en la adsorción de los tres herbicidas al aumentar la fuerza iónica podría explicarse por la disminución del pH de las distintas muestras (Tabla III.8), debido a la sustitución de protones de la superficie del suelo por el ión Ca^{+2} . Sin embargo, al comparar la constante de distribución, K_d , para BSM obtenida a partir de dos muestras de suelo de vega con el mismo contenido en m.o. e iguales condiciones de pH pero con distinta fuerza iónica (a una de las muestras se le adiciona CaCl_2 (0,01 M) y a la otra no) se observó que la muestra a la que se le había adicionado CaCl_2 presentaba un valor de K_d más alto ($2,68 \pm 0,51$) que la muestra en agua ($0,83 \pm 0,04$).

Clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón presentan el carácter de ácidos débiles, pudiendo ser adsorbidos en el suelo por interacciones hidrófobas y por fuerzas de van der Waals (Hamaker y Thompson, 1972; Nicholls y Evans, 1991; Barriuso y Calvet, 1992), pero también por interacciones específicas como transferencia de carga y puentes de hidrógeno (Spurlock y Biggar, 1994). Borggaard y Streibig (1988) propusieron que la adsorción de clorsulfurón a la materia orgánica se debía a la formación de uniones por transferencia de carga entre el anillo aromático del plaguicida y los ácidos húmicos. El incremento en la adsorción de los herbicidas estudiados al aumentar el contenido en Ca^{2+} sugiere que el mecanismo de unión se podría producir por la formación de un puente salino en el que el catión Ca^{2+} actuara como puente entre el plaguicida y la carga negativa de la materia orgánica o de las partículas de arcilla (Spark y Swift, 2002). Además el ión Ca^{+2} se puede incorporar al suelo lo que se traduce en una menor carga negativa de la materia orgánica. Esto, junto con una disminución de la forma aniónica del plaguicida debido a la disminución del pH del suelo haría que decreciera la repulsión entre el plaguicida y las cargas negativas del suelo lo cual favorecería la mayor adsorción (Martins y Mermoud, 1998).

3.2.5. DESORCIÓN DE BSM

Las isothermas de desorción de bensulfurón (Figura III.19) muestran histéresis para todos los sustratos estudiados.

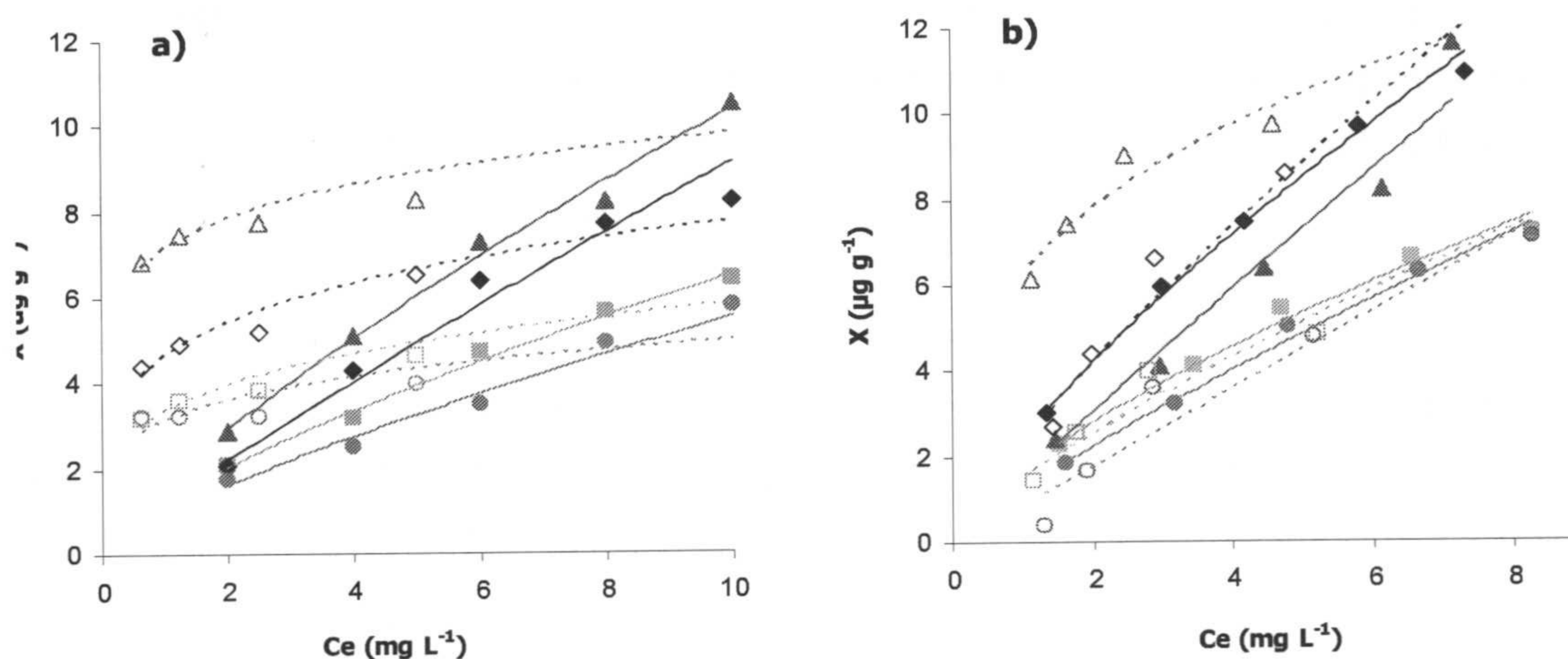


Figura III.19. Isothermas de adsorción (símbolo lleno y línea continua) y desorción (símbolo vacío y línea discontinua) para BSM en suelo de vega (■) y suelo de vega enmendado con alperujo (▲), compost (●) y vermicompost de alperujo (◆). a) Sustratos sin incubar; b) Sustratos incubados 3 meses.

El modelo de Freundlich describe satisfactoriamente el fenómeno de desorción de BSM en todas las muestras. En la Tabla III.10 se recogen las constantes de Freundlich, la bondad del ajuste (R^2), el coeficiente de histéresis, H y la cantidad total de plaguicida desorbida expresada en porcentaje de la cantidad total adsorbida.

Tabla III.10. Valores de las constantes de Freundlich (k_{des} y $1/n_{des}$), del coeficiente de determinación (R^2), del coeficiente de histéresis, H , y del porcentaje desorbido para bensulfurón metilo en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV) a dosis alta (8%).

	pH (1 ^o D-4 ^o D)	$K_{des} \pm de^a$	$1/n_{des} \pm de^a$	R^2	$H^b \pm de^a$	$D^c \pm de^a$
S	8,42 – 8,03	$3,32 \pm 0,13$	$0,26 \pm 0,03$	0,91	$0,39 \pm 0,05$	$50,36 \pm 4,17$
SA	7,51 – 6,98	$7,18 \pm 0,09$	$0,15 \pm 0,01$	0,96	$0,20 \pm 0,02$	$37,01 \pm 2,89$
SC	8,31 – 8,01	$2,68 \pm 0,22$	$0,32 \pm 0,06$	0,85	$0,44 \pm 0,09$	$46,32 \pm 2,35$
SV	8,33 -, 7,61	$4,54 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,02$	0,96	$0,32 \pm 0,04$	$47,41 \pm 0,86$

^aDesviación estándar de dos réplicas; ^bH: coeficiente de histéresis; ^cD: porcentaje de herbicida desorbido.

Para el suelo sin enmendar, el valor de H , 0,39, y el porcentaje de BSM desorbido indican que el proceso de adsorción de este plaguicida es parcialmente reversible. Resultados similares fueron encontrados por Cavanna et al. (1998) en su estudio de bensulfurón en diferentes suelos.

Si comparamos el coeficiente de histéresis y el porcentaje desorbido del suelo sin enmendar y enmendado, observamos que no hay grandes diferencias en los valores de estos dos parámetros para suelos enmendados con vermicompost y compost respecto al suelo sin enmendar. Por el contrario, la adición de alperujo al suelo dificulta la desorción de BSM, como indican el valor de H y el porcentaje desorbido, más bajo para SA que para el resto de los sustratos (Tabla III.10).

En la Figura III.20 se observa que el porcentaje desorbido de BSM tras la primera desorción es muy similar en los cuatro suelos. Un segundo lavado provoca la desorción de más cantidad de plaguicida en S, SC y SV. El tercer y cuarto lavado no repercuten en la liberación de BSM adsorbido en el suelo. Tras los cuatro lavados el porcentaje de plaguicida que permanece en el suelo es mayor en SA que en el resto de sustratos que presentan iguales proporciones de BSM.

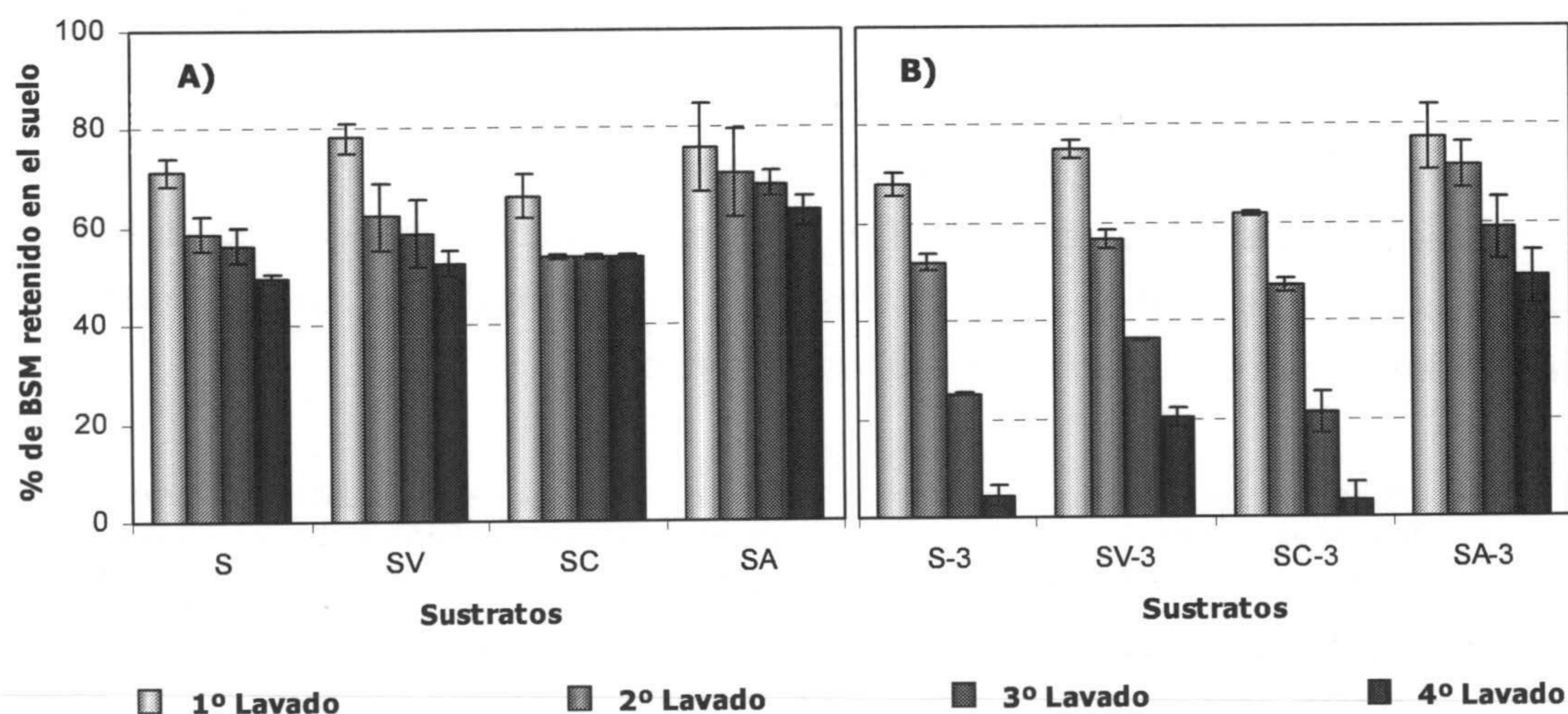


Figura III.20. Porcentaje residual de BSM que permanece en el suelo tras cada lavado del proceso de desorción. a) Sustratos sin incubar; b) Sustratos incubados 3 meses.

El mayor contenido en m.o. del suelo enmendado con alperujo podría explicar que el BSM se encuentre más fuertemente retenido que en el suelo sin enmendar (Mersie y Foy, 1986; Singh et al., 2001), pero no justifica que el suelo enmendado con vermicompost y compost se comporte del mismo modo frente a la desorción de BSM que el suelo sin enmendar. Dos factores podrían explicar este hecho. Por un lado la existencia de diferencias composicionales

en la materia orgánica del SA respecto a los demás sustratos. Por otro lado, los diferentes valores de pH encontrados en las distintas muestras.

La existencia en el alperujo de mayor cantidad de grupos carboxilos y amidas (apartado II.3.6.2) puede fomentar la formación de enlaces fuertes por puentes de H entre el BSM y los radicales C=O y N-H de la materia orgánica (Hamaker y Thompson, 1972; Stevenson, 1982; Chefetz et al., 2004). Además, es esperable que a valores de pH más bajos, la matriz macromolecular de los coloides orgánicos sea más susceptible de uniones mediante puentes de H y presente microporos de menor tamaño que a mayores condiciones de pH (Pusino et al., 2003). Además de ello, las moléculas de plaguicida se encuentran en mayor proporción en su forma neutra lo que potenciaría su adsorción a la superficie del suelo, como se ha explicado anteriormente.

De este modo se explica que los suelos enmendados con alperujo, con mayor contenido en m.o., en grupos carboxilos y amidas y menor pH presenten mayor adsorción de bensulfurón y mayor grado de histéresis que el resto de sustratos empleados, suelo sin enmendar y enmendado con compost y vermicompost, con características composicionales y valores de pH más parecidos entre si al tratarse de materia orgánica más humificada como se explicó en capítulo II.

3.2.6. ISOTERMAS DE ADSORCIÓN/DESORCIÓN EN SUELOS INCUBADOS 3 MESES

Al igual que ocurrió en los estudios de adsorción de los suelos sin incubar, la adsorción de clorsulfurón y prosulfurón fue tan baja que no se ha considerado, por tanto, sólo se mostrarán resultados para BSM.

En general, no se producen cambios significativos en la adsorción de bensulfurón en los suelos incubados 3 meses respecto a los suelos sin incubar, excepto en el caso del suelo enmendado con vermicompost que presenta mayor adsorción de BSM tras el periodo de incubación (Tablas III.8 y III.11; Figura III.19), prueba de ello son los valores más altos de K_f (a igual valor de $1/n$) y X_{10} . Este aumento en la adsorción de SV podría explicarse por una disminución en el valor de pH teniendo en cuenta el efecto del pH sobre la adsorción de BSM, explicado anteriormente.

Es importante destacar la tendencia de K_{oc} en suelos incubados 3 meses, $S > SV > SA > SC$. Del mismo modo que ocurría en suelos sin incubar, el suelo sin enmendar, S, presenta el valor más alto de K_{oc} indicando que pese a que su adsorción es más baja (junto con el suelo enmendado con compost) (Tablas III.8 y III.11) la capacidad de retención de bensulfurón por gramo de CO es mayor en este suelo que en los enmendados.

En lo referente a la desorción, tanto el coeficiente de histéresis, H , como el % desorbido son más elevados que en suelo sin incubar (Tabla III.10 y III.11).

En el caso del suelo sin enmendar y el enmendado con compost y vermicompost, el coeficiente de histéresis adquiere valores próximos a la unidad y el porcentaje desorbido es prácticamente del 100%, lo que se traduce en un fenómeno de adsorción reversible (Figura III.20).

Tabla III.11. Parámetros que describen el fenómeno de adsorción-desorción, de BSM en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV) a dosis alta (8%) e incubado durante 3 meses.

	ADSORCIÓN					
	pH \pm de ^a	K _f \pm de ^a	1/n \pm de ^a	R ²	X ₁₀ ^b	K _{oc} ^c \pm de ^a
S	8,08 \pm 0,12	1,71 \pm 0,07	0,71 \pm 0,03	0,99	8,70	64,24 \pm 1,49
SA	7,88 \pm 0,08	1,58 \pm 0,12	0,95 \pm 0,05	0,98	14,11	38,78 \pm 2,28
SC	8,21 \pm 0,03	1,25 \pm 0,07	0,84 \pm 0,04	0,99	8,70	30,38 \pm 3,80
SV	7,85 \pm 0,03	2,48 \pm 0,08	0,76 \pm 0,02	0,99	14,44	46,90 \pm 0,28

	DESORCIÓN					
	pH (1 ^o D-4 ^o D)	K _{des} \pm de ^a	1/n _{des} \pm de ^a	R ²	H ^d \pm de ^a	D ^e \pm de ^a
S	7,98 – 8,72	1,03 \pm 0,14	0,76 \pm 0,09	0,92	1,08 \pm 0,13	95,65 \pm 1,95
SA	8,16 – 7,56	6,22 \pm 0,21	0,32 \pm 0,03	0,94	0,34 \pm 0,03	51,16 \pm 5,21
SC	8,14 – 8,25	0,97 \pm 0,16	0,96 \pm 0,11	0,94	1,14 \pm 0,14	96,60 \pm 16,11
SV	8,03 – 8,00	2,35 \pm 0,21	0,82 \pm 0,07	0,94	1,07 \pm 0,10	95,07 \pm 2,55

^aDesviación estándar de dos réplicas; ^bObtendio a partir de la ecuación de Freundlich; ^cK_{oc} calculado a partir del coeficiente de distribución, K_d, a una concentración de BSM de 10 mg L⁻¹; ^dH: coeficiente de histéresis; ^eD: porcentaje de herbicida desorbido.

A diferencia de lo que ocurría en suelo sin incubar, en el suelo incubado se desorbe cierta cantidad de bensulfurón en todos los lavados (Figura III.20), aunque el porcentaje disminuye en el caso del suelo enmendado con alperujo.

Una vez más los resultados de desorción obtenidos para bensulfurón sugieren la existencia de procesos que afectan a las propiedades físico-químicas de la materia orgánica del suelo y enmiendas en relación a los fenómenos de adsorción/desorción de herbicidas ureicos. Estos procesos, que tendrían lugar en 3 meses de incubación, no mejoran la adsorción de BSM al suelo (excepto en suelo enmendado con vermicompost) y favorecen la desorción con las consecuentes implicaciones medioambientales que este hecho conlleva.



CAPÍTULO IV
DEGRADACIÓN



1. INTRODUCCIÓN

El riesgo de contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas está determinado, en última instancia, por la velocidad de percolación y degradación en el perfil del suelo y por los factores que controlan estos procesos, como el clima, las propiedades del suelo, la actividad microbiológica y las propiedades de los plaguicidas. Así, existirá menos probabilidad de contaminación de aguas si la velocidad de degradación o descomposición de los compuestos contaminantes y de sus metabolitos tóxicos supera la velocidad de percolación en el suelo. Según esto, 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, siendo susceptibles a fenómenos de lixiviación, y por tanto el potencial para contaminar aguas superficiales y subterráneas (Gustafson, 1989; García-Varcárcel y Tadeo, 1999), así como cultivos y flora y fauna en general.

La descomposición puede ser biótica y/o abiótica. Dentro de la descomposición abiótica encontramos la descomposición fotoquímica, de menor importancia en suelos ya que está limitada a la superficie del suelo y generalmente no da lugar a la mineralización de los compuestos; y la descomposición química que es más importante en suelos (por ejemplo la hidrólisis, que afecta considerablemente a los herbicidas sulfonilureicos como se indicó en el capítulo II de esta tesis) pero tampoco acaba en la mineralización de los compuestos químicos.

La descomposición biológica es el proceso más importante de degradación de sustancias orgánicas y puede producir la mineralización total de los compuestos (Torstensson, 2000).

La velocidad de degradación biológica de compuestos químicos en el suelo es función de su disponibilidad a los microorganismos o sistemas enzimáticos capaces de degradarlos y de la cantidad y actividad de los mismos (Harms y Zehnder, 1995; Bosma et al., 1997). La disponibilidad de un compuesto en el suelo varía mucho de unos compuestos a otros y depende también del tipo de suelo. Los fenómenos de adsorción de compuestos químicos en el suelo juegan un papel fundamental en la disponibilidad de los mismos para la población microbiana del suelo.

Para determinar la importancia de la degradación química y biológica, se compara la degradación en suelo estéril con la degradación en suelo sin esterilizar. Como en suelo estéril sólo puede ocurrir degradación abiótica, la diferencia en la velocidad de degradación entre los sustratos esterilizados de los que no lo están puede ser usada para estimar la contribución relativa de la degradación química y la microbiológica. Los factores a tener en cuenta son la temperatura, el pH, la humedad del suelo y el contenido en materia orgánica (Beyer, et al., 1988).

Estudios previos han demostrado que la adición de enmiendas orgánicas al suelo promueve la degradación de compuestos orgánicos en el mismo al estimular la actividad microbiana (Felsot y Dzantor, 1990; Guo et al., 1993), pero reducen su mineralización (Barriuso et al., 1997). Esto último puede ser atribuido a una disminución en la disponibilidad de los plaguicidas a los microorganismos como consecuencia de un aumento en la adsorción favorecido por la adición de enmiendas orgánicas (Smith et al., 1992; Andreux et al., 1993; Harás y Zehnder, 1995), o bien, al posible efecto tóxico que pueden ejercer las enmiendas orgánicas sobre la población microbiana del suelo (Weissenfels et al., 1992; Ronnpagel et al., 1995).

1.1. MODELOS DE DEGRADACIÓN

El empleo de ecuaciones matemáticas que intenten explicar la degradación de los plaguicidas en el suelo ha sido una herramienta utilizada en el estudio de procesos degradativos (Lafleur et al., 1978; Romero et al., 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 et al., 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 et al., 1978; Gustafson y Holden, 1990; Zimdahl et al., 1994; García-Valcárcel y Tadeo, 1999; Beulke et al., 2000; Bending et al., 2001; Beulke y Brown, 2001-). Algunas de las razones de su uso son que tiene una matemática sencilla, funciona en la mayoría de los casos (Zimdahl et al., 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 et al., 1998; Beulke y Brown, 2001). Existen varias ecuaciones empíricas no lineales que describen el modelo de degradación bifásico, como el modelo de 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 este trabajo, para el ajuste de los valores experimentales se ha empleado la ecuación exponencial para una cinética de primer orden y la ecuación de Hoerl (cinética de pseudoprimer orden).

En la ecuación exponencial [1], C_0 es la concentración inicial del plaguicida, k la constante de velocidad del proceso y t el tiempo de degradación. A partir de la forma lineal de la ecuación [1] se calcula el valor de las constantes de degradación y el tiempo de vida media, o tiempo de semidegradación ($t_{1/2}$).

$$C = C_0 * e^{-kt} \quad [1]$$

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.

El ajuste a la ecuación exponencial de primer orden y a la de Hoerl se realiza mediante regresiones lineales simples y múltiples, respectivamente.





TRIAZINAS



2.1. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.1. EXTRACCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO

La extracción de triazinas en suelo se hizo en ultrasonidos usando como disolvente metanol.

Se pesaron 10 g de suelo sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo, y se les adicionó el volumen de solución acuosa de herbicidas triazínicos, simazina, terbutilazina, prometrina y cianacina, a 15 mg L^{-1} necesario para alcanzar una concentración final de cada triazina de $1,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ (referida a peso de suelo seco), dosis habitualmente aplicada en campo (de Liñan, 2005). El suelo con la mezcla de plaguicidas se incubó durante 24 h en cámara termostatazada a $15 \text{ } ^\circ\text{C}$. Posteriormente las muestras se extrajeron con 50 mL de metanol PAR en ultrasonidos durante 15 min. Después de la extracción, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm y $15 \text{ } ^\circ\text{C}$ durante 15 min (centrífuga Eppendorf 5810 CR). El sobrenadante se filtró por papel de filtro y se concentró hasta sequedad en rotavapor a $60 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$. El residuo se redisolvió en 2 mL de hexano: tolueno (1:1) para muestras de concentración esperada superior a 4 mg L^{-1} y en 1 mL para muestras de concentración esperada inferior a 4 mg L^{-1} . La determinación de los herbicidas se realizó por GC como se describe en el apartado II.2.1.2.a.




En la Figura IV.1 se recoge un esquema del proceso de extracción de los herbicidas triazínicos en suelo.

2.1.1.a) DISEÑO DE EXPERIMENTOS

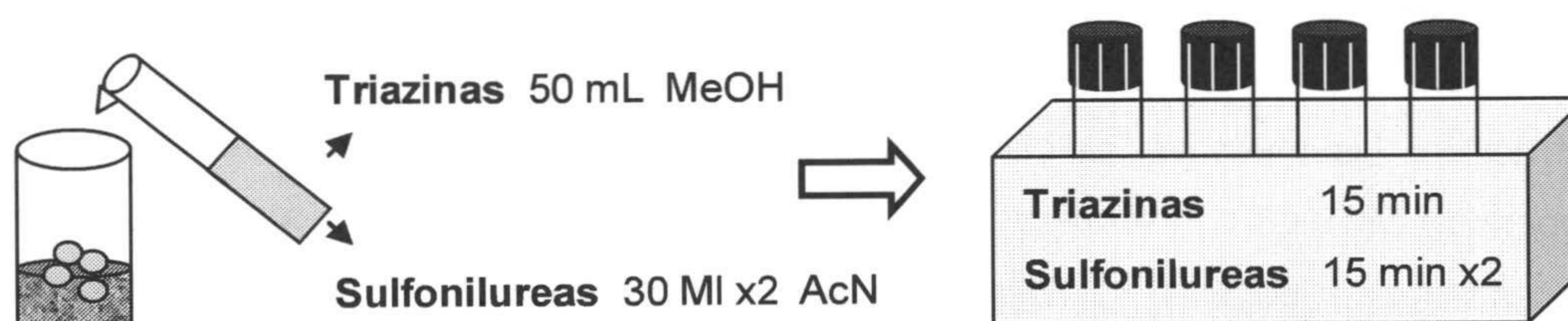
Para establecer el método de extracción más eficiente se recurrió a un diseño de experimentos que se realizó para las muestras de suelo sin enmendar y se aplicó posteriormente al resto de sustratos. De los resultados de ensayos preliminares se encontró que el volumen de extractante y el peso de suelo eran los dos factores influyentes en la extracción de triazinas con metanol mediante ultrasonidos. Las variables respuesta son los porcentajes de recuperación de simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina. En cuanto a los factores, se seleccionó un volumen de extractante (VE) entre 30 y 60 mL de acuerdo a necesidades prácticas de manipulación de la muestra y un peso de muestra (PM) entre 5 g y 15 g para determinar los analitos por encima del límite de detección. Por último, el tiempo de sonicación se fijó en 15 min ya que un tiempo mayor podía degradar alguno de los analitos al aumentar la temperatura de la solución.

Una vez se que se han identificado los factores más importantes, el siguiente paso es estudiar cuantitativamente su efecto sobre la respuesta y sus interacciones. Para este propósito

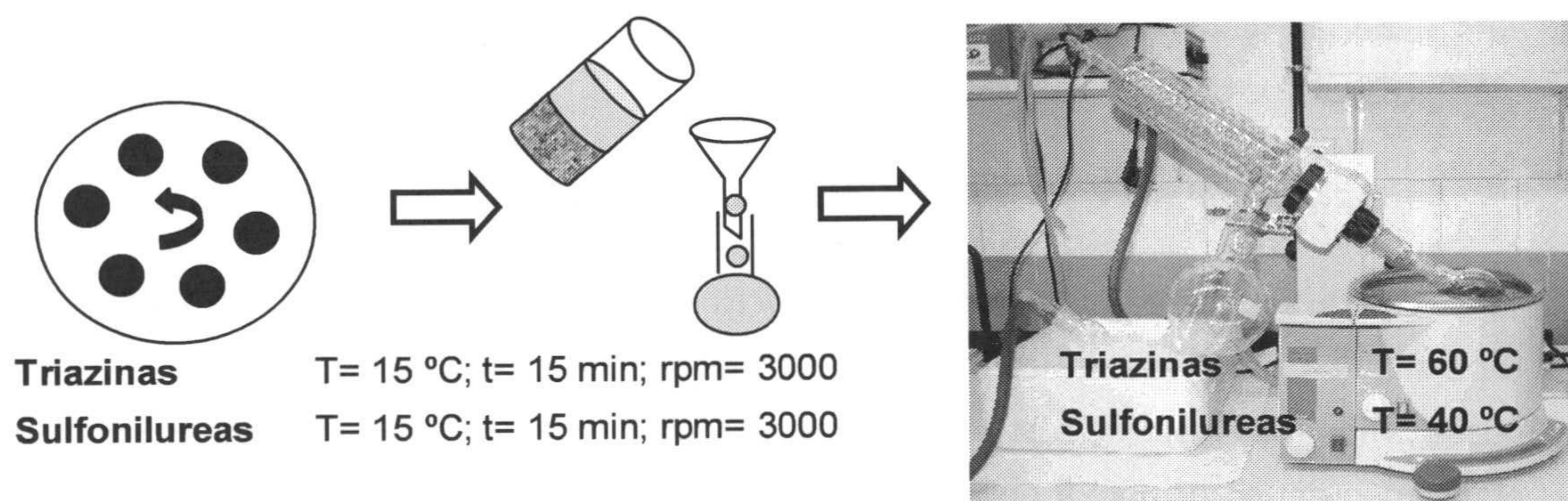
1º ETAPA INCUBACIÓN DEL SUELO CON PLAGUICIDAS

	Suelo	Solución de plaguicidas	Mezcla
			
	Peso	Conc. final en suelo	Condiciones de incubación
Triazinas	10 g	1,5 µg g ⁻¹	T= 15 °C; t= 24 h
Sulfonilureas	10 g	1,0 µg g ⁻¹	T= 15 °C; t= 24 h

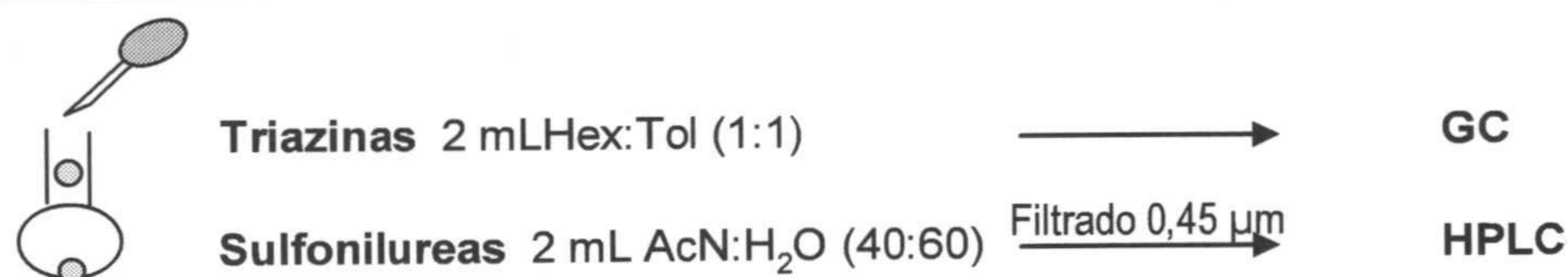
2º ETAPA EXTRACCIÓN CON ULTRASONIDOS



3º ETAPA CENTRIFUGACIÓN, FILTRADO Y CONCENTRACIÓN EN ROTAVAPOR



4º ETAPA REDISOLUCIÓN Y ANÁLISIS



T: temperatura; Tpo: tiempo; rpm: revoluciones min⁻¹; MeOH: metanol PAR; AcN: acetonitrilo PAR.

Figura IV.1. Esquema de extracción de herbicidas triazínicos y sulfonilureicos en muestras de suelo.

se construyó un diseño factorial 2^2 con tres puntos centrales duplicados (Tabla IV.1, puntos 1-14) que nos permite determinar el efecto de los dos factores y sus interacciones sobre la recuperación de los analitos. El test de ANOVA permite comprobar si los efectos calculados son significativos comparándolos con el error experimental.

El objetivo final de esta investigación es la optimización de la recuperación de los analitos, es decir, conocer qué valores de los factores proporciona máxima recuperación. Para ello se ajustaron los datos a un modelo matemático (denominado superficie de respuesta), en este caso a un modelo lineal mediante PLS (mínimos cuadrados parciales).

$$Y = b_0 + b_1 VE + b_2 PM + b_{12} VE*PM + \varepsilon \quad [4]$$

donde Y representa la recuperación de analito, b los coeficientes de regresión del modelo y ε el error residual. La evaluación del modelo se llevó a cabo mediante el coeficiente de regresión (R^2), coeficiente de predicción (Q^2), la falta de ajuste, la validez del modelo y la reproducibilidad, así como con los gráficos de residuales.

Los parámetros de ajuste del modelo lineal indicaron la existencia de una curvatura significativa por lo que se añadieron al diseño 4 puntos estrella para ajustar los datos a un modelo cuadrático (Tabla IV.1, puntos 15-24).

$$Y = b_0 + b_1 VE + b_2 PM + b_{11} VE^2 + b_{22} PM^2 + b_{12} VE*PM + \varepsilon \quad [5]$$

Este modelo se evaluó usando los mismos parámetros que los indicados para el modelo lineal.

Para la validación del modelo se llevaron a cabo experimentos adicionales a niveles de ambos factores (VE y PM), no incluidos en el diseño de experimentos, pero sí dentro del dominio experimental (Tabla IV.1, 1*-5*).

El análisis estadístico de los datos se realizó con el software Modde.

2.1.2. PREINCUBACIÓN DE SUELO

Antes de la adición de los plaguicidas, se extendió en una bandeja de PVC 1 kg de los diferentes sustratos, suelo de olivar sin enmendar y enmendado a dosis alta (8%) con alperujo, compost y vermicompost de alperujo, y se preincubó a un 14% de humedad (40% de la CC) durante tres días, en cámara termostatzada a 15° C y con recipientes de agua en su interior para mantener la humedad, con objeto de estimular la actividad microbológica.

2.1.3. INCUBACIÓN DEL SUELO

Tras el periodo de preincubación se añadió el volumen de solución acuosa de herbicidas triazínicos necesario para obtener una concentración final de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (referida a peso de suelo seco) y el volumen de agua necesario para alcanzar una humedad del 20% aproximadamente (70% de la CC).

La aplicación de la solución de herbicidas se realizó con un microaspersor sobre el suelo extendido en la bandeja de PVC, procurando repartir la solución de forma uniforme (Figura IV.2).

Una vez adicionados los plaguicidas y el agua cada muestra se homogenizó pasándola por un tamiz de 2 mm un total de 3 veces. De las muestras tamizadas se tomaron dos submuestras de aproximadamente 500 mg cada una y se introdujeron en botes de cristal con un agujero en la parte superior para permitir la aireación del suelo (Figura IV.2). Los botes con las muestras permanecieron en cámara termostática a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ durante dos meses, aproximadamente.

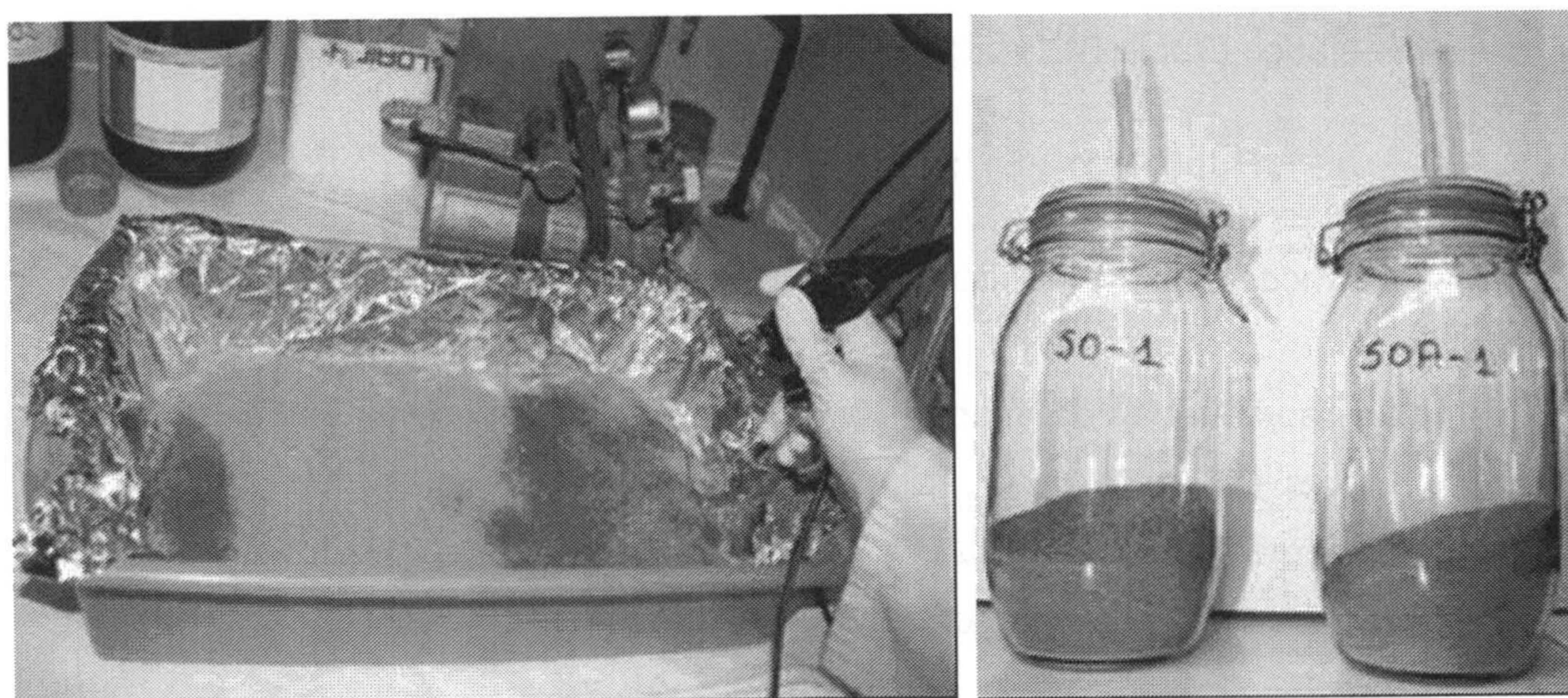


Figura IV.2. Izquierda, aplicación de los plaguicidas antes de la incubación del suelo; Derecha, botes en los que se incubó el suelo con los plaguicidas.

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.

Los experimentos de degradación se realizaron en paralelo con suelo sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo esterilizados por vapor fluyente como se describe en el apartado II.2.2.6.

La no adsorción de los herbicidas sobre la superficie de los botes de vidrio se contrastó introduciendo en los mismos una solución acuosa de los herbicidas a 15 mg L^{-1} que se mantuvo en cámara termostática a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ durante el tiempo que duró el ensayo.

De forma periódica se pesó una porción de suelo de cada submuestra (30 g) y se extrajo con ultrasonidos de la forma que se describe en el apartado IV.2.1.1.

2.1.4. ACTIVIDAD DESHIDROGENASA

Para la determinación de la actividad deshidrogenasa en las muestras obtenidas en los experimentos de degradación, se pesó 1 g de suelo al que se le añadieron 0,2 mL de INT (cloruro de iodofenil-3 p-nitrofenil-5 tetrazolium) al 0,4% (p:v) y 0,2 mL de agua destilada. Posteriormente se dejó incubar en oscuridad durante 20 h a 25 °C. Trascurrido este tiempo, el producto de la reacción INTF (iodonitrotetrazolium formazan) se extrajo con una mezcla de acetona:tetracloroetileno (2:3) por agitación manual. Seguidamente las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min.

Una vez diluídas las muestras (en caso de ser necesario), la forma reducida del sustrato (INTF) se cuantificó por la absorción de la solución en un espectrofotómetro a 490 nm y su posterior comparación con una curva patrón.

2.1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos de degradación para las distintas triazinas y sustratos se realizó usando dos tipos de análisis estadísticos:

1) Comparación de los resultados obtenidos para cada tiempo en las distintas muestras mediante el test estadístico de muestras relacionadas. Para este análisis se empleó el programa estadístico SPSS versión 13.0.1.

2) Comparación de las curvas de degradación por el método de comparación de líneas de regresión. Este tipo de análisis se realizaron con el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1.

2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.2.1. EXTRACCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO

El Diseño de Experimentos es una metodología basada en herramientas matemáticas y estadísticas cuyo objetivo es seleccionar la estrategia experimental óptima que permita obtener la información buscada con el mínimo coste (mínimo número de experimentos) y evaluar los resultados experimentales obtenidos, garantizando la máxima fiabilidad en las conclusiones que se obtengan. El procedimiento a seguir consta de varias etapas: Identificar los factores que potencialmente podrían influir en la variable respuesta; definir los valores que éstos pueden tomar (dominio experimental); determinar cuantitativamente su efecto sobre la variable respuesta y sus interacciones; y, por último, optimizar la respuesta.

El método tradicional de experimentación, el que quizás surge de forma más intuitiva para estudiar el sistema consiste en variar un factor cada vez, es decir, a partir de unas condiciones iniciales, se realizan experimentos en los cuales todos los factores se mantienen constantes excepto el que se está estudiando. De este modo, la variación de la respuesta se puede atribuir a la variación del factor, y, por tanto, revela el efecto de ese factor. El procedimiento se repite para los otros factores. El razonamiento que soporta esta forma de actuar es que si se variaran dos o más factores entre dos experimentos consecutivos, no sería posible conocer si el cambio en la respuesta ha sido debido al cambio de un factor, al de otro, o al de todos a la vez.

Esta estrategia, por tanto, presenta inconvenientes importantes cuando existe interacción entre factores. No informa sobre como un factor interactúa con los otros factores o como estas interacciones afectan a la respuesta, con lo cual sólo se obtiene una comprensión limitada de los efectos de los factores. Además, no proporciona la posición del óptimo. Se puede tener una idea de que se ha llegado al óptimo porque cambiando un factor cada vez la respuesta no mejora, pero se puede encontrar lejos del óptimo real. Aunque se puede reiniciar la experimentación partiendo del "óptimo" encontrado, esta solución requeriría demasiados experimentos y demasiado tiempo.

El diseño de experimentos, en cambio, proporciona el marco matemático para cambiar todos los factores simultáneamente, y obtener la información buscada con un número reducido de experimentos, es decir, con la máxima eficiencia para obtener un conocimiento equivalente o superior. La utilización de diseños experimentales en la optimización de métodos de extracción ha sido empleada por varios autores (Egizabal et al., 1998; Campos et al., 1998; Sánchez et al., 2000, 2004; Mingorance, 2002; Peña et al., 2006).

Basándonos en el artículo de Turín y Bowman (1993) y Mills y Thurman (1994), la extracción de triazinas se hizo por sonicación en ultrasonidos usando metanol como extractante

(apartado IV.2.1.1). Para optimizar el método de extracción se realizó un diseño de experimentos (apartado IV.2.1.a).

La matriz del diseño y las recuperaciones de los plaguicidas para cada experimento aparecen en la Tabla IV.1. Los experimentos se llevaron a cabo de forma aleatoria.

Tabla IV.1. Matriz del diseño compuesto centrado en las caras para la extracción, por ultrasonidos con metanol, de triazinas en suelo sin enmendar (SO).

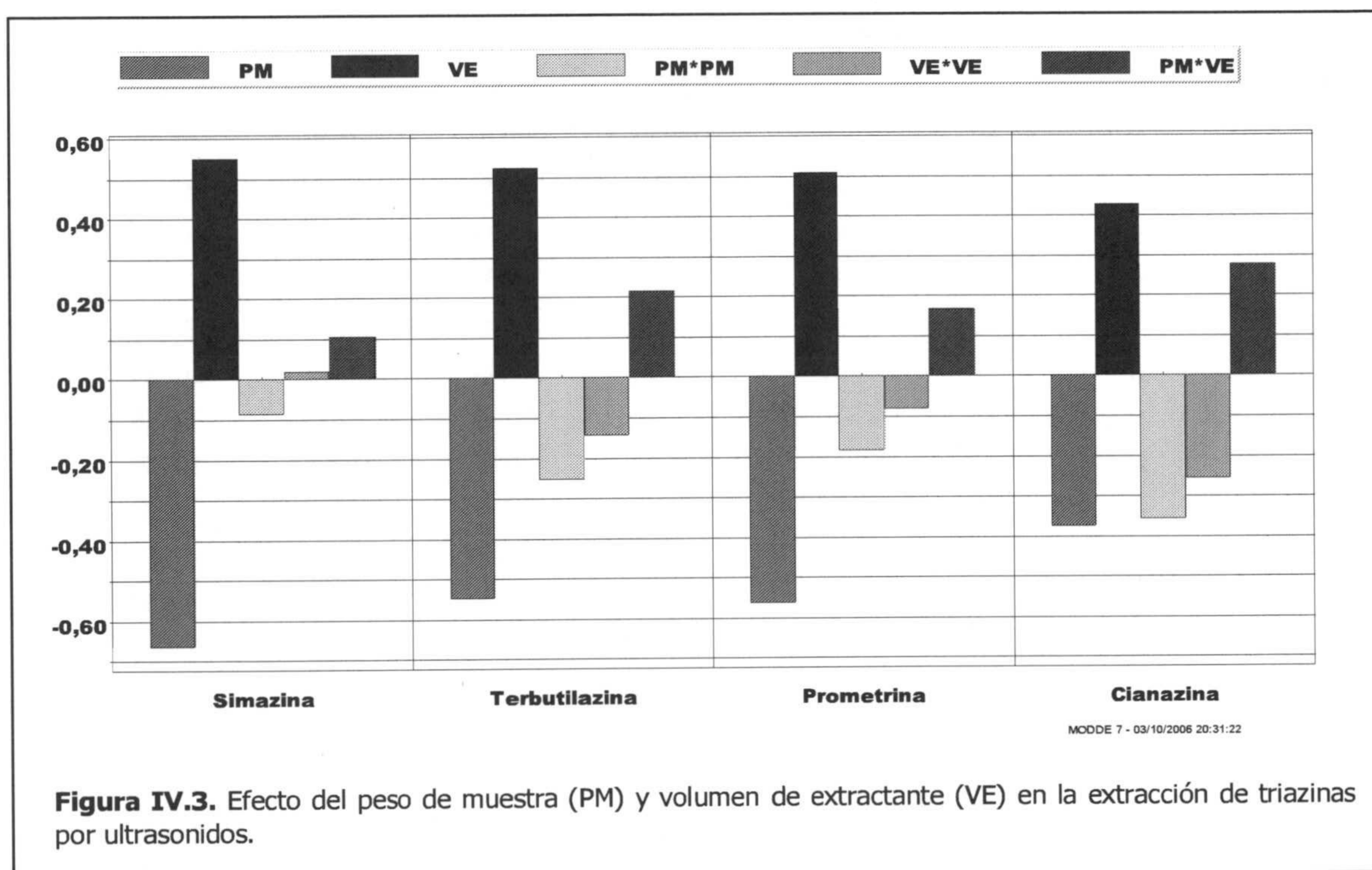
Exp No	PM (g)	VE (mL)	RECUPERACIÓN (%)			
			Sz	Tz	Pr	Cz
1	5	30	89,68	80,97	97,26	91,56
2	15	30	67,31	38,17	47,54	62,18
3	5	60	107,78	100,95	115,40	96,49
4	15	60	94,31	86,32	105,63	109,43
5	10	45	102,59	92,47	107,10	105,68
6	10	45	88,96	80,42	91,25	98,63
7	10	45	95,26	97,87	105,66	97,48
8	5	30	89,47	79,13	98,57	102,62
9	15	30	75,12	38,21	46,66	58,18
10	5	60	105,66	98,61	109,93	100,25
11	15	60	91,12	82,29	95,31	98,77
12	10	45	84,91	79,78	82,14	106,38
13	10	45	81,77	76,56	77,28	91,84
14	10	45	90,26	93,20	99,31	120,09
15	5	45	100,18	103,60	107,36	109,74
16	15	45	80,64	81,58	86,47	93,03
17	10	30	91,97	93,42	101,97	102,59
18	10	60	102,67	105,65	109,95	116,87
19	10	45	92,86	94,58	99,16	105,02
20	5	45	101,41	106,36	111,31	108,98
21	15	45	78,28	79,63	98,40	97,55
22	10	30	90,35	91,38	96,25	102,45
23	10	60	94,89	97,51	96,16	122,03
24	10	45	97,83	101,46	100,65	101,13
1*	8	30	85,20	86,55	87,30	109,73
2*	8	40	98,24	101,86	104,83	134,90
3*	15	50	87,64	89,07	107,74	123,87
4*	10	50	93,27	95,07	104,12	113,11
5*	8	60	91,51	96,26	107,02	122,42

Exp No: número de experimento; PM: peso de muestra; VE: volumen de extractante; TS: tiempo de sonicación; Sz: simazina; Tz: terbutilazina; Pr: prometrina; Cz: cianazina;

* Experimentos para comprobar la validez del modelo.

La precisión de los experimentos realizados en las mismas condiciones (puntos centrales) fue $88,2 \pm 5,2$, $85,6 \pm 9,4$, $91,1 \pm 11,7$ y $102,9 \pm 10,9$, para simazina, terbutilazina, prometrina y cianazina, respectivamente.

Todas las respuestas se ajustan a un modelo cuadrático, si bien, la simazina sigue un modelo distinto al resto de herbicidas triazínicos estudiados (Figura IV.3). Los valores de los coeficientes de regresión que fueron significativos ($P < 0,05$) así como los parámetros de calidad del modelo ajustado, para cada una de las respuestas, se recogen en la Tabla IV.2.



La bondad del ajuste de los datos (R^2) es buena para todas las respuestas. Los valores de Q^2 , que representan cómo predice el modelo nuevos datos, son buenos para todos los herbicidas, pero solamente aceptables para la prometrina. El modelo no presenta falta de ajuste ($P < 0,05$) en ningún caso, y su validez es también aceptable ya que todos los valores del parámetro "validez del modelo" son mayores de 0,25. La variación de las respuestas bajo las mismas condiciones (puntos centrales), parámetro "reproducibilidad", es mayor a 0,5 en todos los casos indicando que existe un buen control de las condiciones experimentales.

Tabla IV.2. Parámetros del ajuste y coeficientes de regresión significativos ($P < 0,05$) del modelo cuadrático obtenido al aplicar un diseño CFC para la extracción de triazinas en suelo sin enmendar (SO) por ultrasonidos.

	Sz	Tz	Pr	Cz
Constante	63,82	-44,01	107,5	122,8
PM	3,62	-6,68	-1,95	1,25
VE	0,533	7,05	-0,257	-1,09
PM x PM	-0,276	–	-0,357	-0,544
VE x VE	–	-0,0755	–	–
PM x VE	–	0,0879	0,129	0,169
R²	0,919	0,952	0,856	0,868
Q²	0,903	0,939	0,783	0,826
Validez del modelo	0,941	0,742	0,741	0,670
Reproducibilidad	0,879	0,943	0,821	0,857

PM: peso de muestra; VE: volumen de extractante; R²: bondad del ajuste; Q²: capacidad de predicción del modelo; Sz: simazina; Tz: terbutilazina; Pr: prometrina; Cz: cianazina;

En estas condiciones, el modelo establece que existe una interacción entre el volumen de extractante y el peso de muestra (Tabla IV.2) que afecta a la extracción de todos los plaguicidas excepto a la de simazina. Esto indica, que la elección del peso de muestra lleva asociado un volumen de extractante adecuado, aunque ambos factores independientemente influyan de forma lineal o cuadrática en las respuestas. De las gráficas de nivel (Anexo II), se deduce que la extracción de cada plaguicida varía de una forma distinta en función del PM y VE. Estas gráficas permiten seleccionar los valores de PM y VE para obtener la máxima recuperación en función de las condiciones deseadas. Mediante la optimización conjunta de las respuestas se obtuvo que un PM de 8,5 g y un VE de 58 mL proporcionan recuperaciones máximas (>95%) para todos los analitos. Con objeto de redondear el PM y VE, se encontró que 10 g de suelo extraído con 50 mL de disolvente proporcionó recuperaciones entre el 96-100%. Por tanto se eligieron estas condiciones obtenidas como las óptimas para nuestro método.

La validez del modelo se evaluó a través de la comparación de los resultados experimentales obtenidos para las condiciones de los puntos adicionales (tabla IV.1) con los predichos por el modelo. Un análisis de regresión de ambos resultados indica que se ajustan a una ecuación lineal ($R^2 = 0,78$), cuya ordenada en el origen no es significativamente diferente de cero ($p = 0,510$) y la pendiente es significativamente diferente de 1 ($0,90 \pm 0,26(2 \times 0,13)$). Estos valores permiten afirmar, desde un punto de vista metodológico, que el modelo predice bien los resultados.

Esta misma metodología se usó para los suelos enmendados. En la Tabla IV.3 se recogen las recuperaciones obtenidas para todos los plaguicidas en todos los sustratos usando las condiciones finales elegidas, es decir, 10 g de suelo y 50 mL de MeOH. Como puede observarse en el suelo enmendado con compost y vermicompost se obtienen recuperaciones

similares a las del suelo sin enmendar. Sin embargo, la recuperación en el suelo enmendado con alperujo disminuye considerablemente respecto a la de los demás sustratos. La principal causa de esta disminución es la coextracción de compuestos de la enmienda, que no sólo presentan una alta afinidad con el extractante sino que además compiten con los plaguicidas por los sitios activos de la columna cromatográfica llegando a impedir la determinación analítica del plaguicida, como es el caso de la cianazina. Reducciones similares en la recuperación de plaguicidas se han descrito para matrices con alto contenido en m.o. (Molins et al., 1998; Font et al., 1998) Con objeto de mejorar la recuperación del suelo enmendado con alperujo se probaron otras metodologías, incluyendo la purificación de la muestra mediante SPE usando distinto material de relleno. Con ninguna de las técnicas empleadas se consiguió mejorar los resultados mostrados en la Tabla IV.3.

Tabla IV.3. Recuperaciones obtenidas para los herbicidas triazínicos en las condiciones finales de extracción en los distintos sustratos (n=6).

	RECUPERACIÓN (%)			
	SZ	TZ	PR	CZ
SO	85 ± 5	88 ± 5	98 ± 5	114 ± 7
SOV	83 ± 5	87 ± 7	91 ± 9	108 ± 11
SOC	81 ± 11	86 ± 11	103 ± 13	114 ± 12
SOA	71 ± 7	68 ± 10	54 ± 14	–

2.2.2. ACTIVIDAD DESHIDROGENASA

En la Figura IV.4 se representan las curvas de actividad deshidrogenasa en las distintas muestras de suelo no estéril durante el periodo de incubación.

La medida de la actividad deshidrogenasa ha sido empleada a menudo como parámetro para evaluar la actividad microbiana global del suelo (Nannipieri et al., 1990; Camiña et al., 1998) y de composts y vermicomposts (Tiquia, 2005; Benítez et al., 2005) y puede relacionarse con la degradación del plaguicida.

La actividad microbiológica aumenta en el sentido $SO < SOC = SOV < SOA$, en el mismo sentido que el contenido en materia orgánica del suelo, de forma que la actividad deshidrogenas fue mayor en suelos enmendados que en suelo sin enmendar.

En los suelos enmendados con compost y vermicompost la forma de la curva de actividad deshidrogenasa FUE la misma que en el suelo sin enmendar. El máximo de actividad tUVO lugar en el tercer día de incubación y no representó un cambio importante respecto al estado basal que se alcanza a partir del sexto día. Por tanto, la forma de la curvas en estos sustratos indican la existencia de una materia orgánica muy estable y de difícil degradación, lo

que se corresponde con los resultados obtenidos en el estudio orgánico del material de partida (capítulo II de esta tesis). El ligero aumento en la actividad deshidrogenasa observado en los primeros días de incubación es posiblemente consecuencia de la incorporación al suelo de compuestos nuevos susceptibles a la degradación. Las curvas de actividad deshidrogenasa del compost y vermicompost fueron significativamente superiores a las del suelo sin enmendar. Esto puede ser consecuencia del mayor contenido en materia orgánica del suelo enmendado y se relaciona con una intensa actividad de la microflora al degradar compuestos fácilmente metabolizables (Serra-Witting et al., 1995). La presencia de nuevas poblaciones microbianas introducidas con la enmienda también puede ser motivo de este aumento.

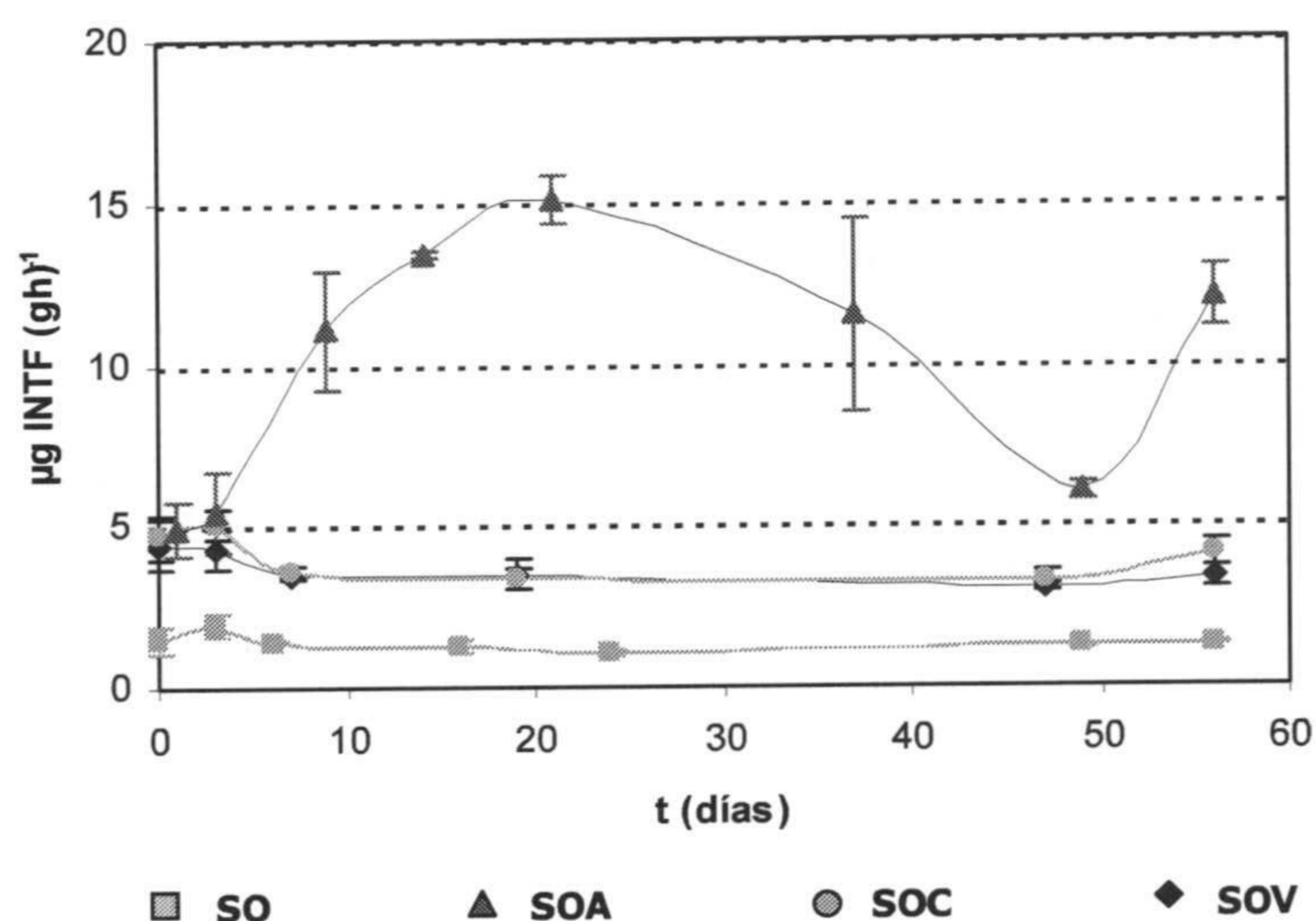


Figura IV.4. Actividad deshidrogenasa en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost (SOV). Las barras verticales expresan la desviación estándar en cada una de las determinaciones.

Los valores de actividad deshidrogenasa en el suelo enmendado con alperujo fueron mayores que los obtenidos para el resto de sustratos (entre 2 y 7 veces). El valor máximo de actividad deshidrogenasa en suelo enmendado con alperujo se alcanzó a los 21 d de incubación, casi tres semanas después que en el resto de sustratos y no se llegó a una situación de estabilidad durante el periodo estudiado. La forma de la curva en el suelo enmendado con alperujo, mucho más ancha que en el resto de sustratos, indica una gran actividad microbiana consecuencia de la degradación de los productos más lábiles (Albuquerque et al., 2004) que contiene esta enmienda.

2.2.3. DEGRADACIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO

Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación exponencial de primer orden ($R^2 > 0,90$).

No se presenta la curva de degradación de la cianazina cuando el suelo es enmendado con alperujo debido a que las interferencias de la matriz del suelo impidieron su determinación analítica.

Para todos los herbicidas triazínicos, la concentración de plaguicida en los diferentes sustratos disminuye con el tiempo de incubación. En general, no se observaron grandes variaciones en la concentración de plaguicida en los diferentes tratamientos, excepto en el suelo enmendado con compost y vermicompost de alperujo respecto al suelo sin enmendar donde las diferencias fueron de hasta el 30% en los primeros días de incubación.

A continuación se describen y discuten los resultados encontrados en los ensayos de degradación haciendo distinción entre el efecto de las enmiendas sobre la degradación de los plaguicidas y los diferencias de comportamiento frente a la degradación encontradas entre los herbicidas triazínicos estudiados.

2.2.3.a) DEGRADACIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO DE OLIVAR SIN ENMENDAR

Comparación entre las concentraciones

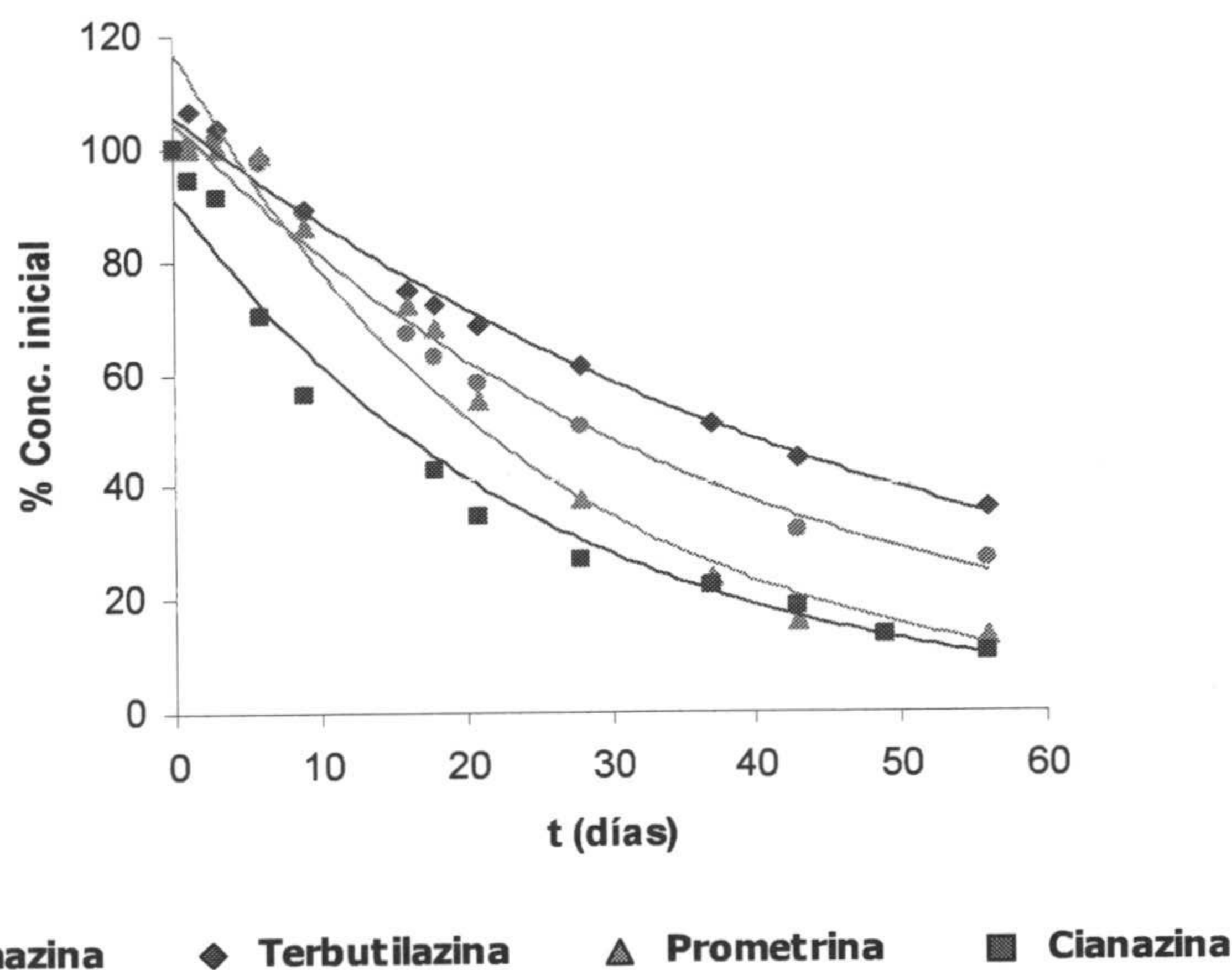


Figura IV.5. Curvas de degradación de herbicidas triazínicos en suelo de olivar sin enmendar.

En la Figura IV.5 se representa el porcentaje de herbicida extraído del suelo frente al tiempo de incubación, para cada herbicida triazínico en suelo de olivar sin enmendar. Junto con los datos experimentales se muestra la representación gráfica de la curva ajustada a la ecuación experimental de primer orden.

Como puede observarse en los primeros días de incubación las concentraciones en suelo de los distintos plaguicidas no difieren entre sí. Sin embargo, al final del periodo de incubación (56 d) la concentración de plaguicida que permanece en el suelo es menor para prometrina y cianazina (13 y 10%, respectivamente) que para simazina (27%) y terbutilazina (36%). Estos datos son otra evidencia más de la mayor degradación de prometrina y cianazina frente a simazina y terbutilazina.

Comparación entre las velocidades de degradación

Los parámetros del ajuste a la ecuación exponencial de primer orden y los valores de $t_{1/2}$ obtenidos se recogen en la Tabla IV.4.

La pendiente de la curva de degradación (k) refleja la velocidad del proceso de degradación. Por tanto, la comparación de las constantes de degradación de los plaguicidas para un mismo sustrato permite establecer diferencias en el comportamiento degradativo entre plaguicidas.

En suelo de olivar sin enmendar, la velocidad de degradación (k) disminuye en el sentido $P=C>S>T$ (Tabla IV.4), es decir, prometrina y cianazina se degradan más rápidamente que simazina y terbutilazina.

Tabla IV.4. Parámetros obtenidos del ajuste de distintos modelos matemáticos a los datos de degradación de triazinas en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV).

	ECUACIÓN EXPONENCIAL				ECUACIÓN DE HOERL			
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	$a \pm de^a$	$-b \times 10^2 \pm de^a$	$-c \times 10^2 \pm de^a$	R^2
TERBUTILAZINA								
SO	105,03 ± 3,14	1,95 ± 0,05 ^b	35,49	0,99	106,30 ± 3,50	1,97 ± 0,08	0,18 ± 0,83	0,99
SO _{est}	102,54 ± 7,64	2,06 ± 0,12	33,61	0,95	102,72 ± 6,59	2,03 ± 0,18	0,39 ± 1,66	0,95
SOA	95,90 ± 8,98	2,20 ± 0,14 ^b	31,52	0,93	96,74 ± 9,52	2,05 ± 0,24	1,96 ± 2,58	0,93
SOA _{est}	96,63 ± 8,33	2,13 ± 0,15	32,54	0,90	98,62 ± 8,97	1,88 ± 0,23	3,19 ± 2,29	0,90
SOC	88,96 ± 2,85	1,59 ± 0,04 ^c	43,56	0,98	91,56 ± 2,00	1,35 ± 0,05	3,57 ± 0,52	0,99
SOC _{est}	94,07 ± 3,31	1,03 ± 0,05	67,05	0,94	95,87 ± 2,96	0,81 ± 0,07	3,03 ± 0,78	0,96
SOV	90,44 ± 3,11	1,57 ± 0,04 ^c	44,20	0,98	92,79 ± 2,88	1,38 ± 0,06	2,98 ± 0,74	0,99
SOV _{est}	89,08 ± 4,10	1,10 ± 0,06	62,98	0,92	92,86 ± 2,83	0,75 ± 0,06	5,23 ± 0,74	0,97
PROMETRINA								
SO	116,65 ± 12,43	3,96 ± 0,18 ^b	17,48	0,96	112,68 ± 10,78	4,53 ± 0,25	-6,83 ± 2,40	0,97
SO _{est}	106,36 ± 6,03	2,10 ± 0,09	33,00	0,96	105,98 ± 6,43	2,16 ± 0,15	-0,72 ± 1,55	0,96
SOA	109,45 ± 13,98	2,96 ± 0,14 ^c	23,43	0,93	106,87 ± 12,92	3,44 ± 0,30	-6,06 ± 2,08	0,94
SOA _{est}	97,54 ± 12,53	2,82 ± 0,18	24,53	0,92	98,52 ± 13,38	2,67 ± 0,31	2,01 ± 3,25	0,92
SOC	94,64 ± 6,24	3,20 ± 0,08 ^c	21,65	0,98	94,49 ± 7,18	3,12 ± 0,14	1,12 ± 1,79	0,98
SOC _{est}	93,75 ± 2,98	0,91 ± 0,04	75,80	0,94	94,80 ± 3,27	0,82 ± 0,07	1,36 ± 0,83	0,94
SOV	93,00 ± 5,03	3,04 ± 0,08 ^c	22,80	0,98	94,32 ± 5,61	2,92 ± 0,13	1,80 ± 1,44	0,98
SOV _{est}	88,92 ± 3,81	0,94 ± 0,06	73,43	0,91	92,36 ± 2,30	0,61 ± 0,05	4,97 ± 0,60	0,97

^a Desviación estándar (n=2). ^{b, c} Letras iguales indican que no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en el valor de k para cada plaguicida en los sustratos no estériles.

Tabla IV.4. Continuación.

	ECUACIÓN EXPONENCIAL				ECUACIÓN DE HOERL			
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	$a \pm de^a$	$-b \times 10^2 \pm de^a$	$-c \times 10^2 \pm de^a$	R^2
SIMAZINA								
SO	103,87 ± 4,66	2,54 ± 0,08 ^b	27,28	0,98	103,39 ± 4,93	2,54 ± 0,13	0,15 ± 1,18	0,98
SO _{est}	98,73 ± 8,67	2,80 ± 0,16	24,67	0,94	100,01 ± 8,98	2,56 ± 0,25	2,92 ± 2,33	0,94
SOA	99,26 ± 10,86	3,21 ± 0,16 ^b	21,56	0,95	99,74 ± 11,60	3,13 ± 0,28	1,02 ± 2,92	0,95
SOA _{est}	105,87 ± 6,51	3,02 ± 0,09	22,93	0,98	104,74 ± 6,94	3,14 ± 0,15	-1,57 ± 1,61	0,98
SOC	81,17 ± 4,29	1,71 ± 0,07 ^c	40,37	0,95	85,16 ± 3,30	1,33 ± 0,08	5,86 ± 0,93	0,98
SOC _{est}	89,87 ± 3,32	0,98 ± 0,05	70,93	0,93	92,47 ± 2,43	0,72 ± 0,05	3,77 ± 0,63	0,97
SOV	78,64 ± 6,58	1,81 ± 0,12 ^c	38,22	0,91	83,82 ± 3,43	1,14 ± 0,09	9,53 ± 1,00	0,98
SOV _{est}	86,17 ± 6,07	1,40 ± 0,09	49,37	0,91	90,67 ± 3,58	0,87 ± 0,08	7,83 ± 0,97	0,97
CIANAZINA								
SO	91,77 ± 7,13	3,95 ± 0,11 ^b	17,52	0,98	93,41 ± 6,05	3,55 ± 0,16	4,97 ± 1,60	0,99
SO _{est}	105,01 ± 4,93	2,01 ± 0,08	34,39	0,97	104,48 ± 4,94	2,14 ± 0,13	-1,46 ± 1,20	0,98
SOC	61,30 ± 7,93	3,46 ± 0,17 ^c	20,01	0,93	69,34 ± 6,66	2,56 ± 0,18	14,27 ± 2,27	0,97
SOC _{est}	85,45 ± 3,91	0,91 ± 0,07	75,91	0,89	88,95 ± 2,31	0,56 ± 0,05	5,22 ± 0,63	0,97
SOV	59,89 ± 10,46	3,27 ± 0,22 ^c	21,22	0,90	67,91 ± 3,41	1,81 ± 0,10	20,93 ± 1,20	0,99
SOV _{est}	82,51 ± 5,72	1,31 ± 0,09	52,92	0,89	88,43 ± 3,63	0,78 ± 0,08	8,28 ± 0,96	0,97

^a Desviación estándar (n=2). ^{b, c} Letras iguales indican que no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en el valor de k para cada plaguicida en los sustratos no estériles.

2.2.3.b) EFECTO DE LAS ENMIENDAS. SUELOS NO ESTÉRILES.

En el caso del suelo enmendado con alperujo la variabilidad en la determinación de los residuos de plaguicida en los distintos tiempo se sitúa entre el 4 y el 20% por lo que la concentración de plaguicida extraído a cada tiempo de incubación no resultó diferente significativamente ($P > 0,05$) a la encontrada en el resto de tratamientos.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores de concentración de cada plaguicida para el suelo enmendado con compost y el enmendado con vermicompost de alperujo a lo largo de todo el periodo de incubación.

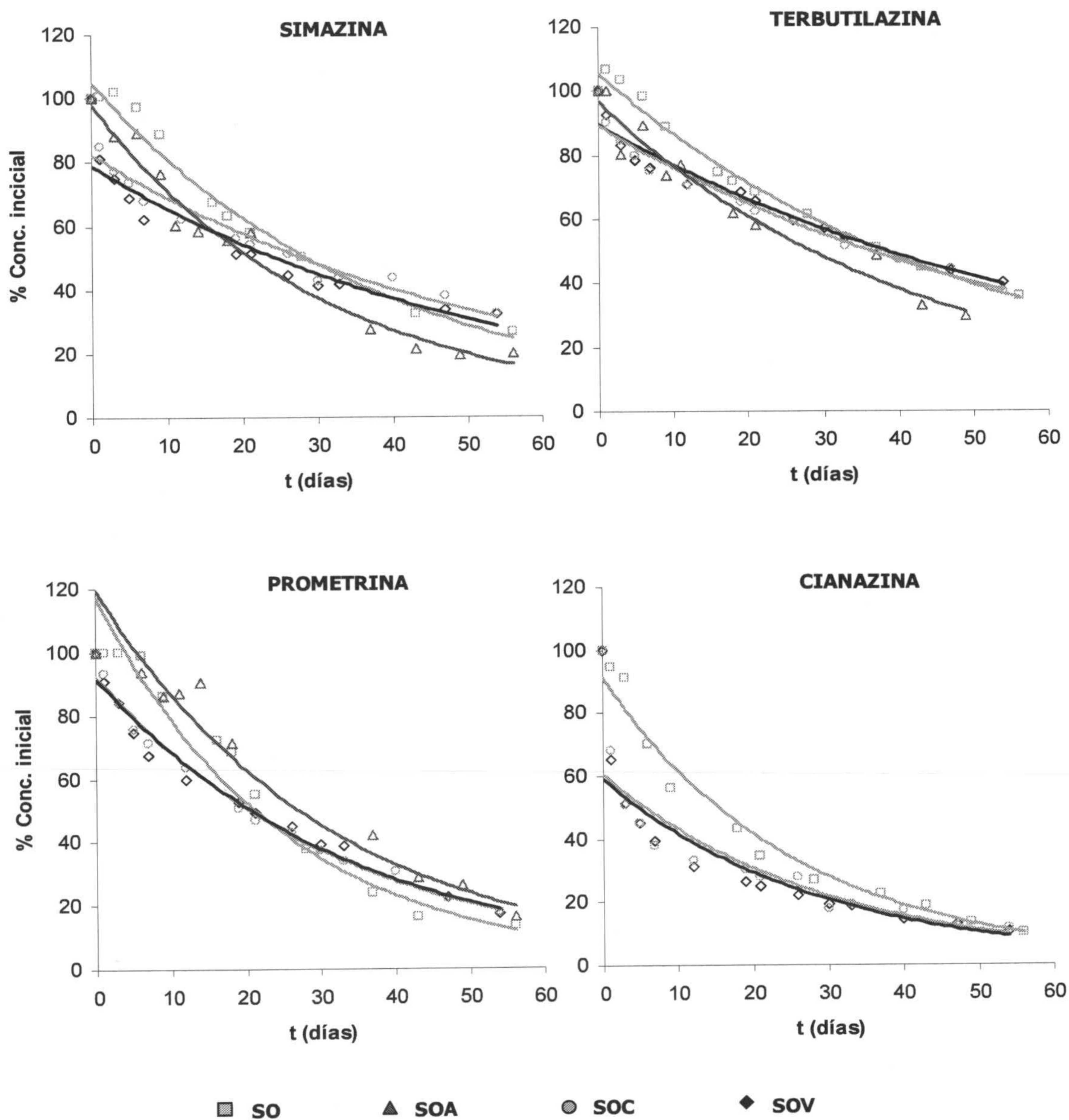


Figura IV.6. Degradación de triazinas en suelo sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost (SOV) de alperujo. Datos experimentales ajustados al modelo exponencial.

Comparación entre las concentraciones

Cuando comparamos la concentración de plaguicida en el suelo enmendado con compost y vermicompost respecto al suelo sin enmendar observamos que:

- ✓ A tiempos de incubación cortos (<20-25 d) la concentración de plaguicida fue menor en los suelos enmendados con compost y vermicompost que en el suelo sin enmendar para todos los herbicidas estudiados. Se observa también que durante la primera semana de incubación concentración de plaguicida disminuye más rápidamente en los suelos enmendados con compost y vermicompost que en suelo sin enmendar (Figura IV.6). Esta disminución es más acusada para la cianazina.
- ✓ A tiempos de incubación largos (>21 d para S, T y P y >37 d para C) no se observan diferencias en la concentración de los herbicidas triazínicos en suelo sin enmendar y enmendado con compost y vermicompost.
- ✓ Al final del periodo de incubación (56 días) no existen diferencias significativas ($P>0,05$), relativas a la cantidad de herbicida, entre el suelo sin enmendar y el suelo enmendado para ninguna de las triazinas estudiadas.

Comparación entre las velocidades de degradación

Al igual que ocurre cuando comparamos los plaguicidas entre sí en un mismo sustrato, la comparación de las curvas de degradación de cada plaguicida en los distintos sustratos (Figura IV.6) puede poner de manifiesto si existen diferentes procesos degradativos para un mismo compuesto en función del sustrato. De la comparación de las velocidades de degradación se deduce:

- ✓ La adición de alperujo induce una velocidad de degradación superior a la de las otras dos enmiendas, ocmpost y vermicompost, aunque no se encontraron, en general, diferencias con el suelo sin enmendar.
- ✓ Las velocidades de degradación de suelos enmendados con compost y vermicompost no difieren, significativamente ($P>0,05$), entre si, para todos los plaguicidas estudiados (Tabla IV.4).
- ✓ Los valores de k obtenidos por ajuste a la ecuación exponencial de primer orden, fueron mayores en el suelo sin enmendar que en el suelo enmendado con compost y vermicompost, para todos los herbicidas estudiados. Sin embargo, el modelo exponencial de primer orden obvia la rápida disminución de herbicida que se produce en los suelos enmendados con compost y vermicompost durante los primeros días de incubación por lo que puede ser más apropiado el ajuste a otras ecuaciones cinéticas, como han indicado otros autores (Romero et al., 1998; Sánchez et al., 2003).

Tabla IV.5. Parámetros obtenidos del ajuste del modelo exponencial a los datos de degradación de triazinas en suelo de olivar sin enmendar (SO) y enmendado con alperujo (SOA), compost (SOC) y vermicompost de alperujo (SOV) a tiempos cortos (<7d) y largos (>7d).

	ECUACIÓN EXPONENCIAL				ECUACIÓN DE HOERL				
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	
TERBUTILAZINA					SIMAZINA				
SO <7d	102,92 ± 5,21	0,32 ± 0,75	216,61	0,44	SO <7d	100,48 ± 2,15	0,32 ± 0,32	219,35	0,16
SO >7d	102,84 ± 3,68	1,89 ± 0,05	36,57	0,99	SO >7d	99,31 ± 7,09	2,42 ± 0,10	28,57	0,98
SOC <7d	96,85 ± 3,51	3,86 ± 0,38	17,97	0,93	SOC <7d	92,13 ± 5,64	4,59 ± 0,65	15,11	0,86
SOC >7d	85,41 ± 3,14	1,49 ± 0,04	46,47	0,99	SOC >7d	73,66 ± 5,22	1,50 ± 0,08	46,43	0,95
SOV <7d	97,94 ± 4,51	4,00 ± 0,49	17,32	0,89	SOV <7d	94,89 ± 9,11	6,46 ± 1,00	10,73	0,83
SOV >7d	89,61 ± 3,87	1,54 ± 0,04	44,90	0,98	SOV >7d	63,78 ± 4,95	1,27 ± 0,08	54,68	0,96
PROMETRINA					CIAZAZINA				
SO <7d	99,32 ± 11,43	0,31 ± 1,47	225,30	0,07	SO <7d	101,40 ± 5,74	5,88 ± 0,74	11,79	0,93
SO >7d	136,76 ± 24,05	4,41 ± 0,24	15,71	0,97	SO >7d	77,56 ± 9,07	3,55 ± 0,14	19,54	0,98
SOC <7d	98,16 ± 2,58	4,86 ± 0,28	14,26	0,97	SOC <7d	86,83 ± 15,95	12,97 ± 1,95	5,34	0,85
SOC >7d	97,89 ± 13,39	3,27 ± 0,14	21,19	0,96	SOC >7d	53,66 ± 7,66	3,16 ± 0,15	21,96	0,96
SOV <7d	99,67 ± 6,27	5,70 ± 0,66	12,15	0,90	SOV <7d	89,25 ± 21,03	13,87 ± 2,98	4,99	0,78
SOV >7d	96,04 ± 9,22	3,11 ± 0,11	22,31	0,98	SOV >7d	39,70 ± 4,54	2,36 ± 0,01	29,30	0,96

^a Desviación estándar (n=2).

En suelos enmendados con compost y vermicompost podemos establecer dos fases de degradación, más marcadas en el caso de simazina y cianazina (Figura IV.6). Una primera fase rápida (0-7 d) en la que la pendiente de la curva de degradación es más acusada y una segunda fase donde la degradación ocurre de forma más lenta (7-56 d). Los valores de k obtenidos en las distintas fases y en todo el periodo de incubación (Tablas IV.4 y IV.5) corroboran este hecho.

De forma resumida podemos afirmar que las velocidades de degradación (k) en la primera semana en suelo enmendado con compost y vermicompost son mayores que si se considera todo el proceso de incubación y superiores a las del suelo sin enmendar, en todos los casos. Esto es especialmente acusado para la cianazina cuyo valor de k para la primera semana es dos veces mayor al valor obtenido para todo el proceso.

2.2.3.c) EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS. SUELOS ESTÉRILES.

En la Figura IV.7 y IV.8 se recogen los puntos experimentales junto con la curva ajustada al modelo exponencial para muestras estériles frente a no estériles. Los parámetros de la ecuación exponencial se recogen en la Tabla IV.4.

Dado que en este caso nos interesa establecer el efecto de la esterilización sobre la degradación de cada plaguicida, sólo se comparará cada sustrato estéril con su correspondiente no estéril para cada plaguicida obviando las diferencias que puedan existir entre los diferentes sustratos. A continuación se exponen los resultados obtenidos para cada tipo de suelo (sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo) para todos los herbicidas estudiados. A efectos comparativos se usa la concentración extraída de cada plaguicida al final del periodo de extracción, la pendiente de la curva ajustada y por tanto el $t_{1/2}$ para el suelo estéril y no estéril.

Suelo de olivar sin enmendar (SO).

En suelo sin enmendar no se observaron diferencias entre la muestra estéril y la no estéril respecto a la concentración de simazina y terbutilazina para todo el periodo de incubación. Tampoco se encontraron diferencias significativas para simazina y terbutilazina, $P=0,97$ y $P= 0,98$, respectivamente, en la pendiente de las curvas de degradación entre el suelo estéril y el no estéril. Estos resultados indican que terbutilazina y simazina se degradan, en suelo sin enmendar, por procesos abióticos.

Para prometrina y cianazina la concentración de herbicida al final del periodo de degradación (56 d) fue aproximadamente tres veces mayor en suelo estéril que en suelo no estéril. Igualmente los valores de k son menores en la muestra estéril que en la no estéril resultando valores de $t_{1/2}$ en suelo estéril, aproximadamente dos veces superiores a los del suelo sin esterilizar.

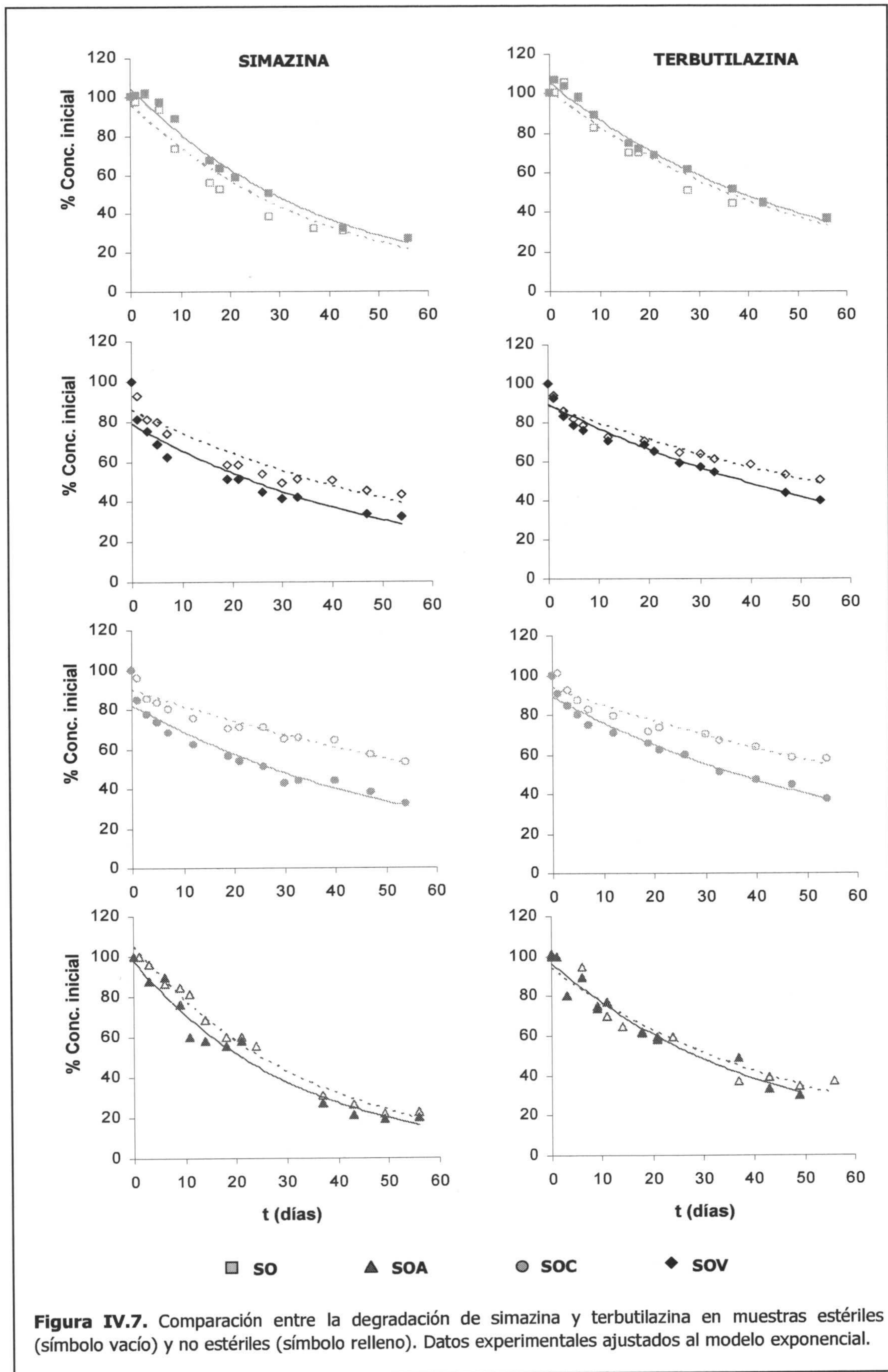
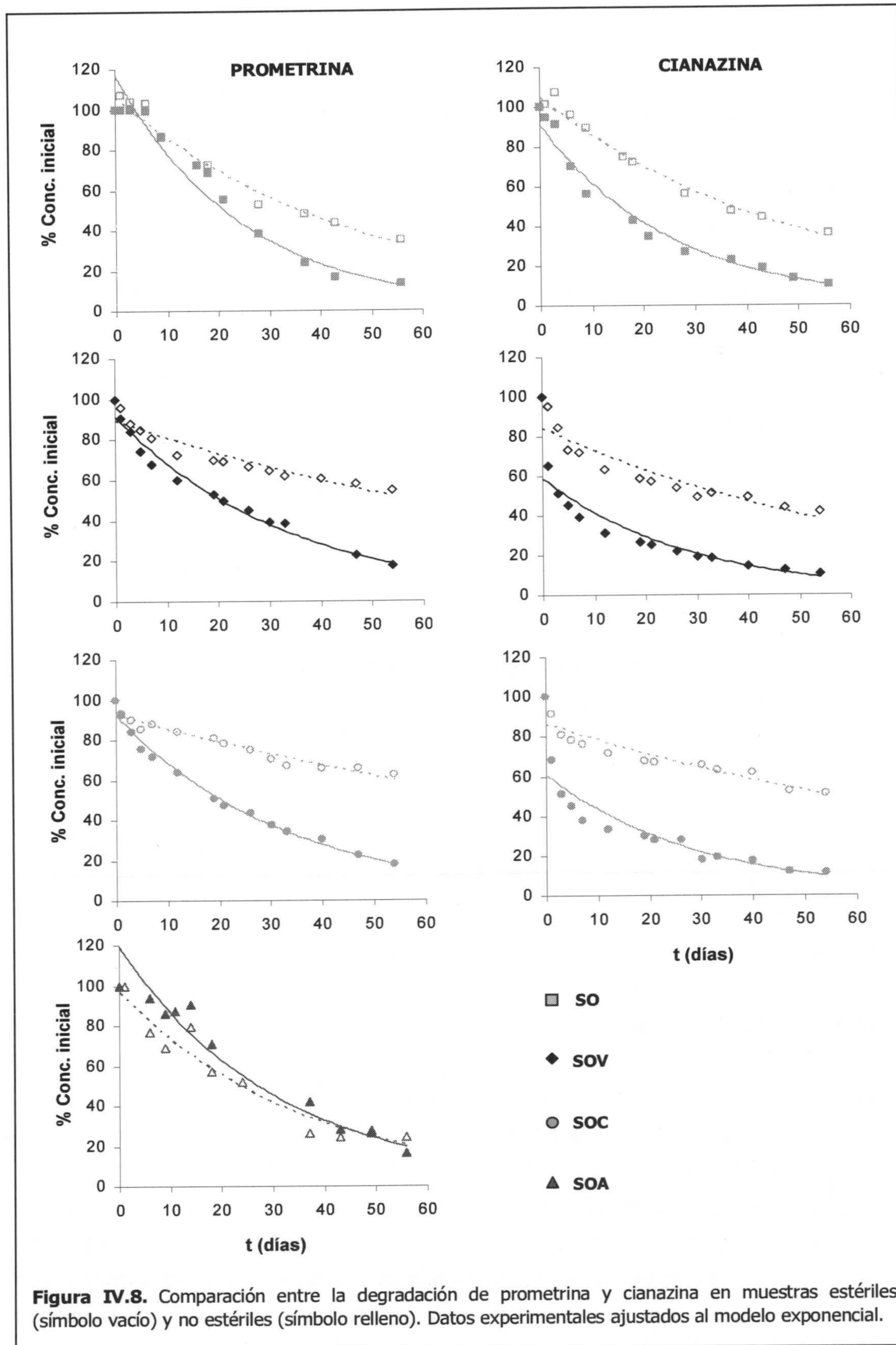


Figura IV.7. Comparación entre la degradación de simazina y terbutilazina en muestras estériles (símbolo vacío) y no estériles (símbolo relleno). Datos experimentales ajustados al modelo exponencial.



Suelo de olivar enmendado con alperujo (SOA).

Para simazina, terbutilazina y prometrina en SOA estéril y no estéril no se observan diferencias significativas ($P > 0,05$) entre la concentración de plaguicida a lo largo de todo el periodo de incubación, ni entre los valores de k y $t_{1/2}$, lo que indica que en suelo enmendado con alperujo predomina la degradación abiótica de estas triazinas.

Suelo de olivar enmendado con compost (SOC) y vermicompost (SOV).

Para todos los plaguicidas estudiados se observó que la concentración de herbicida al final del periodo de incubación en los suelos enmendados con compost y vermicompost fue mayor en muestras estériles que en las no estériles. Los valores de k también disminuyeron significativamente en muestras estériles respecto a las no estériles y por tanto los valores de $t_{1/2}$ fueron mayores en los suelos esterilizados que en los suelos sin esterilizar.

Las diferencias observadas entre los distintos parámetros usados para la comparación de muestras estériles y no estériles fueron más acusadas para prometrina y cianazina que para simazina y terbutilazina.

2.2.3.d) POSIBLES MECANISMOS DE DEGRADACIÓN

Los resultados obtenidos para suelos estériles y no estériles permiten establecer los posibles mecanismos de degradación de triazinas en suelo.

A pesar de que numerosos estudios muestran una relación entre la constante de Freundlich (K_f) y la velocidad de degradación (k) de un plaguicida (Burkhard y Guth, 1981; Dousset et al., 1997; Di et al., 1998; Baran et al., 2003), los resultados obtenidos en este trabajo, relativos a la pendiente de las curvas de degradación y a la concentración que permanece en el suelo sin enmendar al final del periodo de incubación, no se puede afirmar que la adsorción de los herbicidas estudiados disminuya su degradación al influir en la disponibilidad del compuesto.

La prometrina, herbicida más adsorbido que la simazina, presentó, junto con la cianazina, la mayor degradación en todos los sustratos estudiados.

Si atendemos sólo a la familia de las Cl-triazinas (simazina, terbutilazina y cianazina) observamos que cianazina, con la misma capacidad de adsorción que simazina ($K_f \approx 0,72$) se degradó más rápidamente que ésta, siendo la concentración de cianazina al final del periodo de incubación entre dos y tres veces menor que la de simazina. Además simazina y terbutilazina presentaron velocidades de degradación similares a pesar de que la terbutilazina se adsorbe más que la simazina ($K_f \approx 1,81$ y $0,72$, para terbutilazina y simazina, respectivamente) y por tanto estaría menos disponible a la degradación.

Para poder entender mejor las diferencias en la degradación de las triazinas estudiadas en cada suelo tendremos que centrarnos en la estructura química de cada compuesto. Para ello vamos a hacer una separación por familias. Por un lado las Cl-triazinas (simazina, terbutilazina y cianazina) y por otro lado la S-triazina (prometrina).

Los miembros de la familia de las Cl-triazinas (Figura IV.9) presentan tres vías fundamentales de degradación: la hidrólisis que da lugar a las hidrox-triazinas al sustituirse el átomo de Cl por el grupo OH, la desalquilación de las cadenas alquílicas unidas a los átomos de C del anillo aromático y la mineralización completa del anillo triazínico (Harris, 1967; Knuesli et al., 1969; Cripps y Roberts, 1978; Mandelbaum et al., 1995; Caracciolo et al., 2005).

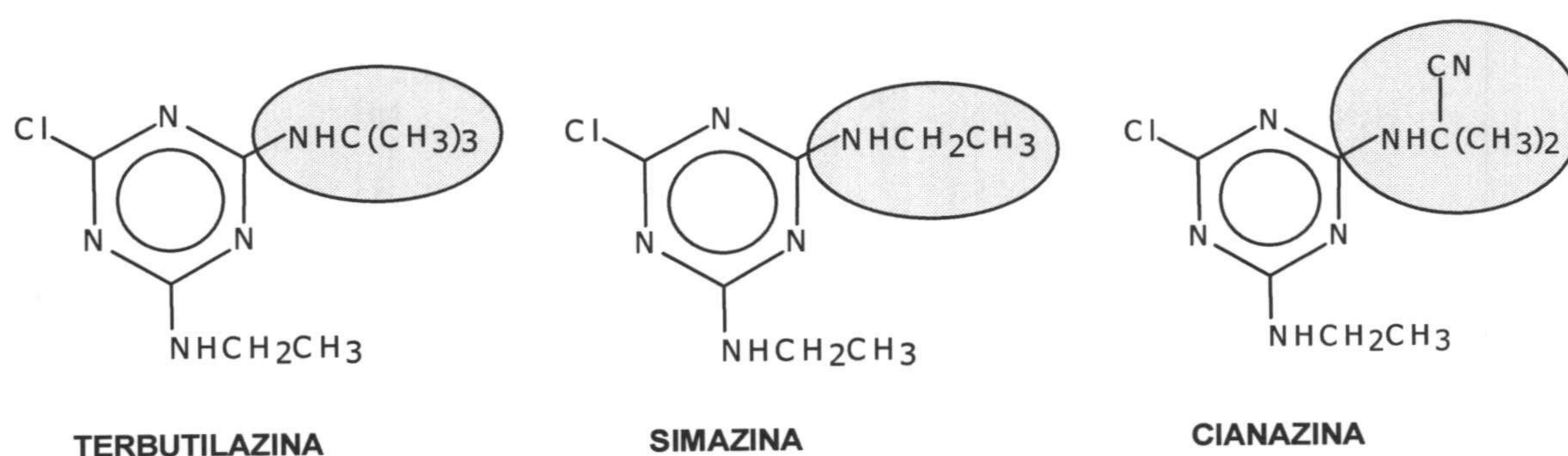
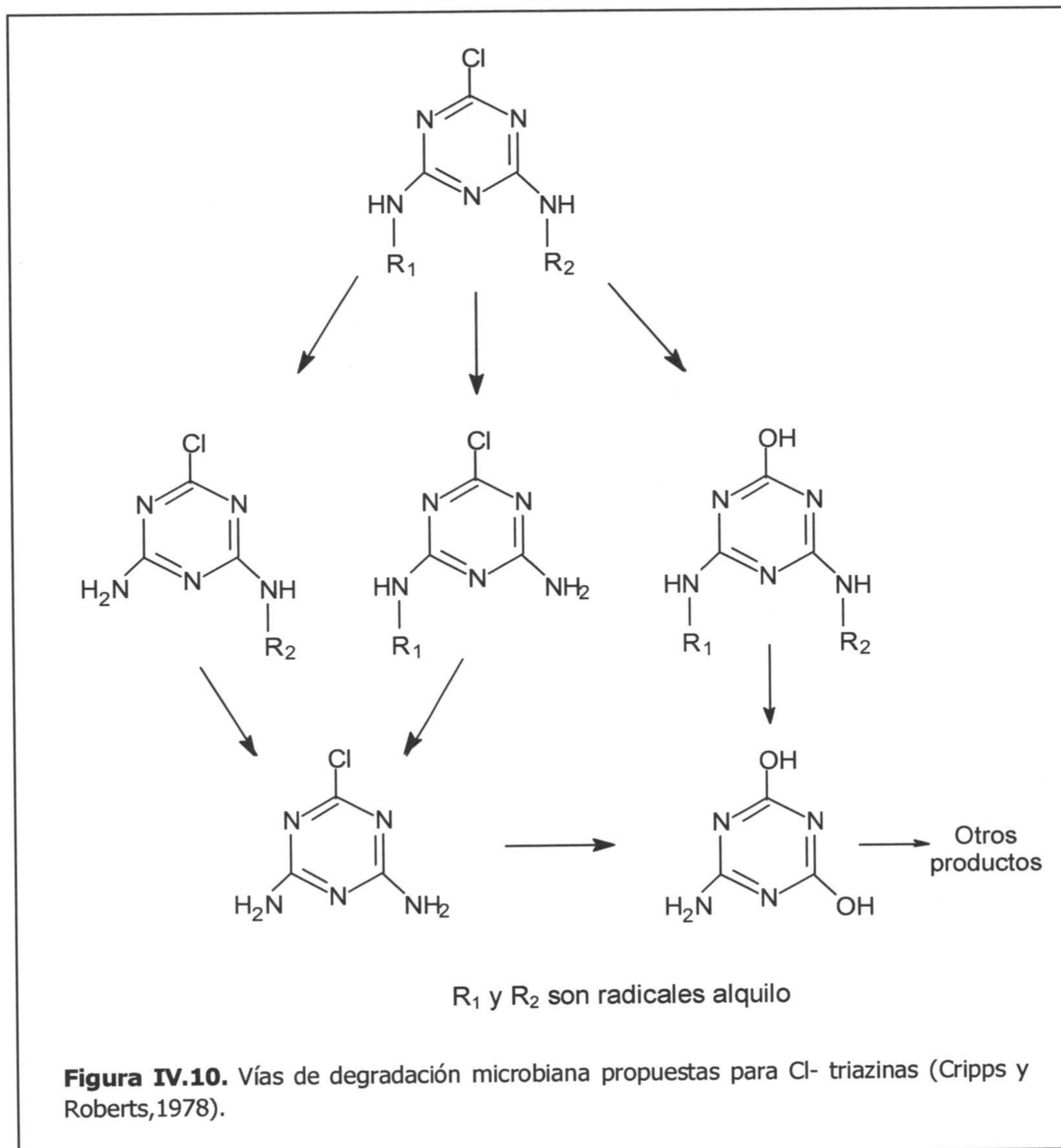


Figura IV.9. Estructura de las Cl-triazinas. Se marca con un círculo el radical diferente.

La hidroxilación puede tener lugar de forma biótica o abiótica y los metabolitos resultantes son toxicológicamente inactivos. Por su parte, la desalquilación sólo se produce de forma biótica y los metabolitos originados pueden tener la misma actividad toxicológica que los compuestos de partida. La desalquilación de los grupos amino de las triazinas suele estar asociada a velocidades bajas de degradación del anillo triazínico (Kaufman y Kearney, 1970). En la Figura IV.9 se representan las vías de degradación principales para las Cl-triazinas.

Existen estudios que demuestran que en el proceso de desalquilación el grupo más fácilmente degradable es el grupo etilo, seguido del isopropilo y el terbutilo (Behki y Khan, 1994; Mougin et al., 1997; Struthers et al., 1998). Según esto simazina debería degradarse en mayor medida que terbutilazina. Navarro et al. (2003) en un estudio de degradación de simazina y terbutilazina en suelo encuentran como productos de degradación monodesetilsimazina y desetilterbutilazina. En ese mismo estudio se observa que al tiempo de incubación de 56 d la concentración de simazina en suelo enmendado y sin enmendar fue mucho menor a la de terbutilazina. Otros autores también encuentran mayor degradación de simazina en suelo (García-Valcárcel y Tadeo, 1999; Albarrán et al., 2003y 2004) o en cultivos bacterianos (Kontchou y Gschwind, 1999).



Estos resultados contradicen los obtenidos en este trabajo en el que la concentración de simazina y terbutilazina al final del periodo de incubación (56 d) apenas difieren entre sí.

La cianazina difiere del resto de Cl-triazinas en que contiene un grupo nitrilo en una de las cadenas laterales. Este es el principal sitio de ataque de este compuesto en el suelo (Figura IV.11) (Cripps y Roberts, 1978). La molécula pasa por hidrólisis del grupo nitrilo a amida y posteriormente a ácido. La hidrólisis del grupo Cl también ocurre.

degradación ocurre principalmente por mecanismos distintos a los bióticos. Estudios previos han confirmado la mayor degradación en suelo de cianazina respecto a otros herbicidas como atrazina (Beynon et al., 1972; Sironi et al., 1973; Blumhorst y Weber, 1992), simazina (Beynon et al., 1972) o alacloro (Sadeghi y Isensee, 1997). Se ha observado que la cianazina puede inhibir la degradación de otra Cl-triazina como la atrazina en cultivos bacterianos (Gebendinger y Radosevich, 1999; Lin et al., 2006). Moorman et al. (2001) también observan una disminución en la velocidad de degradación de atrazina en presencia de otros plaguicidas. Los resultados que se presentan apuntan a una utilización preferente de la cianazina en las primeras etapas de metabolización, cuando se produce un incremento en la actividad deshidrogenasa, de forma que los otros herbicidas no son empleados como fuentes de energía por los microorganismos.

La terbutilazina, por su parte, se degrada preferentemente por vía abiótica, como indican similares curvas de degradación en muestras estériles y no estériles. Este comportamiento puede ser debido a que este compuesto se encuentra más adsorbido en el suelo y por tanto está menos disponible a los microorganismos. Además la presencia, en la solución del suelo, de otros compuestos de más fácil degradación por vía microbiana podría contribuir, como ya se ha explicado antes para la simazina, a que el principal mecanismo de degradación para este compuesto sea la degradación química.

El hecho de que simazina y terbutilazina se degraden prioritariamente por mecanismos químicos podría explicar el comportamiento similar encontrado para estos dos compuestos. Según esto y basándonos en los estudios realizados por otros autores (Harris, 1967) podríamos concluir que la principal reacción que afecta a terbutilazina y simazina en suelo de olivar sin enmendar es la pérdida del halógeno y la formación de la correspondiente hidroxiatrazina sin actividad toxicológica.

Al igual que ocurre con las Cl-triazinas, la prometrina también puede sufrir reacciones de hidrólisis, lo que implica la pérdida del grupo SCH_3 y la formación de la correspondiente hidroxitriazina. Sulfoxi y sulfuro derivados se consideran productos intermedios del proceso de eliminación del grupo metiltio (Knuesli et al., 1969).

Por otra parte la basicidad del grupo amino de las S-triazinas (tio-triazinas) es mayor que la correspondiente a las Cl-triazinas (pK_a entre 0,63 y 2,0 para las Cl-triazinas y pK_a 4,1 para la S-triazina). Por tanto, la sustitución de las cadenas laterales nitrogenadas ocurre más fácilmente y bajo condiciones que no interfieren de forma importante en el grupo metiltio (Knuesli et al., 1969). Giardina y Buffone (1977) describen las principales vías de degradación de prometrina mediante bacterias del suelo.

Existe poca información referente al metabolismo de cianazina y prometrina en suelo. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio indican que los grupos funcionales presentes en estas triazinas, distintos a los de simazina y terbutilazina, los convierten en compuesto más fácilmente degradables. Ambas podrían interferir en la degradación microbiana de otras Cl-triazinas como la simazina y terbutilazina. La mayor degradación de cianazina y

prometrina en suelo sin enmendar estéril respecto al no estéril refleja la importancia de la degradación microbiana en estos dos compuestos.

Efecto de la adición de enmiendas en la degradación de triazinas en suelo

Teniendo en cuenta que al final del periodo de degradación la cantidad de cada triazina que permanece en el suelo es la misma en todos los sustratos empleados, podemos afirmar que la adición de alperujo, compost y vermicompost de alperujo no afecta a la degradación final de los herbicidas estudiados. Este hecho contradice lo observado en otros estudios donde se manifiesta que las enmiendas orgánicas afectan a la degradación de plaguicidas en suelo bien impidiéndola, al aumentar la capacidad de adsorción del suelo y por tanto disminuir la disponibilidad de los plaguicidas a la degradación (Alvey y Crowley, 1995; Graber et al., 1997; Fernández et al., 2000), bien favoreciéndola, al aumentar la actividad microbológica del suelo (Guo et al., 1993; Dzantor et al., 1993). Sin embargo los resultados que aparecen en la bibliografía indican que es posible la concurrencia de distintos procesos.

A priori la disminución o aumento de la degradación de un plaguicida podrían verse afectadas de forma directa por fenómenos de adsorción o por el aumento de la actividad biológica de un suelo, influenciados ambos por la adición de m.o. exógena. Sin embargo, en la práctica, numerosos factores pueden intervenir en el proceso de degradación de un compuesto con resultados distintos a los esperados si sólo se atiende a un aumento en el contenido de m.o. Entre estos factores podemos citar el pH del suelo (Blumhorst y Weber, 1992), la humedad (García-Varcárcel y Tadeo, 1999), poblaciones microbianas, composición de las enmiendas (Doyle et al., 1978; Moorman et al., 2001), estructura de los plaguicidas (Doyle et al., 1978), o sus formulaciones (Felsot y Dzantor, 1990), prácticas agrícolas (Sadeghi y Isensse, 1997) o dosis de la enmienda (Prata et al., 2001; Cox et al., 1997), entre otros. Así, otros autores encuentran, como en nuestro estudio, que la adición de materia orgánica exógena no afecta a la cantidad degradada de herbicida al final del periodo de incubación (Barriuso et al., 1995; Navarro et al., 2003). Sin embargo, y basándonos en los valores de k obtenidos en este trabajo, podemos decir que las diferentes enmiendas aplicadas sí influyen en el modo de degradación de las triazinas estudiadas.

Los suelos enmendados con compost y vermicompost presentan curvas de degradación distintas a los suelos sin enmendar para todas las triazinas en estudio. Como ya se ha indicado anteriormente, en suelos enmendados con compost y vermicompost podemos diferenciar dos fases de degradación, una rápida (0-7 d) y otra en la que la degradación ocurre de forma más lenta (>7 d). Estas fases son más marcadas en el caso de los herbicidas menos adsorbidos, simazina y cianazina. Navarro et al. (2003) también encuentran que la degradación de simazina en los primeros días de incubación en suelo enmendado es más rápida que en suelo sin enmendar aunque al final del periodo de incubación no existan diferencias en la cantidad de

herbicida que permanece en los distintos sustratos. Para terbutilazina la disminución rápida en los primeros días no fue evidente, sin que existan diferencias entre las dos fases del proceso degradativo. Este comportamiento podría atribuirse a la mayor actividad microbiana durante la primera fase (Figura IV.4), en contra de lo que ocurre en la segunda fase, donde ésta disminuye y posiblemente la adsorción del herbicida aumente (Navarro et al., 2003).

El estudio de la degradación en muestras estériles corrobora el efecto predominante de la degradación biológica durante la primera semana de incubación en los suelos enmendados con compost y vermicompost para todos los herbicidas triazínicos estudiados. Como se observa en las Figuras IV.7 y IV.8 la disminución en la concentración de los herbicidas en los primeros días de incubación fue menos acusada en muestras estériles que en no estériles.

En definitiva, el aumento en la actividad microbiana durante la primera semana de incubación, en suelos enmendados con compost y vermicompost, de gran similitud composicional, favorece la degradación de los herbicidas triazínicos respecto al suelo sin enmendar en este periodo de tiempo.

Por el contrario la adición de alperujo, enmienda composicionalmente diferente a las otras dos, influye de forma distinta en la degradación de los herbicidas triazínicos.

Los resultados obtenidos en suelos enmendados con alperujo estériles y no estériles muestran que los plaguicidas se degradan en este sustrato preferentemente por procesos de tipo abiótico debido a que no se encontraron diferencias entre las muestras estériles y no estériles para ninguno de las triazinas estudiadas. Y esto sucede así, a pesar de la mayor actividad deshidrogenada encontrada en este sustrato (Figura IV.4).

En efecto, la adición de alperujo al suelo produce un incremento en la actividad microbiana como muestran los resultados de actividad deshidrogenas. Sin embargo este aumento no repercute en una mayor degradación de los plaguicidas como han postulado otros autores (Guo et al., 1993), puesto que los microorganismos presentes en el suelo enmendado con alperujo usan de forma preferente la m.o del alperujo como fuente de carbono y energía en lugar de los plaguicidas (Albarrán et al., 2003; Sánchez et al., 2003; Moorman et al., 2001a), de ahí que la vía biótica no tenga relevancia en la degradación de triazinas en suelos enmendados con alperujo.

De la comparación entre los distintos sustratos se deduce que el tipo y composición de la enmienda afecta de forma determinante a las vías de degradación de un compuesto, del mismo modo que lo hace en el fenómeno de adsorción como explicamos en el capítulo anterior. Así por ejemplo, Guo et al. (1991) estudian el efecto de distintas enmiendas sobre la degradación de atrazina y observan que, a pesar de que los valores de DT50 son similares en todos los sustratos empleados, el grado de inhibición de la fitotoxicidad del plaguicida depende de la dosis y del tipo de enmienda empleada. Otros autores muestran que la aplicación a un suelo de distintas enmiendas afecta de forma diferente a la degradación de un mismo plaguicida (Fernández et al., 2000 y 2001).

La adición al suelo de materiales orgánicos con altas relaciones C/N influye en la degradación de las triazinas al influir en el tamaño y la actividad de las comunidades microbianas del suelo. Alvey y Crowley (1995) establecen que la forma en la que se adiciona el C orgánico al suelo afecta de forma muy importante al comportamiento de los microorganismos del suelo. Esto justificaría las distintas formas de degradación de triazinas observadas entre las enmiendas empleadas en este estudio. El alperujo, con predominio de C-alquílico, constituye una fuente de C para los microorganismos fácilmente disponible y degradable, mientras que la adición de compost y vermicompost, con mayor composición de C-aromático, menos disponible, favorece la degradación microbiana de los herbicidas triazinas usados como fuente de C y posiblemente N (Abdelhafid et al., 2000) aunque serían necesarios estudios adicionales para elucidar este punto.

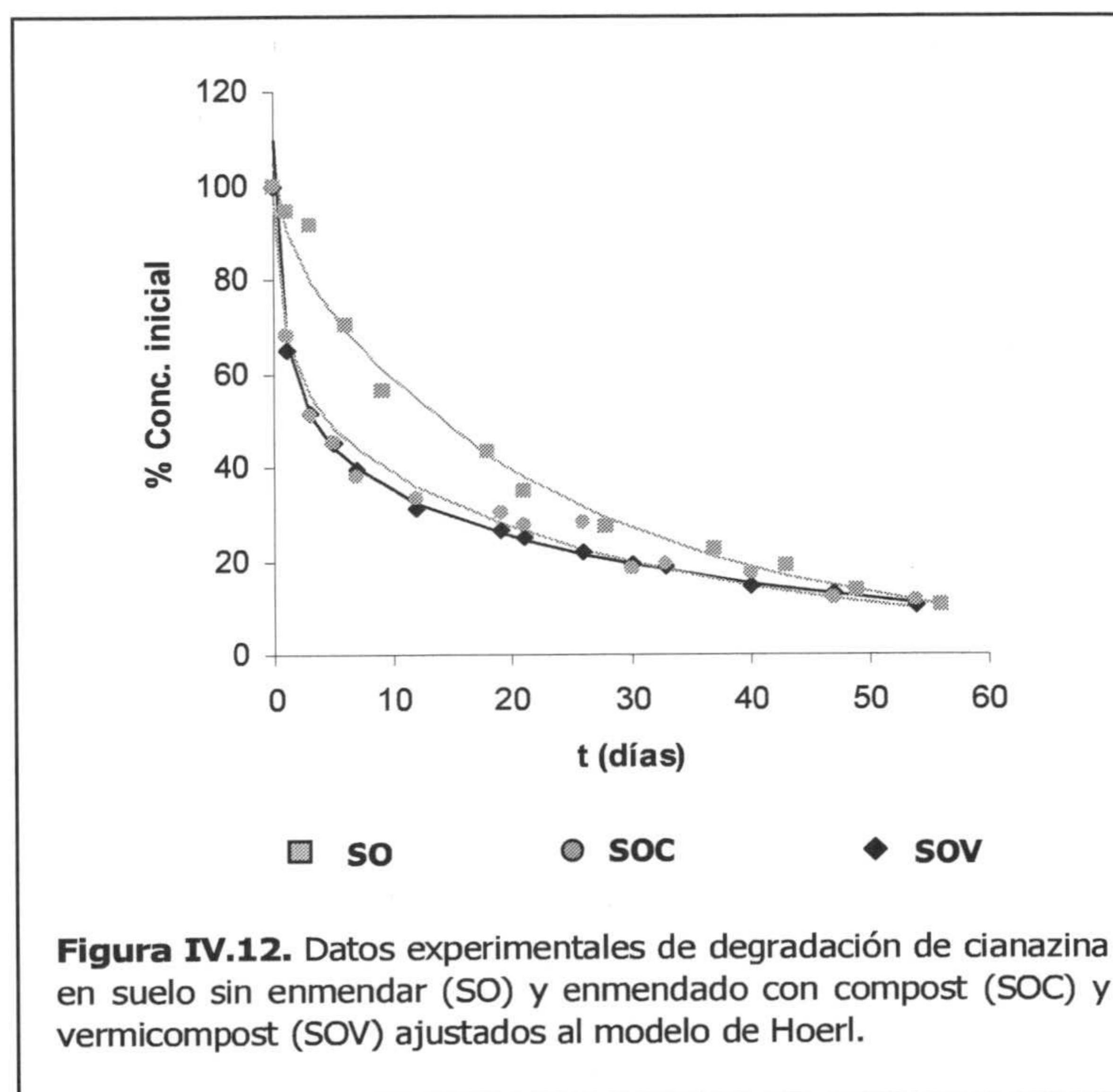
2.2.3. e) AJUSTE DE LOS DATOS A OTROS MODELOS MATEMÁTICAS

En las Figuras IV.6, IV.7 y IV.8 se representan los datos experimentales de la degradación de triazinas en los diferentes suelos (estériles y no estériles) junto con las curvas teóricas obtenidas del ajuste al modelo lineal (ecuación exponencial de primer orden [1]). En la Figura IV.12 se muestran los datos experimentales de degradación de la cianazina junto con la curva teórica obtenida del ajuste a la ecuación de Hoerl [3].

En la Tabla IV.4 se recogen las constantes de degradación obtenidas en cada uno de los ajustes empleados, junto con algunos parámetros estadísticos del ajuste, tanto para los suelos estériles como los no esterilizados.

Como se ha indicado anteriormente, el ajuste a la ecuación exponencial proporciona valores de $R^2 > 0,90$ en todos los casos (excepto en uno), por lo que la curva teórica se ajusta bien a los datos experimentales. Sin embargo cuando se produce una disminución rápida de la concentración de plaguicida durante los primeros días de incubación este modelo subestima el valor de C_0 así como la velocidad de degradación de los plaguicidas a tiempos cortos. Este hecho se observa de forma más significativa en la degradación de cianazina en suelo enmendado con compost y vermicompost, como se ha descrito en párrafos anteriores. La curva ajustada a la ecuación de Hoerl representa mejor los casos en los que la curva de degradación tiene una rápida pendiente inicial seguida de una etapa más lenta (Figura IV.12).

Los datos experimentales se ajustaron bien a la ecuación de Hoerl en todos los casos ($R^2 > 0,90$). En general los valores del parámetro c están muy próximos a cero, lo que muestra que el ajuste lineal a la ecuación exponencial es una buena aproximación (Zimdahl et al., 1994). En el suelo enmendado con compost y vermicompost sin esterilizar los valores de $c \ll 0$ indican que la degradación del compuesto sigue un patrón bifásico, siendo más rápida al principio que al final (Zimdahl et al., 1994).



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 TD_{50} considerando cinéticas de otro orden puede conducir a valores muy distintos según la ecuación empleada (Leake et al., 1995; Beulke y Brown, 2001). Los valores de $t_{1/2}$ calculados con el modelo lineal para las distintas triazinas en suelos estériles y no estériles se recogen en la Tabla IV.4. Estos datos son una buena estimación, salvo algunas excepciones, de los valores de TD_{50} calculados por interpolación a partir de los datos experimentales obtenidos. En suelos enmendados con compost y vermicompost, para simazina y cianazina, en los que se observa una rápida disminución de la concentración de estos plaguicidas en los primeros días de incubación, los valores teóricos de $t_{1/2}$ difieren entre 10 y 20 d de los valores TD_{50} . Las diferencias son más acusadas en los suelos no estériles que en los estériles puesto que la disminución de la concentración de plaguicida en los primeros días es mayor en los primeros.

En general, de los resultados obtenidos se deduce que la degradación de las distintas triazinas es del mismo orden (Navarro et al., 2003; Caracciolo et al., 2005) o más rápida (Blumhorst y Weber, 1992; Dousset et al., 1997; Di y col, 1998) que la observada en otros estudios.

Sin embargo, es difícil comparar los valores de $t_{1/2}$ obtenidos con los publicados por otros autores, puesto que como ya hemos dicho antes son muchos los factores que influyen en la degradación de compuestos químicos en el suelo tales como heterogeneidad de la muestra,

temperatura de incubación, presencia de catalizadores abióticos, poblaciones microbianas y otros (Gustafson y Holden, 1990; Beulke et al., 2000, paper de la degradación de Sánchez et al., 2003). Así, en la mayoría de los casos las condiciones de los experimentos de degradación no son las mismas. Por ejemplo, los trabajos encontrados utilizan una temperatura superior a 20°C para incubar los suelos, lo que puede favorecer la degradación de los herbicidas (Caracciolo et al., 2005; Dousset et al., 1997).





SULFONILUREAS



3.1. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.1. HIDRÓLISIS DE SULFONILUREAS

Las sulfonilureas son susceptibles de degradación química en medio acuoso principalmente por hidrólisis del puente sulfonilureico (Beyer et al., 1988; Brown, 1990; Brown, 1994). Numerosos estudios ponen de manifiesto que la velocidad de hidrólisis es función de la temperatura y el pH y varía de acuerdo a la estructura de la molécula (Sabadell, 1996; Sarmah et al., 2000; Sarmah y Sabadie, 2002).

La correcta evaluación de la hidrólisis química no sólo contribuye a un mejor entendimiento del comportamiento de estos herbicidas en el medio ambiente sino que también permite evaluar su potencial para contaminar aguas superficiales y subterráneas.

Por otro lado, la posible inestabilidad de estos compuestos en las condiciones experimentales de los ensayos realizados puede originar inconvenientes analíticos que dificulten o den lugar a una mala interpretación de estos procesos.

En base a estas dos premisas, se realizó un estudio de la degradación en soluciones acuosas de las tres sulfonilureas, clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón, a distintos pH y distinta temperatura.

La tasa de hidrólisis de los herbicidas estudiados fue determinada en función de la desaparición de estos compuestos en solución acuosa.

3.1.1.a) EFECTO DEL pH EN LA HIDRÓLISIS DE SULFONILUREAS.

De una solución acuosa de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón a 4 mg L^{-1} , preparada como se describe en el apartado II.2.8.1, se tomaron cuatro submuestras de 50 mL cada una. Dos de ellas se acidificaron hasta $\text{pH } 3,5 \pm 0,1$ (pH de las muestras de los ensayos de adsorción-desorción en el momento de la inyección en HPLC) y $4,4 \pm 0,1$ con HCl 1N y al resto se le añadió NaHCO_3 1N hasta conseguir pH de $7,28 \pm 0,1$ y $8,21 \pm 0,1$ (próximos a los valores de pH del suelo de vega no enmendado y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo. La solución original a $\text{pH } 5,5 \pm 1$ y las diferentes submuestras se guardaron en cámara termostaticada a $15 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ y en ausencia de luz. Se tomaron alícuotas de cada muestra por duplicado a diferentes tiempos durante 7 días (periodo durante el cual el pH no se modificó).

3.1.1.b) EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA HIDRÓLISIS DE SULFONILUREAS A PH ÁCIDO.

Se tomó una submuestra de una solución acuosa de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón a 4 mg L^{-1} , preparada como se describe en el apartado II.2.8.1, y $\text{pH } 5,21 \pm 1$ y se

acidificó con HCl 1 N hasta un pH de $3,6 \pm 0,1$ equivalente al pH de las muestras de los ensayos de adsorción- desorción en el momento de la inyección en HPLC. Las muestras se conservaron a diferentes temperaturas:

- *Temperatura de 5 ± 1 °C.* Con objeto de determinar la posible hidrólisis de los plaguicidas en soluciones acuosas conservadas en el frigorífico.

- *Temperatura de 15 ± 1 °C.* Para establecer el grado de degradación de los compuestos sulfonilureicos durante el periodo de agitación de las muestras, en cámara termostaticada, en los ensayos en batch de adsorción-desorción.

- *Temperatura ambiente ($25-30 \pm 1$ °C).* Simula la temperatura de las muestras en el carro de viales del cromatógrafo líquido a la espera de ser inyectadas.

Se tomaron alícuotas de cada muestra a diferentes tiempos durante 3 días (periodo durante el cual el no se produjeron cambios en el pH de las muestras).

Para las dos experiencias, la determinación de la concentración de herbicidas sulfonilureicos en las alícuotas se realizó por HPLC tal y como se describe en el apartado II.2.1.2.b.

3.1.2. EXTRACCIÓN DE SULFONILUREAS EN SUELO

La extracción de sulfonilureas en muestras de suelo enmendado o no, se realizó usando como disolvente extractante acetonitrilo. Los criterios seguidos para la elección de este disolvente son, por un lado, la elevada solubilidad de los herbicidas sulfonilureicos en acetonitrilo y el menor número de impurezas de la matriz del suelo coextraídas en el proceso.

Se pesaron 10 g de S, SV y SC que contenían los plaguicidas sulfoniluréticos y se extrajeron con 30 mL de acetonitrilo (PAR) en ultrasonidos durante 15 min. Para separar las fases, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm y 15 °C durante 15 min. Posteriormente el sobrenadante se filtró con papel de filtro. Este proceso se repitió dos veces.

Después de filtrar el sobrenadante, éste se concentró hasta sequedad en rotavapor a 40 ± 1 °C. Finalmente el residuo se redisolvió en 2 mL de acetonitrilo: agua MilliQ (40:60) y se filtró por un filtro de 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA, USA) antes de su inyección en el cromatógrafo líquido según las condiciones descritas en el apartado IV. 1.3.1.

El mismo procedimiento se siguió para las muestras de SA, pero en este caso se pesaron 15 g de suelo y el volumen de acetonitrilo empleado en la extracción fue de 45 mL.

En la Figura IV.1 se recoge un esquema del proceso de extracción de los herbicidas sulfonilureicos en suelo.

3.1.2.a) PÉRDIDAS AL CONCENTRAR EN ROTAVAPOR

Para establecer las posibles pérdidas de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón durante la concentración de las muestras en rotavapor se preparó una solución de los tres herbicidas en

acetonitrilo (PAR) a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$. Se concentraron en rotavapor 50 mL de esta solución en las mismas condiciones empleadas en el proceso de extracción. El residuo se redisolvió en 2 mL de una mezcla de acetonitrilo: agua MilliQ (40:60) y se filtró por filtro de $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore, Bedford, MA, USA) antes de su determinación por HPLC.

3.1.2.b) RECUPERACIONES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

Se pesaron 10 g de S, SV y SC a los que se adicionó 1 mL de una solución acuosa de sulfonilureas a 10 mg L^{-1} y el volumen de agua MilliQ necesario para alcanzar un contenido en humedad equivalente al 20% en peso del suelo. La concentración final de plaguicidas en suelo fue de $1 \mu\text{g g}^{-1}$, dosis superior a la habitualmente aplicada en campo, aproximadamente cinco veces menor (de Liñan, 2005). La mezcla se homogeneizó agitando en vortex y se dejó en contacto durante 2 h en cámara termostataada a $15 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para SA se pesaron 15 g de suelo y la concentración de la solución de plaguicidas aplicada fue de 20 mg L^{-1} lo que equivale a una concentración final en suelo de $1,3 \mu\text{g g}^{-1}$.

El proceso de extracción se siguió como se indica en el apartado IV.3.1.1.

Se realizan 4 réplicas por suelo.

3.1.3. PREINCUBACIÓN DE SUELO

La preincubación de suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV) se hizo del mismo modo que se describió en el apartado IV.2.1.2.

3.1.4. INCUBACIÓN DEL SUELO

La incubación de suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo con herbicidas sulfonilureicos se hizo del mismo modo que se ha descrito en el apartado IV.2.1.3, para suelo de olivar incubado con herbicidas triazínicos.

3.1.5. ACTIVIDAD DESHIDROGENASA

La medida de la actividad deshidrogenasa se realizó de la forma descrita en el apartado IV.2.1.4.

3.1.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados de degradación se realizó usando los test descritos en el apartado IV.2.1.5.

3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.2.1. HIDRÓLISIS DE SULFONILUREAS

La hidrólisis de clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón en el rango de pH 2,6–5,2 y a la temperatura 15 °C, durante un periodo de 30 días, se ajustó a una ecuación exponencial de primer orden [1]. A partir de su forma lineal se calculó el valor de las constantes de degradación y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$), expresado como $\ln 0,5/k$ (Tabla II.5).

No se observaron cambios significativos ($P > 0,05$) en la concentración de los herbicidas en las muestras a pH próximo a los valores del suelo ($7,5 \pm 0,1$ y $8,2 \pm 0,1$) durante los 7 días que duró el ensayo, por lo que no fue posible ajustar los valores a una cinética de primer orden. En estas condiciones se asume que no se produce hidrólisis de los tres herbicidas sulfonilureicos estudiados.

De los valores obtenidos para k y $t_{1/2}$ (Tabla IV.6) se deduce que los herbicidas sulfonilureicos estudiados se hidrolizan en solución acuosa más rápidamente a pH ácido y permanecen prácticamente estables a pH neutro o alcalino. Este comportamiento ha sido ampliamente corroborado por numerosos estudios (Braschi et al., 1997; Sabadie, 1996; Hemmamda et al., 1994; Berger y Wolfe, 1996).

Las sulfonilureas estudiadas son ácidos débiles con valores de pK_a comprendido entre 3 y 5,2 (Tabla II.1) de modo que a pH superior a su pK_a la forma predominante será la aniónica, mucho menos susceptible a la hidrólisis. Brown (1990), establece que la forma neutra es al menos entre 250 y 1000 veces más susceptible de hidrólisis que la aniónica. En la reacción de hidrólisis de la molécula neutra el agua ataca el carbono carbonílico del puente sulfonilureico, lo que da lugar a la ruptura de la molécula originándose una arilsufonamida sin capacidad herbicida y una amina heterocíclica, susceptible de degradación química, y liberándose dióxido de carbono (Figura IV.13). En el caso de la forma aniónica, la carga negativa está distribuida por todo el puente sulfonilureico, reduciendo la naturaleza electrofílica del carbono carbonílico.

De este modo el pH controla la tasa de hidrólisis del puente sulfonilureico mediante su efecto en la ionización, siendo la hidrólisis más rápida a pH ácido como ya se ha apuntado anteriormente.

Para caracterizar mejor el efecto del pH en la hidrólisis de los tres herbicidas sulfonilureicos estudiados, representamos el logaritmo neperiano de la tasa de degradación frente al pH de las soluciones acuosas (Figura II.14). Todas las sulfonilureas presentan una dependencia lineal pero discontinua a diferentes pHs. Para clorsulfurón y prosulfurón la discontinuidad apareció a pH próximo a 3,5, mientras que para bensulfurón metilo aparece en torno a pH 5,5. Resultados similares fueron encontrados por Hemmamda et al., (1994) y Dinelli et al. (1997) para clorsulfurón y prosulfurón. El hecho de que el pH al que aparece la

Tabla IV.6. Parámetros de ajuste a la ecuación de primer grado $C=C_0e^{-kt}$ en el estudio de la degradación de soluciones acuosas de sulfonilureas.

Tpo de duración del estudio (d)	INFLUENCIA DEL pH					INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA									
	Conc. (mg L ⁻¹)	7					3								
		Temp (°C)	4					5			15			25	
			pH	2,6	3,5	5,2	7,4 ^a	8,2 ^a	3,6	5,2	3,6	5,2	3,6	5,2	
CLR	C ₀	4,8	3,9	4,2	-	-	4,9	4,2	4,0	4,2	5,2	4,2			
	Kx10 ³	180,6	138,1	22,8	-	-	62,2	8,5	155,2	19,6	483,6	42,5			
	t _(1/2) (d)	3,8	5,0	30,4	-	-	11,1	81,5	4,5	35,3	1,4	16,0			
	R ²	0,87	0,99	0,92	-	-	0,86	0,30	0,99	0,66	0,96	0,99			
BSM	C ₀	4,9	4,1	4,1	-	-	3,6	4,1	4,1	4,1	3,6	4,1			
	Kx10 ³	26,7	32,9	25,3	-	-	14,9	8,5	42,5	18,7	79,7	101,6			
	t _(1/2) (d)	26,0	21,1	27,4	-	-	46,5	81,5	16,3	37,0	8,7	6,9			
	R ²	0,97	0,99	0,92	-	-	0,55	0,22	0,98	0,67	0,99	0,98			
PRS	C ₀	4,7	4,2	4,3	-	-	4,8	4,3	4,2	4,3	5,1	4,3			
	Kx10 ³	290,3	217,7	29,0	-	-	96,4	12,8	224,6	24,3	612,3	55,5			
	t _(1/2) (d)	2,4	3,2	23,9	-	-	7,2	54,1	3,1	28,5	1,1	12,5			
	R ²	0,98	0,99	0,91	-	-	0,76	0,35	0,99	0,63	0,99	0,97			

^a A estos valores de pH no se observaron cambios significativos ($P>0,05$) en la concentración de plaguicidas por lo que se considera que en el periodo de tiempo estudiado no se produjo hidrólisis química de las sulfonilureas.

discontinuidad para cada herbicida coincide con el valor de pK_a de cada uno de ellos (3,60; 5,20 y 3,76 para clorsulfurón, bensulfurón y prosulfurón, respectivamente) pone de manifiesto que la variación en la pendiente de las curvas se debe a diferencias en cuanto a la reactividad con las moléculas de agua de las formas neutra y disociada de estos herbicidas (Sarmah y Sabadie, 2002). Así la tasa de degradación para todos los herbicidas fue mayor a valores de pH inferiores al pK_a de la molécula (predominio de la forma neutra frente a la disociada).

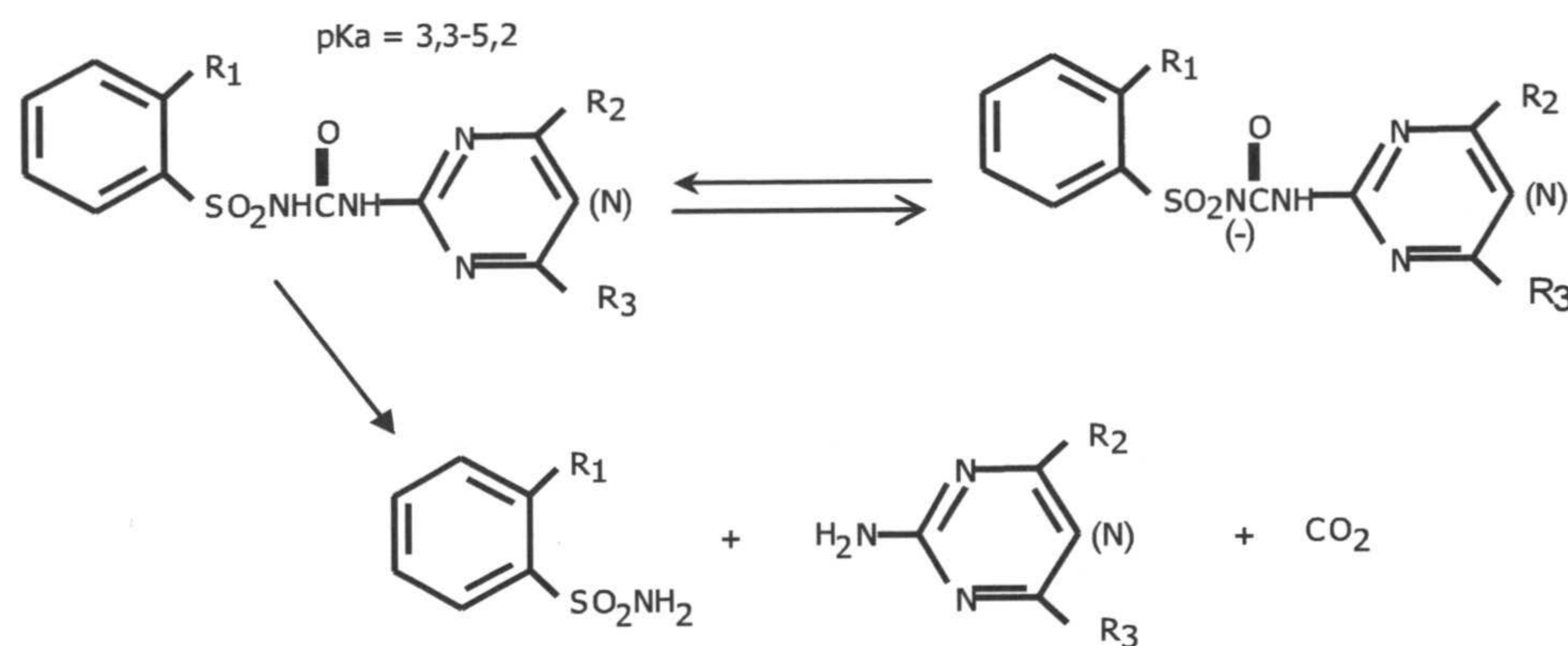


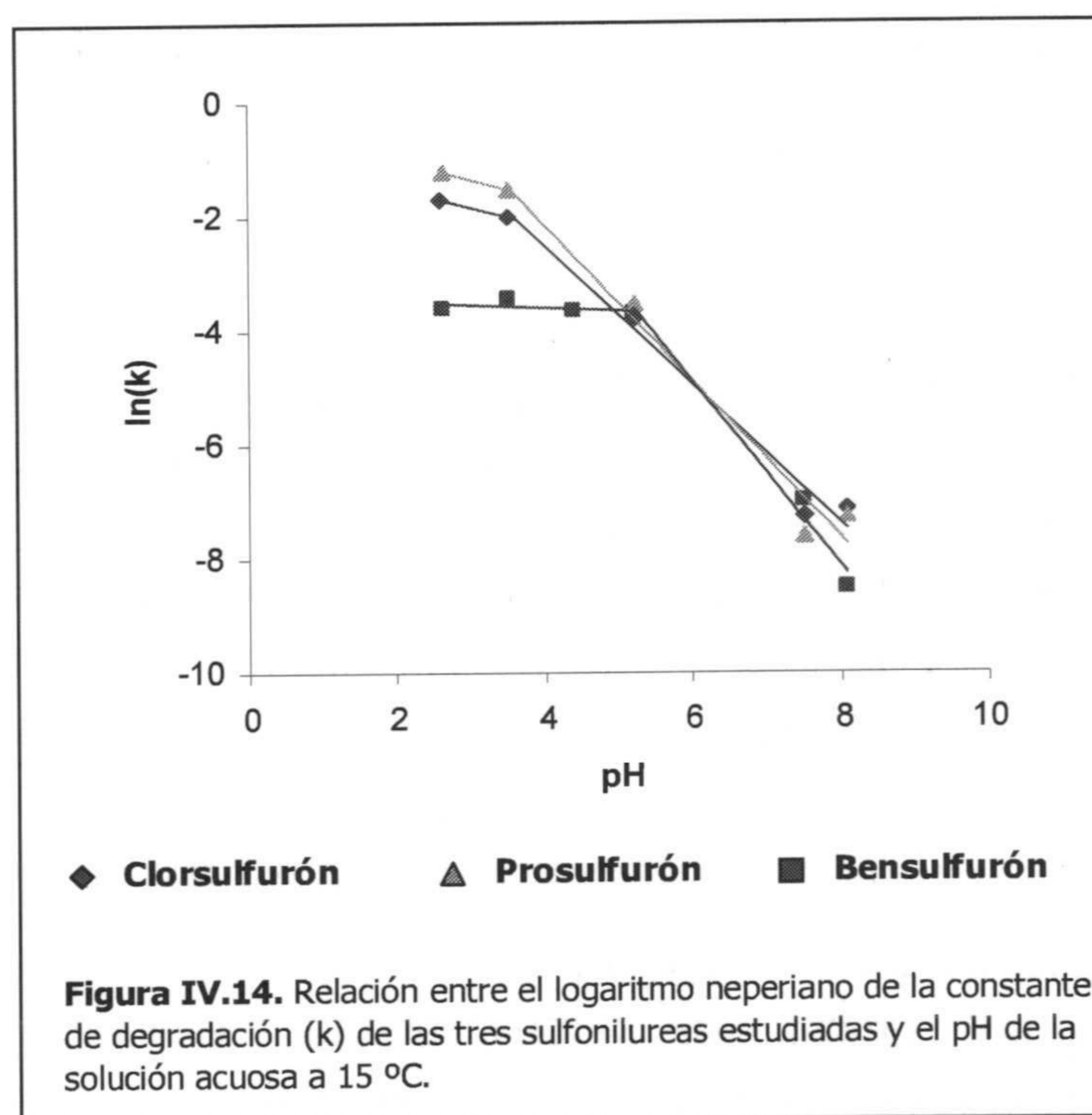
Figura IV.13. Ionización e hidrólisis de herbicidas sulfonilureicos.

La Figura IV.14 muestra un comportamiento parecido para clorsulfurón y prosulfurón en todo el rango de pH estudiado, lo que se corresponde con similares valores de pK_a para estos dos compuestos. La tasa de degradación a pH inferior a 3,6 fue menor para bensulfurón que para el resto de herbicidas estudiados (Tabla IV.6), por lo que la degradación de la forma neutra de prosulfurón y clorsulfurón fue más rápida que la de bensulfurón metilo. Sin embargo, a pH superior a 5,2 la forma aniónica predominó sobre la neutra para todos los compuestos, observándose un comportamiento similar para los tres plaguicidas (Figura IV.14). Estos resultados demuestran que herbicidas pertenecientes a una misma clase pueden comportarse de forma diferente en lo que respecta a la degradación y disipación en agua, como consecuencia de sus diferencias estructurales (Tabla II.1).

Cuando el tiempo de incubación fue corto (< 8 h), no se observó degradación de BSM a pH ácido. Lo mismo ocurre para CLR y PROS a $pH\ 5,2 \pm 0,1$, mientras que a $pH\ 2,6 \pm 0,1$, trascurridas 6 h de incubación, la cantidad de plaguicida se redujo un 10% y un 7% para CLR y PROS, respectivamente. A $pH\ 3,5 \pm 0,1$ se observó una disminución de un 4% y un 5% de la cantidad inicial de CLR y PROS, respectivamente, tras 6 h de incubación.

La temperatura también influye de forma importante en la hidrólisis de los herbicidas sulfonilureicos (Tabla IV.6). En soluciones a pH 3,6, el tiempo de vida media para bensulfurón metilo se redujo desde 48 días a 5 °C hasta 9 días a 25 °C, y para clorsulfurón y prosulfurón disminuyó desde 12 y 7 días respectivamente a 5 °C a aproximadamente 1 día para ambos

compuestos a 25 °C (Tabla IV.6). Dinelli et al. (1997) encuentran tiempos de vida media para prosulfurón de 1,73 días a pH 3 y temperatura de 25 °C. A estos valores de pH y temperatura, Sarmah et al. (2002) establecen un tiempo de vida media de 1 día para clorsulfurón. En soluciones a pH 5,5, la hidrólisis de las tres sulfonilureas es lenta a 5 °C y 15 °C y aumenta a 25°C, siendo la degradación más rápida para BSM que para CLR y PROS (Tabla IV.6) debido a que los últimos se encuentran completamente disociados a este valor de pH. Velocidades tan grandes de degradación en las condiciones de inyección (pH de la muestra 3,5 y T ambiente 25 °C) justifican que las muestras obtenidas en los ensayos de adsorción-desorción, se conservaran a 5 °C y se acidificaran justo antes de su inyección en el cromatógrafo líquido (apartado III.3.1.1), donde permanecieron el tiempo necesario para su inyección (aproximadamente 2 min).



En resumen, el pH y la temperatura influyen en la tasa de hidrólisis, en medio acuoso, de los herbicidas sulfonilureicos. Así, desde un punto de vista ambiental, si consideramos que las aguas subterráneas generalmente se encuentran a temperaturas entre 10 y 15 °C y valores de pH entre 6,5 y 7,5 (Chang et al., 1987; Smith, 1990, en Dinelli et al., 1997), las sulfonilureas estudiadas sufrirán una degradación relativamente lenta en este medio, en caso de alcanzarlo, representando un problema potencial en la contaminación de las aguas.

3.2.2. EXTRACCIÓN DE TRIAZINAS EN SUELO

Las sulfonilureas han sido extraídas del suelo usando distintos procedimientos como agitación con disolventes orgánicos (Bernal et al., 1997), mezclas con una alta proporción de disolventes orgánicos o soluciones acuosas a pH controlado (9-10) debido a la fácil hidrólisis de estos compuestos (Zahnow, 1982, Bernal et al., 1997). Bernal et al. (1997) estudian la extracción de clorsulfurón y tribenurón con CO₂ supercrítico obteniendo recuperaciones un 10% más altas que con la extracción con disolventes orgánicos o con una solución acuosa a pH 9,5. La sonicación con disolventes orgánicos, mezclas de soluciones acuosas con disolventes orgánicos o soluciones acuosas a pH controlado (Smith, 1995) es otra de las técnicas usadas. Asimismo, la purificación de las muestras también se puede realizar de distintas formas. Zahnow (1982) usa cloroformo para la purificación de soluciones acuosas de clorsulfurón. La extracción en fase sólida es una técnica ampliamente aplicada para la purificación de muestras de agua y suelo usando rellenos de diferente naturaleza, C18 (Hogendoor et al., 1999), rellenos poliméricos (Young, 1998), o columnas Florisil (Smith, 1995), entre otros.

Todos los procedimientos mencionados anteriormente, permiten obtener recuperaciones aceptables de los herbicidas sulfoniluréticos en muestras de suelo. Sin embargo, pocas referencias existen cuando al suelo se adicionan enmiendas orgánicas. En este caso las técnicas de purificación se complican y en ocasiones resulta difícil alcanzar un buen acuerdo entre la recuperación y la eliminación de interferencias de la matriz del suelo, principalmente cuando la determinación analítica se realiza por HPLC y cuando el detector empleado es DAD. El suelo de la vega enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo presenta este inconveniente, de ahí que se probaran varios métodos de extracción y varios disolventes (Tabla IV-7).

A modo de conclusión de lo expuesto en la Tabla IV.7 podemos decir:

- ✓ La recuperación de sulfonilureas cuando la extracción se realiza con CH₂Cl₂:CH₃OH (90:10) o CH₂Cl₂:CH₃OH: NH₄OH (1M) (4:15:1) es similar, sin embargo la segunda mezcla de disolventes no coextrae tantas impurezas como la primera.
- ✓ El empleo de la solución extractante KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (pH 7) no da buenos resultados ya que coextrae muchas impurezas y es muy difícil purificar la muestra. Las recuperaciones son muy bajas, tan sólo añadiendo EDTA al extracto antes de pasar por el cartucho C18 conseguimos recuperaciones entre 50 y 70% para todos los plaguicidas en S, SV y SC. Las muestras de SA contienen muchas impurezas por lo que resulta difícil identificar los picos de los analitos en los cromatogramas o las recuperaciones son muy bajas.

Tabla IV.7. Métodos probados para la extracción de sulfonilureas en suelo.

REFERENCIAS	Nº	DISOLVENTE (mL)	SUELO (g)	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS
Smith (1995)	1	20 CH₂Cl₂:CH₃OH (90:10)	10	Sonicación 15 min. Filtrado. Concentración en rotavapor a 30°C. Redisolución en H ₂ O:CH ₃ CN (90:10)	Cromatogramas con muchas impurezas. Recuperación <50% para los tres herbicidas. Para SA no se recuperan BSM y PROS.
Galletti et al. (1995)	2	20 CH₂Cl₂:CH₃OH: NH₄OH (1M) (4:15:1)	5	Sonicación 15 min. Filtrado. Concentración en rotavapor 30°C. Redisolución H ₂ O milliQ Sonicación 15 min. Filtrado. Repetición extracción. Concentración en rotavapor a 30°C. Redisolución en H ₂ O milliQ.	Cromatogramas más limpios que en el caso anterior. Recuperación <50% para los tres herbicidas. Para SA no se recupera ninguno de los herbicidas. Los resultados no varían respecto al mismo ensayo extrayendo una sola vez.
Menne et al. (1999)	3	100 KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (pH 7)	50	Agitación 1h. Centrifugación (3000 rpm, 15 min, 15 °C). Repetición extracción. Extracto + HCl (1M) hasta pH 2,5. Centrifugación (3000 rpm, 15 min, 15 °C) para eliminar ácidos húmicos. SPE (C18) . Elución en metanol. Concentración en corriente de N. Redisolución en CH ₃ OH: H ₂ O (60:40)	Los tiempos de concentración en corriente de N son muy altos (2 h). Para S recuperaciones de aprox. 100% para CLR y PROS; para BSM <40%. Para SV, SC y SA se obtienen cromatogramas con interferencias y las recuperaciones son bajas para los tres plaguicidas.
Tan (2003)	4	100 KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (pH 7)	50	Empleo de EDTA 0,25M para solubilizar la materia húmica. Adición de EDTA al extracto obtenido en el ensayo anterior antes de su paso por el cartucho C18.	Los tiempos de concentración en corriente de N son muy altos (2 h). Cromatogramas más limpios que en el caso anterior. Recuperaciones entre 50 y 75% para todos los herbicidas en S, SC y SV. Sin embargo sólo se recupera BSM en SA.

Tabla IV.7. Métodos probados para la extracción de sulfonilureas en suelo (continuación).

REFERENCIAS	Nº	DISOLVENTE (mL)	SUELO (g)	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS
Pichon (2000)	5	100 KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (pH 7)	50	Repetición del proceso descrito en el ensayo Nº 3 pero esta vez el extracto en metanol obtenido por elución de la columna C18 lo pasamos por una columna Florisil . Se recoge lo que pasa por el cartucho y se concentra en corriente de N. Redisolución en CH ₃ CN: H ₂ O (40:60)	El tiempo de concentración en corriente de N es muy alto (aprox. 3 h). Los cromatogramas presentan menos interferencias de la matriz. Las recuperaciones son más bajas que en el ensayo Nº4.
Pichon (2000)	6	100 KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (pH 7)	25	Repetimos el ensayo Nº3 pero con modificaciones. Agitación 1h. Centrifugación. Repetición extracción. Filtración. SPE con cartuchos SDB . Redisolución con CH ₃ OH. Concentración en corriente de N. Redisolución en CH ₃ CN: H ₂ O (40:60)	El tiempo de concentración en corriente de N es muy alto (aprox. 2 h). Recuperaciones bajas, 5- 15%, 35- 60%, 5- 10%, para S, SV y SC, respectivamente. No se distinguen los picos de los analitos en las muestras de SA.
Bernal et al. (1997)	7	30 CH₃CN	10	Sonicación 15 min. Centrifugación (3000 rpm, 15 °C, 15 min). Repetición extracción. Filtración. Concentración en rotavapor hasta casi sequedad a 30°C. Redisolución en acetato de etilo. Concentración en corriente de N. Redisolución en CH ₃ CN: H ₂ O (40:60)	El tiempo de concentración en corriente de N disminuye (aprox. 30 min). Los cromatogramas presentan menos interferencias que en ensayos anteriores. Recuperaciones de 80, 60 y 57% aprox., para CLR, PROS y BSM, respectivamente en S, SV y SC. Para SA, obtenemos recuperaciones entre 40 y 50% para todos los herbicidas. Gran variabilidad entre muestras.

- ✓ La presencia de impurezas en las muestras hace que los tiempos de concentración en corriente de N sean elevados lo que invalida este proceso por la posible descomposición de los herbicidas, a pesar de que para disminuir las pérdidas por descomposición a las muestras se le añade 50 μL de $\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4^+$ (4:1).
- ✓ En el ensayo N° 7 las recuperaciones son aceptables y obtenemos muestras relativamente limpias pero los resultados son muy variables lo que induce a simplificar y optimizar este método.

El procedimiento de extracción de sulfonilureas empleado en suelo de la vega sin enmendar y enmendado con subproductos de la agroindustria del olivar (apartado IV.3.1.2), es sencillo, no requiere mucho tiempo, ni manipulación de la muestra y las recuperaciones son altas (tabla IV.8). No se observaron pérdidas por descomposición de los plaguicidas durante el proceso de concentración en rotavapor.

Tabla IV.8. Recuperación del método de extracción de sulfonilureas en suelo.

	% RECUPERACIÓN		
	CLR	BSM	PRS
S	87 \pm 3	78 \pm 2	86 \pm 2
SV	80 \pm 4	81 \pm 5	92 \pm 2
SC	80 \pm 5	87 \pm 3	95 \pm 4
SA	81 \pm 8	73 \pm 5	76 \pm 5

Las recuperaciones obtenidas son similares a las encontradas por otros autores. Así, Powley y de Bernard (1998) establecen recuperaciones entre 70 y 120 % para distintas sulfonilureas en suelo extrayendo con una mezcla de carbonato amónico 0,1 M: acetona (80:20) y purificando por SPE con cartuchos C18. Zahnow (1982) consigue recuperaciones de 80% para CLR cuando extrae con un tampón $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaHCO}_3$ 0,1M (pH10), mientras que Bernal et al. (1997) obtienen recuperaciones de 71% para este mismo plaguicida cuando extraen con acetonitrilo y de 86% cuando lo hacen con una solución tampón $\text{PO}_4^{-3}:\text{HPO}_4^{-2}$, 0,1 M (pH 9,5).

3.2.3. ACTIVIDAD DESHIDROGENASA

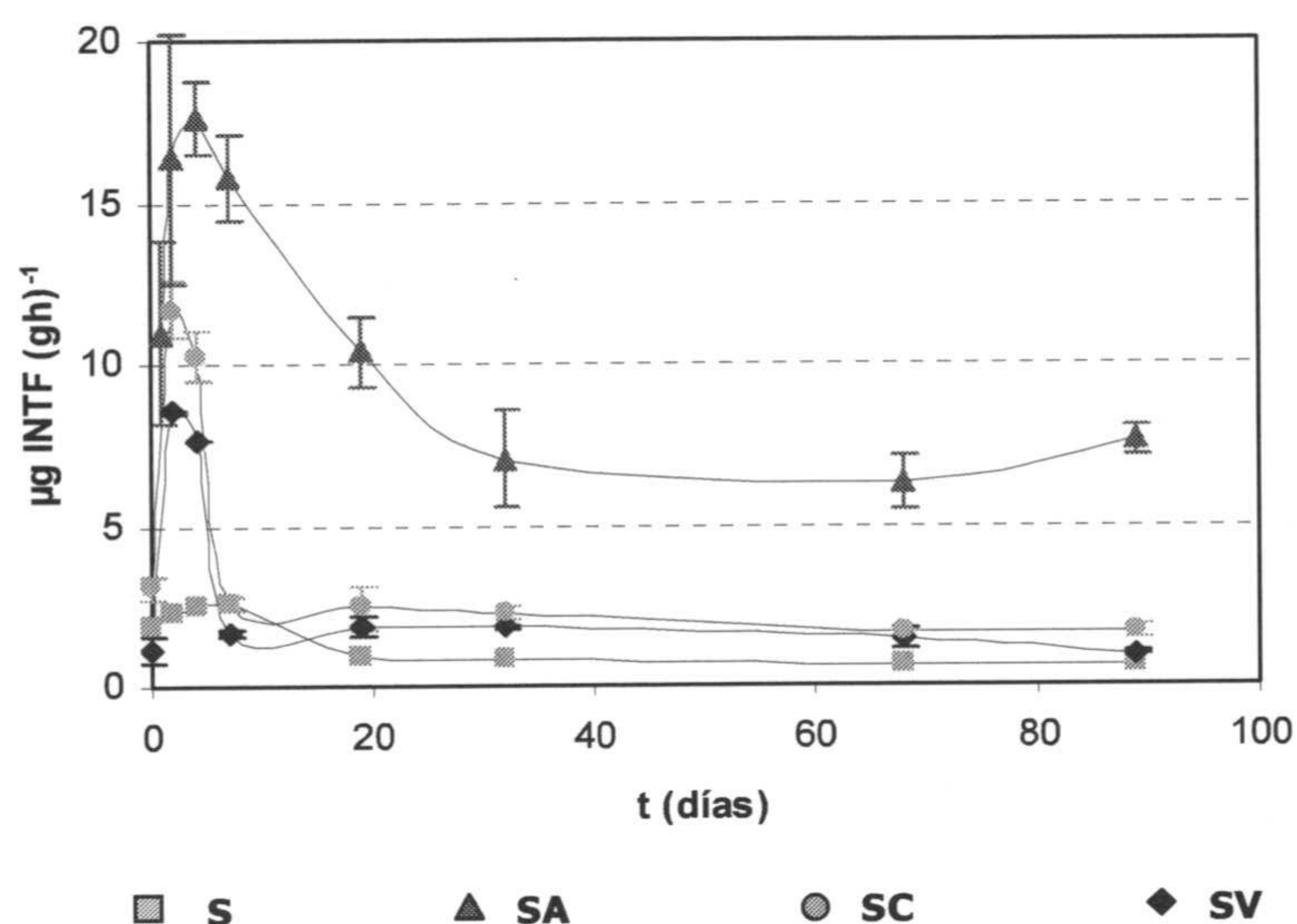


Figura IV.15. Actividad deshidrogenada en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost (SV). Las barras verticales expresan la desviación estándar en cada una de las determinaciones.

En la Figura IV.15 se representan las curvas de actividad deshidrogenasa de las distintas muestras de suelo de vega no estéril durante el periodo de incubación.

Al igual que ocurrió en el suelo de olivar, la actividad deshidrogenasa en la primera semana de incubación fue mayor en suelo enmendado que en suelo sin enmendar. En el caso de suelos enmendados la mayor actividad microbiana la presentó el suelo con alperujo seguido del suelo enmendado con compost y vermicompost.

A partir de 7 d de incubación no se observaron diferencias en la actividad deshidrogenasa del suelo sin enmendar y del enmendado con compost y vermicompost, posiblemente debido a la similitud composicional de los tres sustratos, lo que refleja, como se mencionó en el capítulo II, que la materia orgánica del compost y vermicompost está muy humificada y es similar a la encontrada en el suelo. Sin embargo, el mayor aumento de actividad deshidrogenasa en el suelo enmendado con compost y vermicompost respecto al suelo sin enmendar durante los primeros días de incubación indicaría la presencia de poblaciones microbianas distintas, posiblemente aportadas por las enmiendas, con mayor capacidad para la degradación de nuevos compuestos incorporados al suelo y de fácil degradación, tales como los herbicidas sulfoniluréticos.

Los valores de actividad deshidrogenasa en el suelo enmendado con alperujo fueron mayores que los obtenidos para el resto de sustratos. El valor máximo de actividad microbiana se alcanzó en los primeros días de incubación, al igual que ocurre con el resto de tratamientos. Sin embargo, después de la primera semana de incubación, la actividad deshidrogenasa en el

suelo enmendado con alperujo fue entre 4 y 5 veces superior a la del resto de sustratos. Esta mayor actividad microbiana podría asociarse a la degradación de compuestos orgánicos aportados por la propia enmienda, como ya se indicó en el suelo de olivar (apartado IV.2.2.2).

3.2.4. DEGRADACIÓN SULFONILUREAS

Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación exponencial de primer orden ($R^2 > 0,90$ en todos los casos, excepto en dos). Los parámetros del ajuste obtenidos por regresión lineal y los valores de $t_{1/2}$ se recogen en la Tabla IV.9 para clorsulfurón y prosulfurón y IV.10 para bensulfurón.

Al igual que ocurría con los herbicidas triazínicos, la concentración de sulfonilureas en suelo disminuyó con el tiempo de incubación.

Para facilitar la comprensión los resultados se organizarán del mismo modo que se hizo en el caso de las triazinas, es decir, se compara el comportamiento de las distintas sulfonilureas en suelo de vega sin enmendar y se establece el efecto que la aplicación de las distintas enmiendas tiene sobre la degradación de los herbicidas sulfoniluréticos.

3.2.3.a) DEGRADACIÓN DE SULFONILUREAS EN SUELO DE VEGA SIN ENMENDAR

La comparación de la pendiente (k) de las curvas de degradación de los herbicidas sulfoniluréticos en suelo de vega sin enmendar y no estéril (Tablas IV.9 y IV.10) indica la mayor degradación de bensulfurón frente a clorsulfurón y prosulfurón, los cuales presentan valores de k similares.

Este comportamiento se observa también en la Figura IV.16. La concentración de bensulfurón disminuyó de forma más pronunciada en las primeras semanas de incubación, mientras que las de clorsulfurón y prosulfurón permanecieron prácticamente constante durante los primeros 14 días.

Al final del periodo de incubación (98 d) la concentración que permanece en el suelo fue de 49% y 45% para clorsulfurón y prosulfurón, respectivamente y 18% para bensulfurón.

Tabla IV.9. Parámetros obtenidos del ajuste de distintos modelos matemáticos a los datos de degradación de clorsulfurón y prosulfurón en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV).

	ECUACIÓN EXPONENCIAL				ECUACIÓN DE HOERL			
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	$a \pm de^a$	$-b \times 10^2 \pm de^a$	$-c \times 10^2 \pm de^a$	R^2
CLORSULFURÓN								
S	106,79 ± 5,81	0,76 ± 0,05*	91,14	0,94	106,10 ± 7,02	0,79 ± 0,09	-0,70 ± 1,66	0,94
S _{est}	90,74 ± 7,33	0,89 ± 0,08	77,99	0,89	99,99 ± 8,65	0,91 ± 0,13	-0,44 ± 1,97	0,89
SA	89,42 ± 3,19	0,83 ± 0,03*	83,10	0,96	91,86 ± 3,63	0,71 ± 0,05	2,50 ± 0,94	0,97
SA _{est}	95,48 ± 7,01	0,98 ± 0,06	70,64	0,92	97,05 ± 7,85	0,90 ± 0,09	1,57 ± 1,45	0,93
SC	95,11 ± 5,18	0,74 ± 0,05*	93,71	0,90	100,11 ± 7,30	0,70 ± 0,08	0,99 ± 1,57	0,90
SC _{est}	100,40 ± 5,02	0,73 ± 0,03	94,62	0,95	100,32 ± 5,27	0,74 ± 0,07	-0,16 ± 0,98	0,94
SV	100,25 ± 5,28	0,84 ± 0,05*	82,63	0,93	95,42 ± 5,76	0,81 ± 0,08	-0,51 ± 1,35	0,94
SV _{est}	98,10 ± 5,56	0,92 ± 0,05	74,90	0,95	98,71 ± 6,12	0,89 ± 0,08	0,79 ± 1,27	0,95
PROSULFURÓN								
S	101,88 ± 5,07	0,82 ± 0,05*	84,38	0,94	101,80 ± 4,80	0,93 ± 0,07	-1,77 ± 1,00	0,95
S _{est}	97,35 ± 4,44	0,93 ± 0,05	74,21	0,96	98,55 ± 4,78	0,85 ± 0,07	1,48 ± 1,03	0,96
SA	98,25 ± 5,64	0,80 ± 0,05*	86,24	0,93	96,45 ± 6,68	0,88 ± 0,09	-1,69 ± 1,55	0,93
SA _{est}	100,33 ± 5,82	0,91 ± 0,06	76,20	0,93	100,33 ± 6,37	0,91 ± 0,10	-0,01 ± 1,34	0,94
SC	97,55 ± 2,43	0,72 ± 0,02*	95,56	0,98	97,58 ± 3,26	0,72 ± 0,04	0,02 ± 0,67	0,98
SC _{est}	97,74 ± 6,08	0,66 ± 0,05	105,02	0,90	98,91 ± 5,71	4,87 ± 0,08	0,57 ± 1,15	0,89
SV	109,57 ± 6,32	0,95 ± 0,06*	72,67	0,96	105,35 ± 6,08	0,95 ± 0,06	-2,89 ± 1,11	0,96
SV _{est}	93,19 ± 5,15	0,80 ± 0,04	86,13	0,94	95,07 ± 4,80	0,69 ± 0,07	2,55 ± 1,06	0,96

^a Desviación estándar (n=2). *,+ Símbolos iguales indican que no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en el valor de k para esos sustratos.

Tabla IV.10. Parámetros obtenidos del ajuste de distintos modelos matemáticos a los datos de degradación de bensulfurón en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost de alperujo (SV).

	ECUACIÓN EXPONENCIAL				ECUACIÓN DE HOERL			
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2	$a \pm de^a$	$-b \times 10^2 \pm de^a$	$-c \times 10^2 \pm de^a$	R^2
BENSULFURÓN								
S	85,91 ± 7,30	1,96 ± 0,08*	35,40	0,95	88,28 ± 6,22	1,58 ± 0,08	6,64 ± 1,60	0,97
S _{est}	90,74 ± 7,33	1,42 ± 0,07	48,62	0,95	93,39 ± 6,80	1,18 ± 0,11	4,38 ± 1,55	0,96
SA	85,71 ± 8,93	2,23 ± 0,08*	31,05	0,96	85,08 ± 11,31	2,25 ± 0,15	-6,15 ± 2,94	0,96
SA _{est}	90,18 ± 12,75	1,23 ± 0,13	54,34	0,85	93,48 ± 13,71	1,03 ± 0,20	4,78 ± 3,15	0,86
SC	71,73 ± 12,43	2,57 ± 0,15 ⁺	26,90	0,90	83,24 ± 17,53	2,04 ± 0,26	12,08 ± 4,83	0,92
SC _{est}	94,05 ± 7,35	1,15 ± 0,06	60,01	0,95	93,08 ± 8,21	0,98 ± 0,12	2,53 ± 1,78	0,93
SV	76,96 ± 10,22	2,72 ± 0,11 ⁺	25,44	0,95	84,55 ± 14,06	2,38 ± 0,20	7,69 ± 3,83	0,95
SV _{est}	87,86 ± 7,40	1,37 ± 0,07	50,67	0,95	97,79 ± 6,72	1,11 ± 0,09	5,18 ± 1,47	0,97

^a Desviación estándar (n=2). *,⁺ Símbolos iguales indican que no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en el valor de k para esos sustratos.

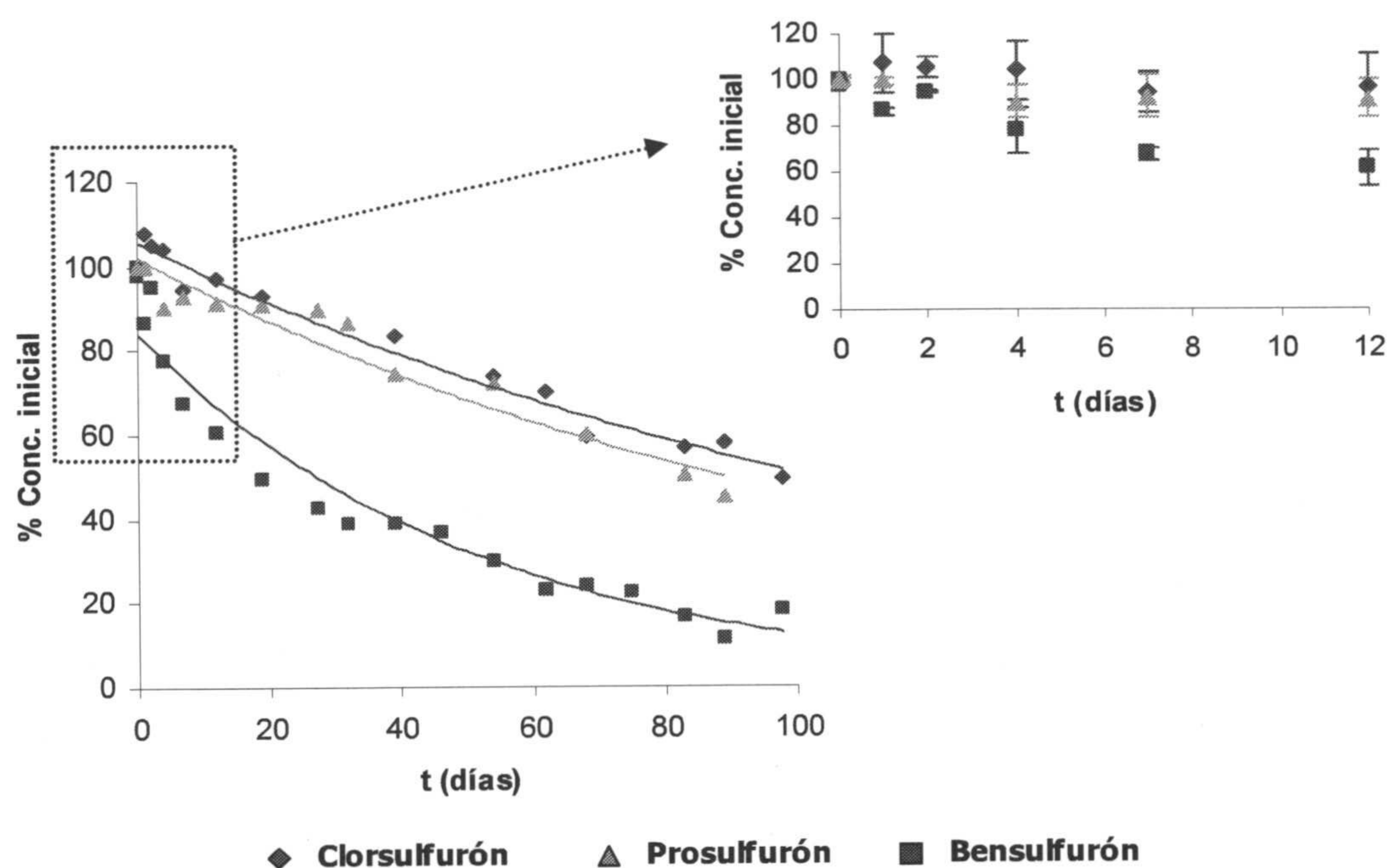


Figura IV.16. Curvas de degradación de herbicidas sulfonilureicos en suelo de vega sin enmendar.

3.2.3.b) EFECTO DE LAS ENMIENDAS EN SUELOS NO ESTÉRILES

Las Figuras IV.17 para clorsulfurón y prosulfurón y IV.18 para bensulfurón representan el porcentaje de herbicida extraído en el suelo frente al tiempo de incubación, para cada herbicida sulfonilureico en suelo de vega sin enmendar y enmendado con alperujo, compost y vermicompost de alperujo. Junto con los valores experimentales se muestra la representación gráfica de la curva ajustada a la forma lineal de la ecuación exponencial de primer orden.

La concentración de clorsulfurón y prosulfurón en suelos enmendados al final del periodo de degradación (98 d) no difiere de la encontrada en el suelo sin enmendar ($P > 0,66$). Tampoco se observan diferencias significativas ($P > 0,66$) en los valores de concentración a los 98 d de incubación, entre los suelos enmendados (Figura IV.17).

En el caso de bensulfurón, su concentración en suelo sin enmendar al final del periodo de incubación, aproximadamente 18%, sí difiere significativamente ($P = 0,0035$) de la encontrada en los suelos enmendados que está entre 6 y 9%. Además no se encuentran diferencias significativas ($P = 0,1836$) al final del periodo de incubación en los valores de concentración de bensulfurón entre los suelos enmendados (Figura IV.18).

Al igual que se hizo para los herbicidas triazínicos, se compararon las curvas de degradación de cada plaguicida sulfonilureico en los distintos substratos con objeto de

encontrar diferencias en cuanto al comportamiento de cada compuesto frente a la degradación, inducidas por la adición de enmiendas.

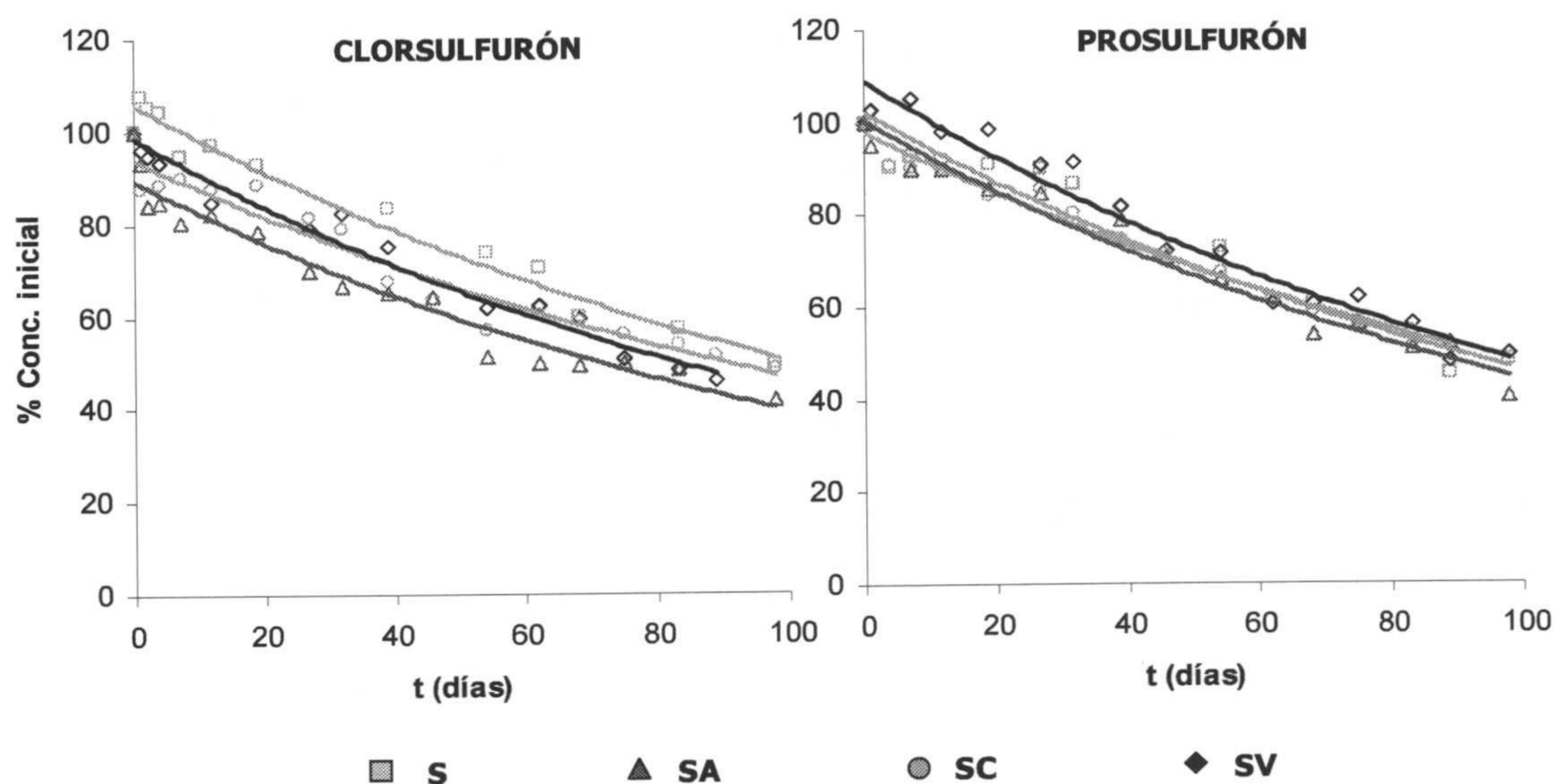


Figura IV.17. Degradación de clorsulfurón y prosulfurón en suelo sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost (SV) de alperujo. Datos experimentales ajustados al modelo exponencial.

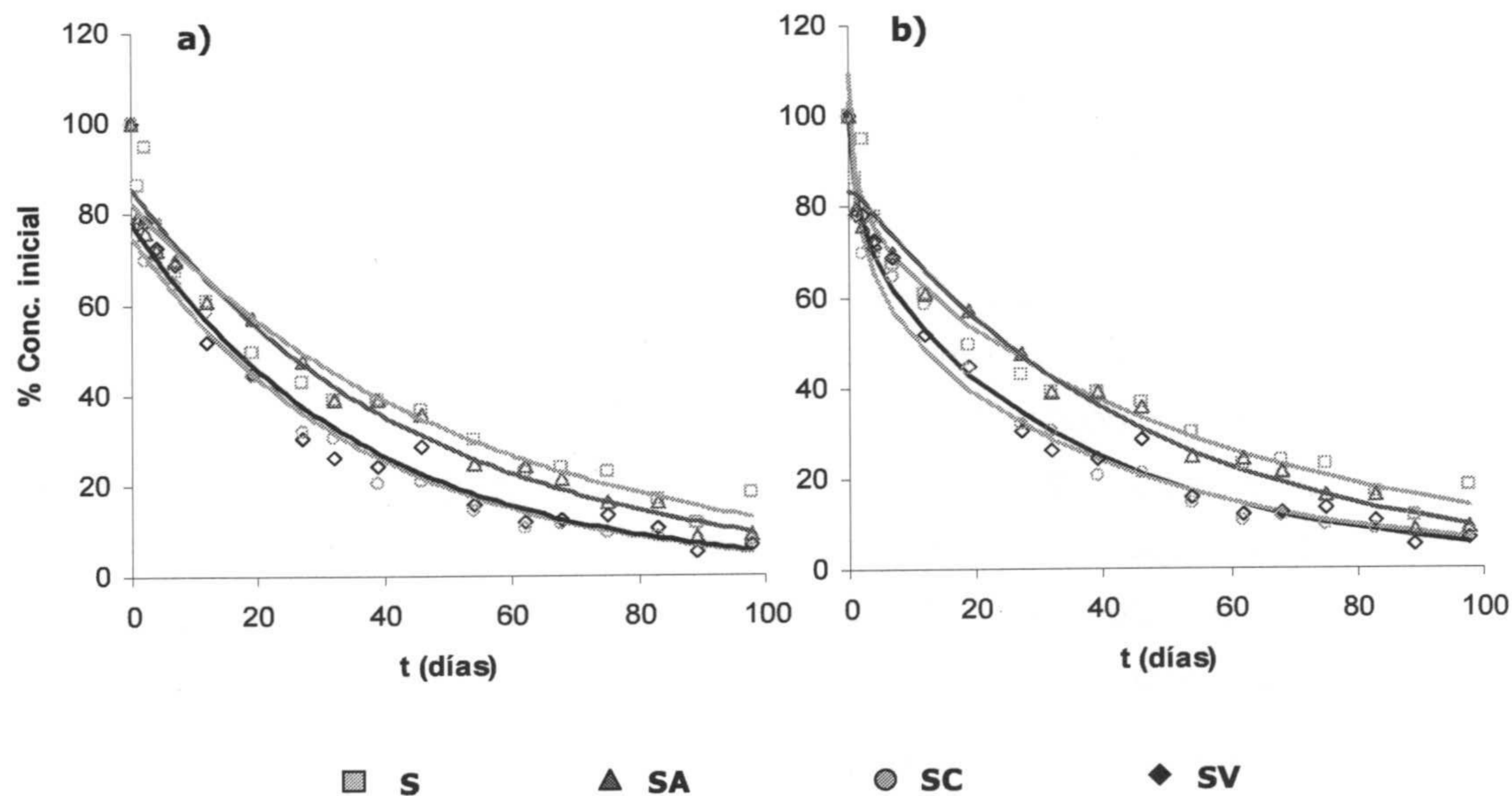


Figura IV.18. Degradación de bensulfurón en suelo sin enmendar (S) y enmendado con alperujo (SA), compost (SC) y vermicompost (SV) de alperujo. Datos experimentales ajustados a) al modelo exponencial; b) al modelo de Hoerl.

En las Tablas IV.9 y IV.10 se presentan para cada plaguicida y para cada suelo los valores de la velocidad de degradación (k) obtenidos por el ajuste de los datos experimentales a una ecuación cinética de primer orden.

Para clorsulfurón y prosulfurón la comparación de las curvas de degradación no mostró diferencias significativas entre los valores de k obtenidos en suelos enmendados respecto al suelo sin enmendar. Esto indica que, en las condiciones empleadas, la degradación de estos dos compuestos en suelo de la vega no se ve afectada por la adición de las enmiendas empleadas en este estudio.

Por su parte, la comparación de las curvas de degradación de bensulfurón muestra la existencia de diferentes comportamientos. Así, se observa que la adición de alperujo al suelo de vega no supuso cambios significativos en la pendiente de la curva de degradación respecto al suelo sin enmendar. Sin embargo, la adición de compost y vermicompost al suelo incrementó ligeramente pero de forma significativa los valores de k.

3.2.3.c) EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS EN SUELOS ESTÉRILES

En la Figuras IV.19 y IV.20 se muestran los puntos experimentales junto con la curva ajustada al modelo exponencial para muestras estériles y no estériles. Los parámetros de la ecuación exponencial se recogen en las Tablas IV.9 y IV.10.

El análisis de la concentración de cada plaguicida a lo largo del periodo de incubación y de la pendiente de la curva de degradación de muestras estériles y no estériles muestran que:

- ✓ Clorsulfurón y prosulfurón se degradaron del mismo modo en muestras estériles y no estériles. No existen diferencias significativas ($P > 0,05$) en los valores de concentración a lo largo de todo el periodo de incubación, ni tampoco en los valores de k de muestras estériles y no estériles para todos los sustratos empleados.
- ✓ Bensulfurón presentó mayor degradación en muestras no estériles que estériles. Los valores de k fueron menores y la concentración de plaguicida mayor, durante todo el tiempo de incubación en muestras estériles que en las no estériles. Al final del periodo de incubación la concentración de bensulfurón en muestras estériles fue entre 1,5 y 5 veces superior a la obtenida en muestras no estériles. Las mayores diferencias de concentración las encontramos en los suelos enmendados con compost y vermicompost.

Hay que señalar que la esterilización de las muestras no produjo cambios significativos ($P > 0,05$) en el pH de los suelos.

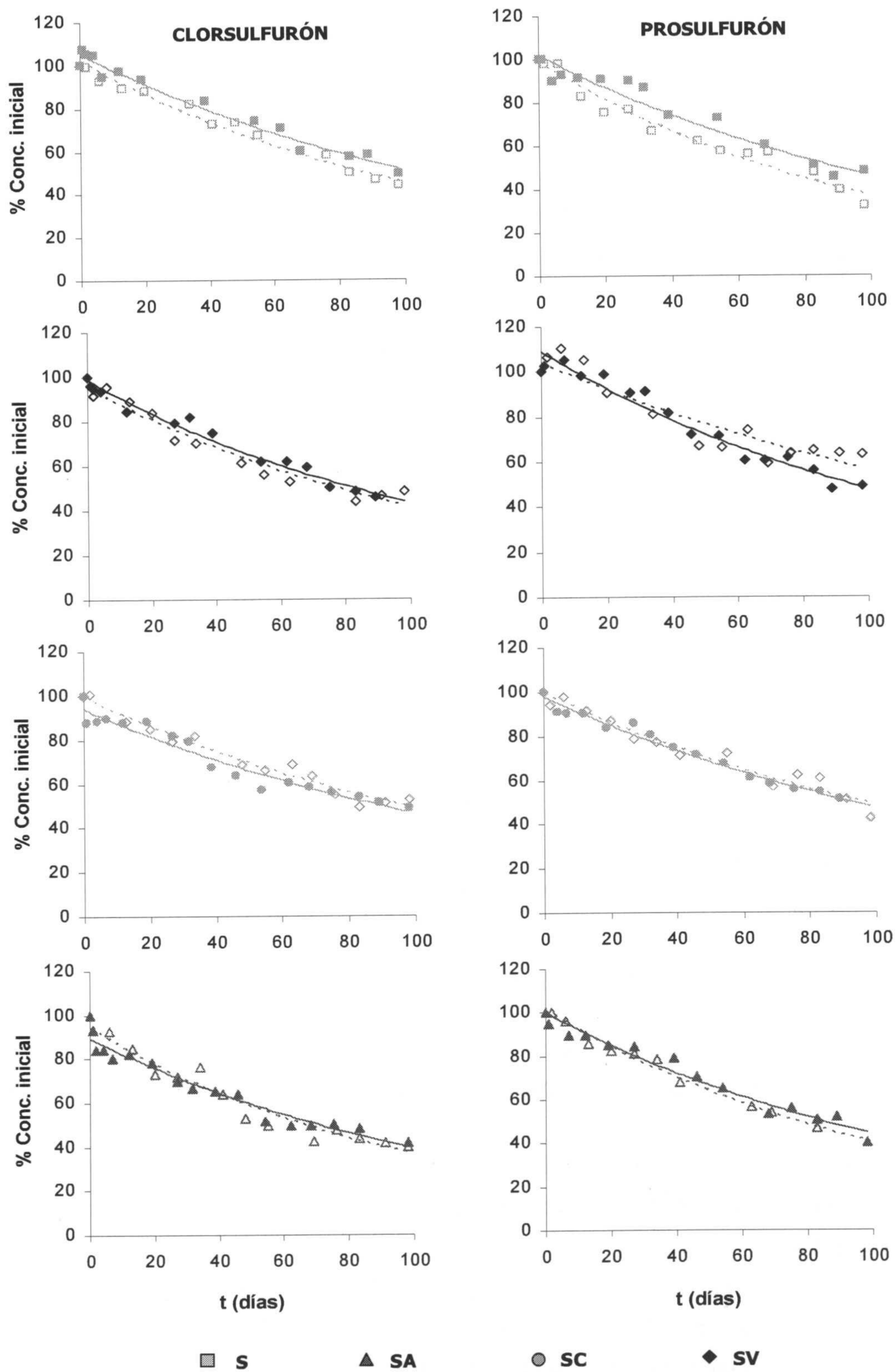


Figura IV.19. Comparación entre la degradación de clorsulfurón y prosulfurón en muestras estériles (símbolo vacío) y no estériles (símbolo relleno). Datos experimentales ajustados al modelo exponencial.

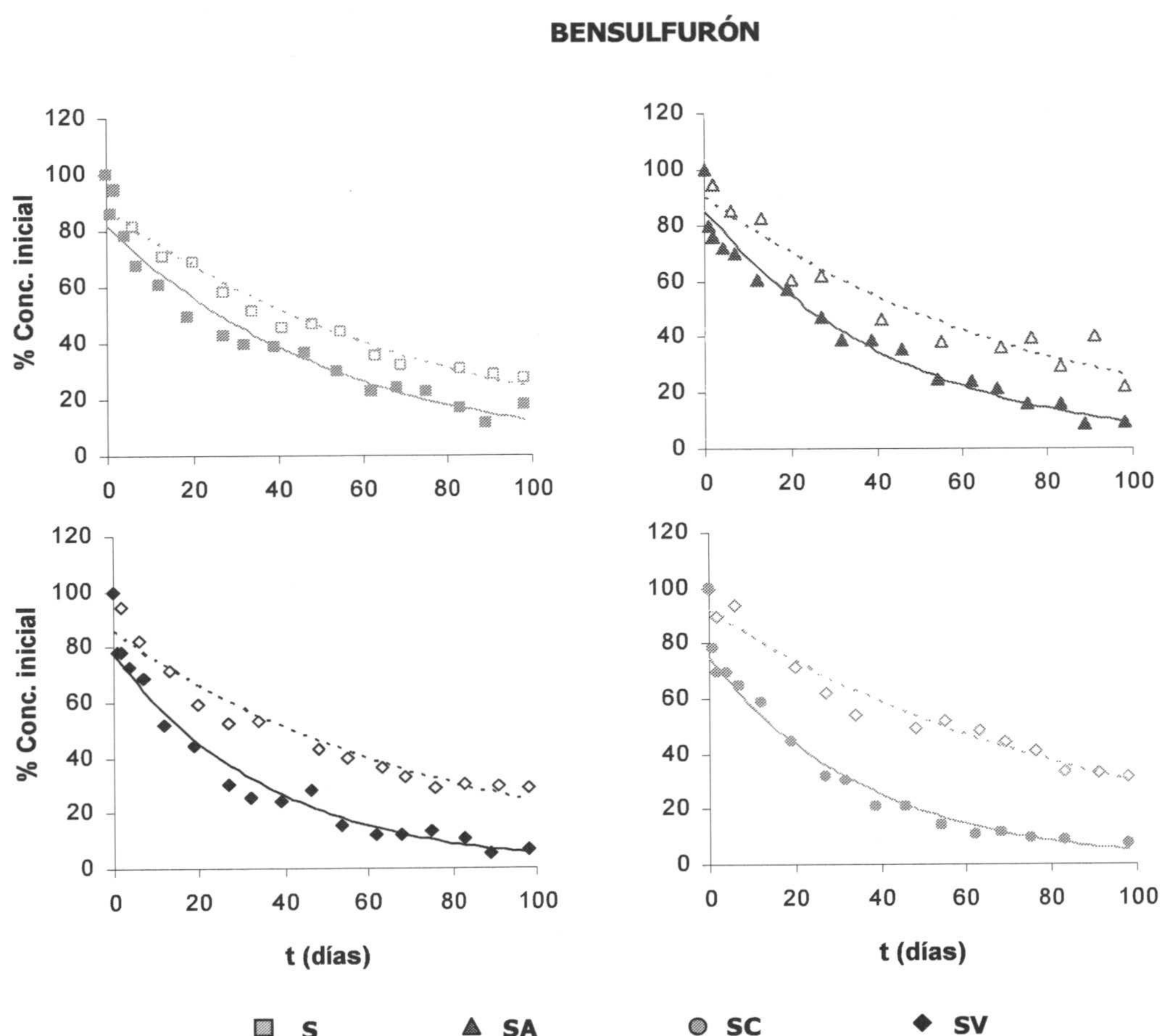


Figura IV.20. Comparación entre la degradación de bensulfurón en muestras estériles (símbolo vacío) y no estériles (símbolo relleno). Datos experimentales ajustados al modelo exponencial.

3.2.3. d) DEGRADACIÓN DE CLORSULFURÓN

Los resultados obtenidos para CLR y PRS en los que se apunta a la ausencia de degradación microbiana nos impulsaron a comprobar si la presencia conjunta de los tres herbicidas podría tener una influencia en los procesos degradativos implicados, mediante fenómenos de competencia o inhibición. Por ello, se realizaron ensayos de incubación de CLR en suelo y suelo enmendado con compost sin la presencia simultánea de los otros dos herbicidas.

La Figura IV.21 representa los datos experimentales junto con las curvas de degradación de clorsulfurón, en suelo sin enmendar y enmendado con compost, cuando se adiciona solo o conjuntamente con prosulfurón y bensulfurón.

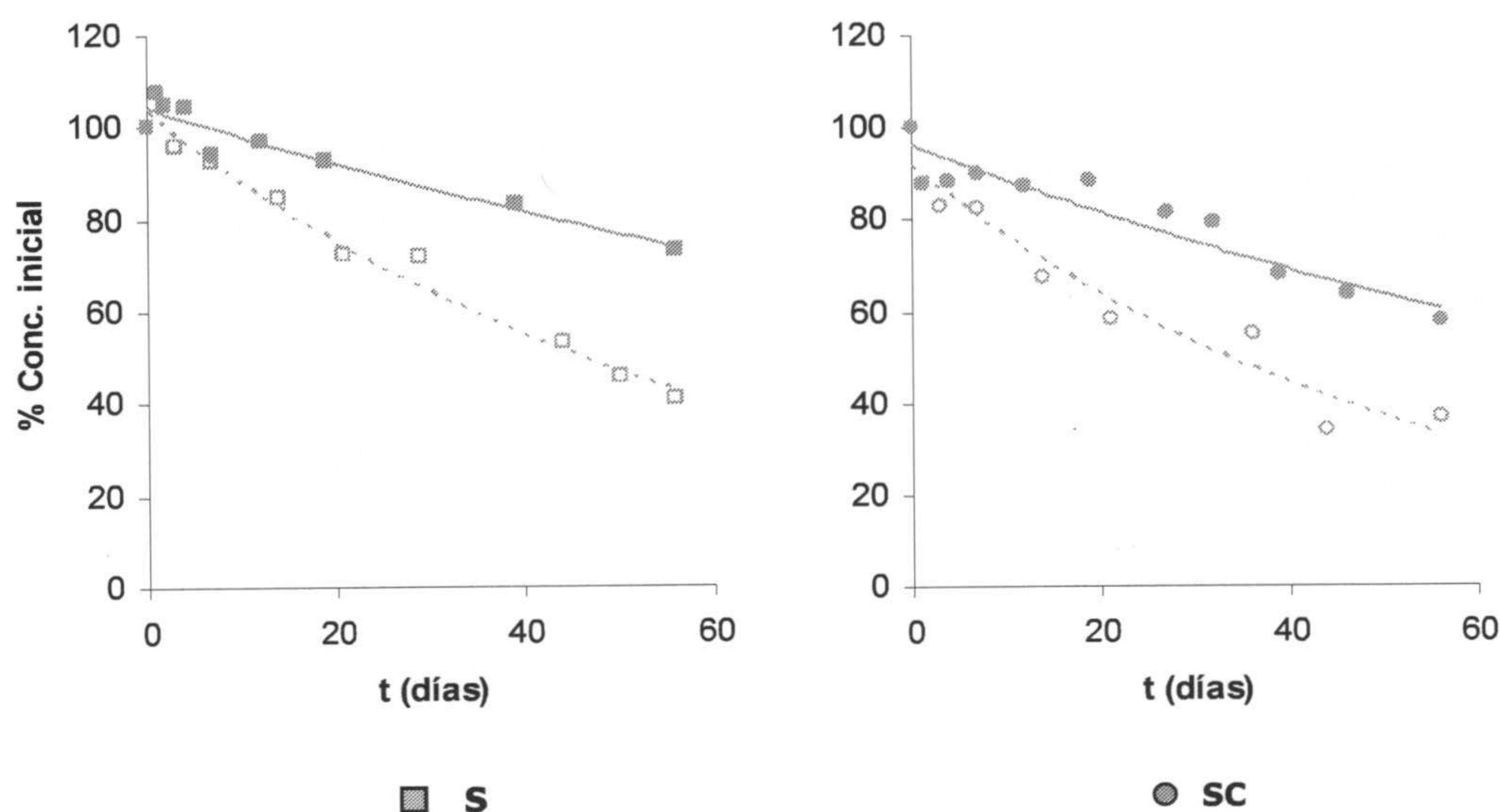


Figura IV.21. Degradación de clorsulfurón en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con compost (SC) cuando se aplica solo (símbolo vacío) o conjuntamente con bensulfurón y prosulfurón (símbolo lleno).

En la Tabla IV.11 se recogen los parámetros obtenidos tras el ajuste de los datos al modelo exponencial.

Tabla IV.11. Parámetros obtenidos del ajuste de la ecuación cinética de primer orden a los datos de degradación de clorsulfurón en suelo de vega sin enmendar (S) y enmendado con compost (SC).

	ECUACIÓN EXPONENCIAL			
	$C_0 \pm de^a$	$-k \times 10^2 \pm de^a$	$t_{1/2}$	R^2
S_{CLR}	$102,94 \pm 5,28$	$1,57 \pm 0,07^*$	44,26	0,97
SC_{CLR}	$91,18 \pm 9,89$	$1,78 \pm 0,16^*$	38,88	0,93

^a Desviación estándar (n=2). * Símbolos iguales indican que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el valor de k para esos sustratos.

Tanto en suelo sin enmendar como en suelo enmendado con compost, la degradación de clorsulfurón fue más rápida cuando se adiciona solo que cuando se adiciona conjuntamente con prosulfurón y bensulfurón-metilo, como indican los mayores valores de k.

La concentración de clorsulfurón en suelo, sin enmendar y enmendado con compost, a los 56 d de incubación fue aproximadamente 1,7 veces mayor que cuando se adicionó solo.

Tanto si el CLR se añade solo o en una mezcla con las otras sulfonilureas, no se observaron diferencias significativas ($P = 0,184$) en la velocidad de degradación entre suelo sin enmendar y enmendado con compost.

3.2.3.e) DISCUSIÓN

De todos los resultados mostrados hasta ahora se deduce que la degradación de clorsulfurón y prosulfurón, en todos los sustratos estudiados, fue inferior a la de bensulfurón. Dos razones complementarias explicarían este hecho:

- Por un lado, el mayor valor de pK_a de bensulfurón determina que al pH del suelo la proporción de compuesto en forma neutra sea más alta que la correspondiente a clorsulfurón y prosulfurón. La hidrólisis química de la forma neutra de estos compuestos es mayor que la de la forma aniónica.
- Por otro lado, CLR y PRS se degradan principalmente por vía química como indican valores similares de degradación en sustratos estériles y no estériles. Sin embargo, en la degradación de bensulfurón la vía biológica es también relevante.

Además de lo anterior, hay que indicar que, al igual que ocurría con las triazinas, la retención de bensulfurón en suelo no afecta a su degradación debido a que la capacidad de adsorción de bensulfurón de los diferentes sustratos es de moderada a baja (valores de K_f entre 1,26 y 2,48) que es esperable que una proporción importante de herbicida permanezca en solución susceptible a ser degradada.

Sobre la base de las dos premisas anteriores trataremos de discutir de la forma más rigurosa posible los resultados obtenidos.

La degradación de sulfonilureas en suelo ocurre por vía química y microbiológica. El estudio de la degradación en suelo estéril y no estéril nos permite conocer la importancia de cada una de estas vías.

Hidrólisis química

La principal reacción de degradación química de las sulfonilureas en suelo es la hidrólisis del puente sulfonilurético con la consiguiente formación de sulfonamida y amino triazina (Beyer et al., 1988; Sabadie, 1996; Sarmah y Sabadie, 2002). Este proceso es dependiente del pH debido a que la forma neutra de la molécula de plaguicida es más susceptible al ataque nucleofílico del agua sobre el C carbonílico del puente sulfonilurético (Brown, 1990). Así, la velocidad de hidrólisis de muchas sulfonilureas en soluciones acuosas disminuye al aumentar el pH (Dinelli et al., 1997; Braschi et al., 1997) porque aumenta la proporción de la forma neutra respecto a la molecular como ya se ha explicado anteriormente.

Una dependencia con el pH similar a la observada en soluciones acuosas, se ha encontrado en los estudios de degradación de sulfonilureas en suelos (Thinunarayanan et al., 1985; Hultgren et al., 2002-266). Por tanto, la mayor degradación de bensulfurón respecto a clorsulfurón y prosulfurón en suelos estériles (Tablas IV.9 y IV.10) puede explicarse siguiendo el mismo razonamiento que en soluciones acuosas (apartado IV.3.2.1). Así, el mayor valor de

pK_a para bensulfurón determina que al pH de los sustratos estudiados la forma molecular de este compuesto, más fácilmente degradable, se encuentre en mayor proporción que la correspondiente de clorsulfurón y prosulfurón.

Dado que en las muestras estériles sólo tendría lugar la degradación química podríamos comparar los valores de k obtenidos en suelos estériles (Tablas IV.9 y IV.10) con los encontrados en solución acuosa a valores similares de pH (Tabla VI.6). A pH 7,4 y 8,2 no se produce hidrólisis química para ninguna de las sulfonilureas estudiadas en solución acuosa. Por tanto, a valores próximos de pH, la tasa de hidrólisis en suelo fue mayor que en solución acuosa. Resultados similares fueron encontrados para otras sulfonilureas, metsulfurón metil (Sabadie, 1990; Vega et al., 1992), clorimurón etil (Brown, 1990; Sabadie, 1995) y triflusulfurón metil (Vega et al., 2000). Según esto podríamos afirmar bien que los constituyentes del suelo pueden catalizar reacciones de degradación (Hurle y Walker, 1980; Sabadie, 1997; Menneti et al., 2003), bien que, aparte de la hidrólisis pueden estar actuando conjuntamente otros mecanismos de degradación química (desmetilación, oxidación, deshalogenación, etc).

Degradación biológica

Cuando comparamos las curvas de degradación de bensulfurón en suelos estériles y no estériles observamos que la degradación en suelos estériles es inferior a la encontrada en las muestras sin esterilizar (Tabla IV.10, Figura IV.18), lo que indica que en la degradación de bensulfurón la vía biológica es relevante en contra de lo encontrado por otros autores (Sarmah y Sabadie, 2002). Además la rápida desaparición de bensulfurón del suelo durante la primera semana sugiere la existencia de dos fases de degradación, como ocurría con las triazinas. Este fenómeno también observado con otras sulfonilureas como triasulfurón (James et al., 1998; Pullicino et al., 2004), clorsulfurón (Thirunarayanan et al., 1985; James et al., 1998; Streck, 1988) y imazosulfurón (Morrica et al., 2002), podría explicarse por el modelo de dos compartimentos de Hamaker y Goring (1976). En el compartimento disponible el herbicida sulfonilureico, inmediatamente después de ser aplicado al suelo, sufriría hidrólisis química y degradación microbiológica. Con el tiempo, el herbicida puede moverse hacia el compartimento protegido, donde está menos accesible a los microorganismos del suelo y sólo se degradará por vía química. Los resultados de actividad deshidrogenasa de los distintos sustratos apoyarían la hipótesis de los dos compartimentos. Así, la mayor actividad deshidrogenasa tiene lugar en la primera semana de incubación de los suelos coincidiendo con la mayor disminución en la concentración de bensulfurón, lo que sugiere que bensulfurón es utilizado por los microorganismos del suelo como fuente preferente de nutrientes y energía para su crecimiento. Este proceso de degradación en dos fases debe atenuarse en los ensayos de laboratorio donde el herbicida se mezcla con el suelo, a diferencia de lo que ocurre en el campo que se aplica sobre la superficie y está sometido a procesos de volatilización y fotodegradación. Por este

motivo serían necesarios más estudios para aclarar este fenómeno puesto que la disminución en la degradación de una porción del plaguicida aplicado al suelo puede tener importantes implicaciones medioambientales.

Al contrario de lo observado para bensulfurón, no se encontraron diferencias en las curvas de degradación de clorsulfurón y prosulfurón en sustratos estériles y no estériles (Figura IV.20, Tabla IV.9), lo que indica que la degradación biológica para estos dos herbicidas juega un papel poco relevante. Este hecho contrasta con otros trabajos donde se considera la degradación microbiológica como la principal vía de degradación de estas sulfonilureas especialmente en suelo alcalinos como los de este estudio (Joshi et al., 1985; Sarmah y col, 1999; Menniti et al., 2003), aunque también se ha observado que CLR puede degradarse por vía microbiológica en suelos ácidos (Walker et al., 1989; Ravelli et al., 1997).

Los resultados encontrados en la bibliografía y los obtenidos con los herbicidas triazínicos nos llevan a pensar que, igual que ocurrió con cianazina (apartado IV.2.2.3), bensulfurón puede interferir en la degradación biológica de clorsulfurón y prosulfurón. De hecho, el estudio de degradación de clorsulfurón en el mismo suelo y en las mismas condiciones cuando se aplica solo mostró una velocidad de degradación mayor que la observada cuando se aplica al suelo conjuntamente con prosulfurón y bensulfurón. Estos datos confirman la hipótesis de que cuando se aplican los tres herbicidas sulfonilureicos conjuntamente se produce un fenómeno de competencia entre ellos de modo que la presencia de bensulfurón, más susceptible a la degradación microbiana, impide o dificulta la degradación de los otros dos herbicidas por vía biológica. No se han encontrado referencias en la bibliografía que expliquen este fenómeno de competencia entre sulfonilureas en el proceso de degradación en suelo, aunque sí existen para otros compuestos como triazinas (Blumhorst y Weber, 1992; Lin et al., 2006; Moorman et al., 2001) y herbicidas nitroaromáticos (Martins y Mermoud, 1998). Serían necesarios estudios adicionales para determinar las causas de este comportamiento que podría producirse de forma relativamente frecuente en el suelo puesto que muchas formulaciones de plaguicidas incluyen la presencia conjunta de varios compuestos orgánicos incluidos otros plaguicidas de la misma o diferente familia (de Liñan, 2005). Como consecuencia de este fenómeno de competencia un compuesto orgánico que se encontrara solo en el suelo tendría un poder contaminante bajo, al ser degradado por distintos mecanismos, podría llegar a convertirse en un elemento nocivo para el medioambiente en combinación con otros compuestos, por ser su degradación más lenta de lo esperada.

Por otra parte, la adición de enmiendas no produjo cambios en la degradación de CLR y PRS. Puesto que estos dos plaguicidas en los suelos estudiados sólo se degradan por vía química, los factores que pueden afectar a su degradación son el pH (Brown, 1990; Hultgren et al., 2002), el contenido en humedad (Fuesler y Hanafey, 199; Sabadie, 1997) y la temperatura (Ravelli et al., 1997). Estos tres factores son los mismos para todos los sustratos. A pesar de que los valores de pH al inicio del estudio fueron distintos entre los tratamientos ($8,06 \pm 0,09$,

8,00 ± 0,14, 8,24 ± 0,18, 8,06 ± 0,09 para S, SV, SC y SA, respectivamente) al final del experimento no se observaron diferencias significativas entre los mismos ($P > 0,05$), siendo el valor de pH medio en todos los casos de 7,99 ± 0,12.

La adición de compost y vermicompost supuso pequeños cambios aunque significativos en la degradación de bensulfurón. Como ya se ha explicado anteriormente para clorsulfurón y porsulfurón los factores que afectan a la hidrólisis química no varían con la adición de enmiendas, por tanto, debemos suponer que las diferencias encontradas al añadir ambos enmendantes se deben a cambios en la degradación microbiana. Una prueba adicional de esta afirmación es que la actividad deshidrogenasa, durante los primeros días de incubación, medida en el suelo enmendado con compost y vermicompost fue mayor (entre 4 y 5 veces) a la encontrada en el suelo sin enmendar.

Las curvas de degradación de bensulfurón en suelo enmendado con alperujo no son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las encontradas en suelo sin enmendar. Al igual que ocurría con las triazinas, los microorganismos del suelo y los propios del alperujo degradan preferentemente la gran cantidad de compuestos lábiles aportados por la enmienda, en detrimento de la degradación del plaguicida.

No se han encontrado estudios sobre las sulfonilureas estudiadas donde se establezca la influencia en su degradación del aporte de materia orgánica exógena, aunque sí para otros compuestos de esta familia. Pullicino et al., 2004, obtuvieron resultados contrarios a los presentados en este trabajo para bensulfurón-metilo. Estos autores encuentran que la velocidad de degradación de triasulfurón en un suelo enmendado con compost era ligeramente inferior a la del suelo sin enmendar, achacando este hecho a la mayor adsorción de este plaguicida en suelo enmendado lo que le confiere una protección frente a la acción microbiana.

La adición de compost al suelo supuso un cambio en la degradación de clorsulfurón cuando se adicionó con único herbicida. Todo parece confirmar un efecto de competencia o inhibición de la degradación de este herbicida, y posiblemente también de prosulfurón, en presencia de otros compuestos preferentemente degradados por la población microbiana del suelo. Así pues, la adición de compost también favorece el mecanismo microbiano de degradación para el CLR, en ausencia de bensulfurón-metilo.

3.2.3. e) AJUSTE DE LOS DATOS A OTROS MODELOS MATEMÁTICOS

En las Figuras IV.19 y IV.20 se representan los datos experimentales de la degradación de sulfonilureas en los diferentes suelos (estériles y no estériles) junto con las curvas teóricas obtenidas del ajuste al modelo lineal (ecuación exponencial de primer orden [1]). En la Figura IV.18 se muestran los datos experimentales de degradación de bensulfurón junto con la curva teórica obtenida del ajuste a la ecuación de Hoerl [3].

En las Tablas IV.8 y IV.9 se recogen las constantes de degradación obtenidas en cada uno de los ajustes empleados, junto con algunos parámetros estadísticos del ajuste, tanto para los suelos estériles como para los no esterilizados.

En todos los casos el modelo exponencial se ajusta bien a los datos experimentales ($R^2=0,85$, en el peor de los casos).

A pesar de este buen ajuste, los valores teóricos de $t_{1/2}$ para bensulfurón en muestras no estériles difieren de los observados experimentalmente (TD_{50}). Esto es debido, como ya se explicó para las triazinas, a una rápida disminución de la concentración de este plaguicida en los primeros días de incubación. En el ajuste de los datos de degradación de bensulfurón al modelo de Hoerl se obtienen valores del parámetro c muy distantes a cero lo que confirma el hecho de que la degradación de este compuesto sea más rápida al principio que al final (Zimdahl et al., 1994). Para bensulfurón el modelo de Hoerl es una mejor aproximación a los datos experimentales.

En el caso de clorsulfurón y prosulfurón, los valores de $t_{1/2}$, obtenidos a partir del modelo exponencial, se asemejan a los TD_{50} y los valores del parámetro c obtenido del modelo de Hoerl están muy próximos a cero, lo que indica que el ajuste a la cinética de primer orden es una buena aproximación (Zimdahl et al., 1994) de la degradación de estos dos compuestos. Estos resultados contradicen los presentados por otros autores como Hulgren et al. (2002) para prosulfurón y Sarmah et al. (1999) para clorsulfurón que encuentran que el ajuste a una cinética de primer orden no explica la degradación de estos dos herbicidas en suelo. Por el contrario, otros trabajos muestran que la degradación de clorsulfurón (Ravelli et al., 1997) y prosulfurón (Menneti et al., 2003) sigue una cinética de primer orden.

Los valores de $t_{1/2}$ oscilaron entre 25 y 35 d para bensulfurón-metilo, y entre 73 y 93 d para CLR y PRS. Es difícil comparar estos valores con otros encontrados en la literatura debido a la gran influencia en la degradación de estos compuesto del pH, la temperatura, el contenido en humedad y la materia orgánica del suelo (Beyer et al., 1988).

CONCLUSIONES



1. La adición de enmiendas orgánicas produjo un aumento en la adsorción y una reducción en la desorción de los herbicidas triazínicos en suelo de olivar, proporcional a la dosis de enmienda adicionada. Este efecto fue mayor para los herbicidas más hidrófobos, terbutilazina y prometrina, y menor para los menos hidrófobos, simazina y cianazina, indicando la importancia de los enlaces hidrófobos entre el suelo y los herbicidas. El alperujo es la enmienda que ocasionó una mayor modificación en la adsorción/desorción de triazinas, mientras que compost y vermicompost presentan un comportamiento parecido frente a los distintos plaguicidas.
2. La cantidad adsorbida de herbicidas triazínicos en suelo de olivar enmendado con alperujo disminuyó tras tres meses de incubación del suelo y la enmienda. En el caso del suelo de olivar enmendado e incubado con compost y vermicompost no se observaron cambios en la adsorción de los herbicidas triazínicos estudiados con el tiempo de incubación. La desorción de los herbicidas aumentó con la transformación de las enmiendas, llegando a ser completamente reversible para simazina y cianazina al final del periodo de incubación.
3. Los AH y AF resultaron ser la fracción orgánica más importante en la adsorción de triazinas en suelo de olivar sin enmendar y enmendado con compost y vermicompost de alperujo. En suelo de olivar enmendado con alperujo además de los AH y AF, la fracción hidrosoluble adquiere especial relevancia en la retención de terbutilazina y prometrina.
4. La adsorción de clorsulfurón y prosulfurón fue muy baja en todos los sustratos estudiados, no observándose modificaciones importantes tras la adición de enmiendas al suelo de vega, incluso a una dosis elevada. En el caso de bensulfurón metilo, sólo la adición de alperujo produjo un aumento en su adsorción al suelo y una reducción de su desorción. Al igual que lo que ocurrió con las triazinas, la cantidad desorbida de bensulfurón aumentó en los sustratos incubados durante tres meses. El carácter ionizable de estos herbicidas influye en su adsorción/desorción por parte del sustrato y en el bajo efecto que las enmiendas tienen sobre estos fenómenos.
5. El empleo de enmiendas a la dosis ensayada, no modifica sustancialmente la degradación en suelo de herbicidas triazínicos y sulfonilureicos. A pesar de que la adición de enmiendas, en especial el alperujo, provocó un aumento significativo de la actividad microbiana, esto no se tradujo en un incremento en la degradación de los plaguicidas, independientemente de su estructura química o de su retención por el sustrato. La presencia simultánea de varios herbicidas indujo fenómenos de competencia o inhibición, favoreciendo la degradación de unos compuestos frente a otros.



BIBLIOGRAFÍA



- Abdelhafid, R., Houot, S. y Barriuso, E. (2000).** How increasing availabilities of carbon and nitrogen affect atrazine behaviour in soils. *Biol. Fertil. Soils* 30, 333-340.
- Afyuni, M.M., Waggoner, M.G. y Leidy, R.B. (1997).** Runoff of two sulfonylurea herbicides in relation to tillage system and rainfall intensity. *J. Environ. Qual.* 26, 1318-1326.
- 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 ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 35, 878-884.
- Ait Baddi, G., Alburquerque, J.A., Gonzálvez, J., Cegarra, J. y Hafidi, M. (2004).** Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes. *Int. Biodeter. Biodegr.* 54, 39-44.
- Åkerblom, M. (1995).** Extraction and cleanup. En: *Pesticides in Ground and Surface Water: Progress in Basic Residue Methods*. H.J. Stan (Ed.). Springer-Verlag, Heidelberg., pp. 19-66.
- Alba, J. (1998).** Elaboración del aceite de oliva virgen. En: *El Cultivo del Olivo*. D. Barranco, D. Fernández-Escobar y L. Rallo (Eds.) Junta de Andalucía y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 509-537.
- Alba, J., Hidalgo, F., Martínez, F., Ruiz, M.A. y Borja R. (1995).** Evaluación medioambiental de los sistemas de elaboración de aceite de oliva en Andalucía. *Mercaei*. Febrero-Marzo, 20-22.
- Alba, J., Hidalgo, F., Martínez, F., Ruiz, M.A. y Moyano, M.J. (1994)** Impacto ecológico y ambiental originado por el nuevo proceso de elaboración del aceite de oliva. *Dossier Oleo* 1, 25-34.
- Alba, J., Ruiz, M.A. y Hidalgo, F. (1992).** Control de elaboración y características analíticas de los productos obtenidos en una línea continua ecológica. *Dossier Oleo. XII Mostra mercato di olio nuovo*. Impruneta (Italia). 2, 43- 48.
- Albarrán, A., Celis, R., Hermosín, M.C., López-Piñeiro, A. y Cornejo, J. (2004).** Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* 54, 717-724.
- Albarran, A., Celis, R., Hermosín, M.C., López-Piñeiro, A., Ortega-Calvo, J.J. y Cornejo, J. (2003).** Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19, 150-156
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F. y Ingelmo, F. (2001).** Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresour. Technol.* 76, 125-129.
- Alburquerque, J.A., González, J., García, D. y Cegarra, J. (2004).** Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.* 91, 195-200.
- Almendros, G. (1995).** Sorptive interactions of pesticides in soils treated with modified humic acids. *Eur. J. Soil. Sci.* 46, 287-301.
- Almendros, G., Sanz, J. y Velasco, F. (1996).** Signatures of lipids assemblages in soils under continental Mediterranean forests. *Eur. J. Soil Sci.* 47, 183-196.
- Almendros, G., Tinoco, P., González-Vila, F.J., Lüdemann, H.-D., Sanz, J. y Velasco, F. (2001).** ^{13}C -NMR of forest soil lipids. *Soil Sci.* 166, 186-196.
- Alvey, S. y Crowley, D.E. (1995).** Influence of organic amendments on biodegradation of atrazine as a nitrogen source. *J. Environ. Qual.* 24, 1156-1162.
- Anderson, R.L. y Humburg, N.E. (1987).** Field duration of chlorsulfuron bioactivity in the central great plains. *J. Environ. Qual.* 16, 263-266.

- Angemar, Y., Rebhun, M. y Horowitz, M. (1984).** Adsorption, phytotoxicity, and leaching of bromacil in some Israeli soils. *J. Environ. Qual.* 13, 321-327.
- Antonious, G.F., Patterson, M.A. y Snyder, J.C. (2005).** Impact of soil amendments on broccoli quality and napropamide movement under field conditions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 797-804.
- Arienzo, M., Crisanto, T., Sánchez-Martín M.J. y Sánchez-Camazano, M. (1994).** Effect of soil characteristics on adsorption and mobility of (¹⁴C)diazinon. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1803-1808.
- 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.
- Baca, M.T., Fornasier, F. y de Nobili, M. (1992).** Mineralization and humification pathways in two composting processes applied to cotton wastes. *J. Ferm. Bioengin.* 74, 179-184.
- Baham, J. y Sposito, G. (1994).** Adsorption of dissolved organic carbon extracted from sewage sludge on montmorillonite and kaolinite in the presence of metal ions. *J. Environ. Qual.* 23, 147- 153.
- Baran, S., Oleszczuk, P. y Baranowska, E. (2003).** Degradation of soil environment in the post-flooding area: Content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and s-triazine herbicides. *J. Environ. Sci. Health B* 38, 799-812.
- Barbash, J.E., Thelin, G.P., Kolpin, D.W. y Gilliom, R.J. (2001).** Major herbicides in ground water: results from the national water-quality assessment. *J. Environ. Qual.* 30, 831-845.
- Barberá, C. (1976).** *Pesticidas Agrícolas*. Ediciones Omega, S.S., Barcelona. 569 pp.
- Barriuso, E. y Calvet, R. (1992).** Soil type and herbicides adsorption. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 46, 117-128.
- Barriuso, E., Baer U. y Calvet, R. (1992a).** Dissolved organic matter and adsorption-desorption of dimefuron, atrazine, and carbetamide by soils. *J. Environ. Qual.* 21, 359-367.
- Barriuso, E., Calvet, R. y Houot, S. (1995).** Field study of the effect of sewage sludge application on atrazine behaviour in soil. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 59, 107-121.
- Barriuso, E., Feller, Ch., Calvet, R. y Cerri, C. (1992b).** Sorption of atrazine, terbutryn and 2,4-D herbicides in two Brazilian Oxisols. *Geoderma* 53, 155-167.
- Barriuso, E., Houot, S. y Serra-Wittling, C. (1997).** Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pestic. Sci.*, 49, 65-75.
- Barriuso, E., Laird, D.A., Koskinen, W.C. y Dowdy, R.H. (1994).** Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1632-1638.
- Baskaran, S., Bolan, N.S., Rahman, A. y Tillman, R.W. (1996).** Effect of exogenous carbon on the sorption and movement of atrazine and 2,4-D by soils. *Aust. J. Soil Res.* 34, 609-622.
- Battaglin, W.A., Furlong, E.T., Burkhardt, M.R. y Peter, C.J. (2000).** Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs, and ground water in the Midwestern United States, 1998. *Sci. Total Environ.* 248, 123-133.
- Beck, A.J. y Jones, K. C. (1996).** The effects of particle size, organic matter content, crop residues and dissolved organic matter on the sorption kinetics of atrazine and isoproturon by clay soil. *Chemosphere* 32, 2345-2358.
- Behki, R.M. y Khan, S.U. (1994).** Degradation of atrazine, propazine, and simazine by *Rhodococcus strain B-30*. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1237-1241.

- Bellin, C.A., O'Connor, G.A. y Jin, Y. (1990).** Sorption and degradation of pentachlorophenol in sludge-amended soils. *J. Environ. Qual.* 19, 603-608. Bellin y col., 1990, P- 548;
- Benítez, E., Sainz, H. y Nogales, R. (2005).** Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresour. Technol.* 96, 785-790.
- Benítez, E., Sainz, H., Melgar, R. y Nogales, R. (2002).** Vermicomposting of a lignocellulosic waste from olive oil industry: A pilot scale study. *Waste Manage. Res.* 20, 134-142.
- Benoit, P y Preston, C. M. (2000).** Transformation and binding of ¹³C and ¹⁴C-labelled atrazine in relation to straw decomposition in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 43-54.
- Berger B.M. y Wolfe, N.L. (1996).** Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueous buffers and anaerobic water-sediment systems: assessing fate path ways using molecular descriptors. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 1500-1507.
- Berglöf, T., Koskinen, W.C., Duffy, M.J., Norberg, K.A. y Kylin, H. (2003).** Metsulfuron methyl sorption-desorption in field-moist soils. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3598-3603.
- Bergström, L. (1990).** Use of lysimeters to estimate leaching of pesticides in agricultural soils. *Environ. Pollut.* 67, 325-347.
- Bernal, J.L., Jiménez, J.J., Herguedas, A.y Atienza, J. (1997).** Determination of chlorsulfuron and tribenuron-methyl residues in agricultural soils. *J. Chromatogr. A* 778, 119-125.
- 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., 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.
- 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.
- Bevacqua, R.F. y Mellano, V.J. (1993).** Sewage sludge compost's cumulative effects on crop growth and soil properties. *Compost Sci. Util.* 1, 34-37.
- Beyer, E.M. Jr., Duffy, M.J., Hay, J.V. y Schlüter, D.D. (1988).** Sulfonylureas. En: *Herbicides: Chemistry, Degradation and Mode of Action*. P.C. Kearney y D.D. Kaufman (Eds.). Marcel Dekker, New York, N.Y. Capítulo 3, pp. 117-189.
- Beyer, E.M., Brown, H.M. y Duffy, M.J. (1987).** Sulfonylurea herbicide soil relations. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds.* 531-540.
- Beynon, K.I., Stoydin, G. y Wright, A.N. (1972).** A comparison of the breakdown of the triazine herbicides cyanazine, atrazine and simazine in soils and maize. *Pestic. Biochem.* 2, 153-161.
- Biggar, J.W, Mingelgrin, U. y Cheung, M.W. (1978).** Equilibrium and kinetics of adsorption of Picloram and parathion with soils. *J. Agric. Food Chem.* 26, 1306-1312.
- Blázquez Martínez, J.M. (1996).** Evolución e historia. En: *Enciclopedia Mundial del Olivo*. Capítulo 1, Consejo Oleícola Internacional, Madrid. pp. 17-58.
- Blumhorst, M.R. y Weber, J.B. (1992).** Cyanazine dissipation as influenced by soil properties. *J. Agric. Food Chem.* 40, 894-897. 1992
- Boesten, J.J.T.I. (1990).** Influence of solid/liquid ratio on the experimental error of sorption coefficients in pesticide/soil systems. *Pestic. Sci.* 30, 31-41.

- Boletín Oficial del Estado Español. (2000).** BOE Número 147 de 20 de junio de 2000, Real Decreto 995/2000, de 2 de junio, por el que se fijan objetivos de calidad para determinadas sustancias contaminantes y se modifica el reglamento de Dominio Público Hidráulico, aprobado por el Real Decreto 849/1986, de 11 de abril.
- Borggaard, O.K. y Streibig, J.C. (1988).** Chlorsulfuron adsorption by humic acid, iron oxides, and montmorillonite. *Weed Sci.*, 36, 530-534.
- Braschi, I., Calamai, L. Andera, M., Cremonini, P.F., Gessa, C. Pantano, O. y Pusino, A. (1997).** Kinetics and hydrolysis mechanism of triasulfuron. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4495-4499.
- Bresnahan, G., Dexter, A., Koskinen, W. y Lueschen, W. (2002).** Influence of soil pH-sorption interactions on the carry-over of fresh and aged soil residues of imazamox. *Weed Res.* 42, 45-51.
- Brown, C.D., Carter, A.D. y Hollis, J.M. (1995a).** Soils and pesticide mobility. En: *Environmental Behaviour of Agrochemicals*. T.R. Roberts y P.C. Kearney (Eds.). Wiley & Sons, Chichester, Capítulo 3, pp. 131- 184.
- Brown, C.D., Hodgkinson, R.A., Rose, D.A., Syers, J.K. y Wilcockson, S.J. (1995b).** Movement of pesticides to surface waters from a heavy clay loam. *Pestic. Sci.* 43, 131-140.
- Brown, C.D., Marshall, V.L., Carter, A.D., Walker, A., Arnold, D.J. y Jones, R.L. (1999).** Investigation into the effect of tillage on solute movement through a heavy clay soil. I. Lysimeter experiment. *Soil Use Manage.* 15, 84-93.
- Brown, H.M. (1990).** Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pestic. Sci.* 29, 263-281.
- Burchill, S., Hayes, M.H.B. y Greenland, D.J. (1981).** Adsorption. En: *The Chemistry of Soil Processes*. D.J. Greenland y M.H.B. Hayes (Eds.). John Wiley & Sons, New York. pp. 221-400.
- Burford, J.R. y Bremen, J.M. (1975).** Relationships between denitrification capacities of soils and total water soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 7, 389-394.
- Burgoa, B. y Wauchope, R.D. (1995).** Pesticides in run-off and surface waters. En: *Environmental Behaviour of Agrochemicals*. T.R. Roberts y P.C. Kearney (Eds.). Wiley & Sons, Chichester, Capítulo 5, pp. 221- 255.
- Burkart, M.R., Kolpin, D.W., Jaquis, R.J. y Cole, K.J. (1999).** Agrichemicals in ground water of the Midwestern USA: Relations to soil characteristics. *J. Environ. Qual.* 28, 1908-1915.
- Burkhard, N. y Guth, J.A. (1981).** Chemical hydrolysis of 2-chloro-4,6-bis(alkylamino)-1,3,5-triazine herbicides and their breakdown in soil under the influence of adsorption. *Pestic. Sci.* 12, 45-52.
- Businelli, D. (1997).** Pig slurry amendment and herbicide coapplication effects on s-triazine mobility in soil: An adsorption-desorption study. *J. Environ. Qual.* 26, 102-108.
- Calvet, R. (1980).** Adsorption- desorption phenomena. En: *Interactions between Herbicides and the Soil*. R.J. Hance (Ed.). Academic Press. London, pp. 1-30.
- Calvet, R. (1989).** Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Persp.* 83, 145-177.
- Camiña, 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.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Herrero-Hernández, E. y Hernández-Méndez, J. (2004).** Simultaneous determination of phenyl. and sulfonylurea herbicides in

water by solid-phase extraction and liquid chromatography with UV diode array or mass spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta.* 517, 71-79.

- Caracciolo, A.B, Grenni, P, Ciccoli, R., Di Landa, G. y Cresmisini, C. (2005).** Simazine biodegradation in soil: analysis of bacterial community structure by in situ hybridization. *Pest. Manage. Sci.* 61, 863-869.
- Carter, A.D. (1999).** Leaching mechanisms. En: *Pesticide Chemistry and Bioscience, the Food-Environment Challenge*. G.T. Brooks y T.R. Roberts (Eds.) The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 291-301.
- Carter, A.D. (2000).** Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes. *Weed Res.* 40, 113-122.
- Catálogo Europeo de Residuos (CER). (1993).** Aprobado mediante la decisión 94/3/CE de la Comisión, de 20 de Diciembre de 1993. DOCE N° L5, de 7 de Enero de 1994.
- Cavanna, S., Garatti, E., Rastelli, E. y Molinari, G.P. (1998).** Adsorption and desorption of bensulfuron-methyl on Italian paddy field soils. *Chemosphere* 37, 1547-1555.
- Cegarra, J., Roig, A., Navarro, A.F., Bernal, M.P., Abad, M. Climent, M.D. y Aragón, P. (1993).** Características, compostaje y uso agrícola de residuos sólidos urbanos. En: *Jornadas de Recogidas Selectivas en Origen y Reciclaje*. Marzo, Córdoba, pp. 46-55.
- Celis, R., Barriuso, E. y Houot, S. (1998a).** Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere*, 37, 1091-1107.
- Celis, R., Barriuso, E. y Houot, S. (1998b).** Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.* 27, 1348-1356.
- Celis, R., Cornejo, J., Hermosín, M.C. y Koskinen, W.C. (1997).** Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 436-443.
- Celis, R., Koskinen, W.C., Hermosín, M.C. y Cornejo, J. (1999).** Sorption and desorption of triadimefon by soils and model soil. *J. Agric. Food Chem.* 47, 776-781.
- Cerejeira, M.J., Viana, P., Batista, S., Pereira, T., Silva, E., Ferreira, M. y Silva-Fernandes, A.M. (2003).** Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Water Res.* 37, 1055-1063.
- Chaney, R.L. (1980).** Health risks associated with toxic metals in municipal sludge. En: *Sludge - Health Risks of Land Application*. G. Bitton, B. Damron, G. Edds y J. Davidson (Eds.). Ann Arbor Science, Michigan, pp. 59-83.
- Chefetz, B., Bilkis, Y.I. y Polubesova, T. (2004).** Sorption-desorption behavior of triazine and phenylurea herbicides in Kishon river sediments. *Water Res.*, 38, 4383-4394.
- Chen, Y., Chefetz, B. y Hadar, Y. (1996).** Formation and properties of humic substances originating from compost. En: *The Science of Composting*. M. de Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes y T. Papi (Eds.). Blackie Academic & Professional, UK, pp. 382-393.
- Chiou, C.T., Kile, D.E., Rutherford, D.W., Sheng, G. y Boyd, S.A. (2000).** Sorption of selected organic compounds from water to a peat soil and its humic-acid and humin fractions: potential sources of the sorption nonlinearity. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1254-1258.
- Chiou, C.T., Malcolm, R.L., Brinton, T.I. y Kile, D.E. (1986).** Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environ. Sci. Technol.* 20, 502-508.
- 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

- Chong, C., Cline, D.L., Rinker, D.L. y Allen, O.B. (1991a).** Growth and mineral nutrient status of containerized woody species in media amended with spent mushroom compost. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 116, 242-247.
- Chong, C., Cline, D.L., Rinker, D.L. y Hamersma. (1991b).** An overview of reutilization of spent mushroom compost in nursery container culture. *Landscape Trades* 13, 14-18.
- Civantos, L., Contreras R. y Grana, R. (1992).** *Obtención del Aceite de Oliva Virgen.* Editorial Agrícola Española, S.A. Madrid.
- Cleveland, C.B. (1996).** Mobility assessment of agrichemicals: Current laboratory methodology and suggestions for future directions. *Weed Technol.* 10, 157-168.
- Climent, M.D., Abad, M. y Aragón, P. (1996).** *El compost de residuos sólidos urbanos (R.S.U.). Sus características y aprovechamiento en agricultura.* Ediciones y promociones LAV, S.L., Valencia, 187 pp.
- Cogle, A.L., Saffigna, P.G. y Strong, W.M. (1989).** Carbon transformations during wheat straw decomposition. *Soil. Biol. Biochem.* 21, 367-372.
- Cohen, S.Z., Eiden, C. y Sorber, M.N. (1986).** Monitoring groundwater for pesticides. En: *Evaluation of Pesticides in Groundwater.* W.Y. Gardner, R.C. Honeycutt y H.N. Nigg (Eds.) ACS Symposium Series, No 315, ACS, Washington., pp. 170-196.
- 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.
- Comisión de Métodos Analíticos del Instituto Nacional de Edafología y Agrobiología. (1973).** Determinaciones analíticas en suelos. Normalización de métodos. *An. Edafol. Agrobiol.* 32, 1153-1172.
- Consejo Oleícola Internacional. (1995).** Series estadísticas del aceite de oliva y la aceituna de mesa.
- Contreras-Ramos, S.M., Alvarez-Bernal, D., Trujillo-Tapi, N. y Dendooven, L. (2004).** Composting of tannery effluent with cow manure and wheat straw. *Bioresour. Technol.* 94, 223-228.
- Cook, A.M., y Hütler, R. (1981).** s-Triazines as N sources for bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 25, 53-59.
- Cook, B.D. y Allan, D.L. (1992).** Dissolved organic carbon in old field soils: total amounts as a measure of available resources for soil mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 24, 585-594.
- Cottenie, A. (1981).** Sludge treatment and disposal in relation to heavy metals. En: *Int. Conf. Heavy Metal Environ.,* Amsterdam. September 1981. Commission of the European Communities, Amsterdam, Netherlands. pp. 167-175
- Cox, L., Cecchi, A., Celi, R., Hermosín, M.C., Koskinen, W.C. y Cornejo, J. (2001).** Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 65, 1688-1695.
- Cox, L., Celis, R., Hermosín, M.C., Becker, A. y Cornejo, J. (1997).** Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agric. Ecosyst. Environ.,* 65, 151-161.
- Cripps, R.E. y Roberts, T. R. (1978).** Microbial degradation of herbicides. En: *Pesticide Microbiology.* I.R. Hill y S. J. L. Wright (Eds.) Academic Press, London, Capítulo 11, pp. 669-730.
- Cuadros Rodríguez, L., García Campaña, A.M., Jiménez Linares, C. y Román Ceba, M. (1993).** Estimation of performance characteristics of an analytical method using the data set of the calibration experiment. *Anal. Lett.* 26, 1243-1258.

- Dalva, M. y Moore, T.R. (1992).** Sources and links of dissolved organic carbon in a forested swamp catchment. *Biogeochemistry* 15, 1-19.
- de Jonge, H. y de Jonge, L.W. (1999).** Influence of pH and solution composition of the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. *Chemosphere* 39, 753-763.
- de la Colina, C. (1996).** *Metodología para la Determinación de Residuos de Plaguicidas en Aguas. Aplicación al Acuífero de la Vega de Granada.* Tesis doctoral. Universidad de Granada. 303 pp.
- de la Colina, C., Peña, A., Mingorance, M.D. 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 Liñán, C. (2005).** *Vademécum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales.* 21 Ed. Ediciones Agrotécnicas, S.L.: Madrid.
- Di, H.J., Aylmore, A.G. y Kookana, R.S. (1998).** Degradation rates of eight pesticides in surface and subsurface soils under laboratory and field conditions. *Soil Sci.* 163, 404-411.
- Diaz, L.F., Savage, M.S., y Golueke, C.G. (1982).** Composting. En: *Resource Recovery from Municipal Solid Wastes.* L.F. Diaz M.S. Savage y C.G. Golueke (Eds.). Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL., pp 95-120.
- Dinel, H., Schnitzer, M. y Dumontet, S. (1996).** Compost maturity: extractable lipids as indicators of organic matter stability. *Compost Sci. Util.* 4, 6-12.
- Dinel, H., Schnitzer, M. y Mehuys, G.R. (1990).** Soil lipids: origin, nature, content, decomposition, and effect on soil physical. En: *Soil Biochemistry.* J.M. Bollag y G. Stotzky (Eds). Marcel Dekker, New York, vol. 6, pp. 397-429.
- Dinelli, G., Vicari, A., Bonetti, A. y Catizone, P. (1997).** Hydrolytic dissipation of four sulfonylurea herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1940-1945.
- Dinwoodie, G.D. y Juma, N.G. (1988).** Allocation and microbial utilization of C in two soils cropped to barley. *Can. J. Soil Sci.* 68, 495-505.
- Dios Cancela, G., Romero Taboada, E. y Sánchez Rasero, F. (1990).** Adsorption of cyanazine on peat and montmorillonite clay surfaces. *Soil Sci.* 150, 836-843.
- Dios Cancela, G., Romero Taboada, E. y Sánchez-Rasero, F. (1992).** Carbendazim adsorption on montmorillonite, peat and soils. *J. Soil Sci.* 43, 99-111.
- Directiva 76/464/EC,** de 4 de Mayo de 1976. Relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad. DOCE 129/L, de 18 de Mayo de 1976.
- Directiva 98/83/CE,** de 3 de Noviembre de 1998. Relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. DOCE N° L330, de 5 de Diciembre de 1998.
- Dolan, J.W. (2002).** Resolving minor peaks. *LC/GC Int.* 15, 578-580.
- Dousset, S., Mouvet, C. y Schiavon, M. (1997).** Degradation of ¹⁴C terbuthylazine and ¹⁴C atrazine in laboratory soil microcosms. *Pestic. Sci.* 49, 9-16.
- Doyle, R.C., Kaufman, D.D. y Burt, G.W. (1978).** Effect of daily manure and sewage sludge on ¹⁴C-pesticide degradation in soil. *J. Agric. Food Chem.* 26, 987-989.
- Dubus, I.G., Barriuso, E. y Calvet, R. (2001).** Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere* 45, 767-774.
- Duchaufour, P. (1975).** *Manual de Edafología.* Toray-Masson, S.A., Barcelona.
- Duchaufour, P. y Jacquin, F. (1975).** Comparison des processus d'humification dans les principaux types d'humus forestiers. *Bull. AFES.* 1, 23-35.

- Duggan, J.C. y Wiles, C.C. (1976).** Effects of municipal and nitrogen fertilizer on selected soils and plants. *Compost Sci.* 17, 24-31.
- Dzantor, E.K., Felsot, A.S. y Beck, M.J. (1993).** Bioremediating herbicide-contaminated soils. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 39/40, 621-630.
- Edwards, C.A. y Burrows, I. (1988).** The potential of earthworms compost as plant growth media. En: *Earthworms in Waste and Environmental Management*. C.A. Edwards y E.F. Neuhauser (Eds). SPB Academic Publishing BV, La Haya. pp. 211-221.
- Edwards, C.A. y Lofty, J.R. (1972).** *Biology of Earthworms*. Chapman and Hall, London. 333 pp.
- Edwards, W.M., Shipitalo, M.J., Owens, L.B. y Dick, W.A. (1993).** Factors affecting preferential flow of water and atrazine through earthworm burrows under continuous no-till corn. *J. Environ. Qual.* 22, 453-457.
- El Pais. (2004).** Artículo publicado en el diario El Pais el 24 de Junio de 2004.
- Elvira, C., Sampedro, L., Benítez, E. y Nogales, R. (1998).** Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot scale study. *Bioresour. Technol.* 63, 211-218.
- Espinosa, S., Bosch, E., Rosés, M. y Valkó, K. (2002).** Change of mobile phase pH during gradient reversed-phase chromatography with 2,2,2-trifluoroethanol-water as mobile phase and its effect on the chromatographic hydrophobicity index determination. *J. Chromatogr. A.* 954, 77-87.
- Felsot, A.S. y Dzantor, E.K. (1990).** Enhancing biodegradation for detoxification of herbicide waste in soil. En: *Enhanced Biodegradation of Pesticides in the Environment*. K.D. Racke y J.R. Coats (Eds.). American Chemical Society, Capítulo 19, pp. 249-268.
- Fernández, M.D., Sánchez-Brunete, C. y Tadeo, J.L. (2000).** Influence of compost addition on the degradation rate of simazine and hexazinone. *Fresenius Environ. Bull.* 9, 652-658.
- Fernández, M.D., Sánchez-Brunete, C., Rodríguez, A.J. y Tadeo, J.L. (2001).** Adsorption and degradation of thiazopyr in compost-amended and non-amended soils. *Pest Manage. Sci.* 57, 560-563.
- Fiskell, J.G.A. y Pritchett, W.L. (1980).** Profile distribution of phosphate and metals in forest soils amended with garbage compost. *Soil Crop Sci. Soc. Florida Proc.* 39, 23-28.
- Fletcher, J.S., Pflieger, T.G. y Ratsch, H.C. (1993).** Potential environmental risks associated with the new sulfonylurea herbicides. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2250-2252.
- 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 of water: A field 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.
- Flynn, R.P. y Word, C.W. (1996).** Temperature and chemical changes during composting of broiler litter. *Compost Sci. Util.* 3, 62-70.
- Font, N., Hernández, F., Hogendoorn, E.A., Baumann, R.A. y van Zoonen, P. (1998).** Microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography: UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides. *J. Chromatogr. A.* 798, 179-186.
- Fontaine, D.D., Lechmann, R.G. y Miller, J.R. (1991).** Soil Adsorption of neutral and anionic forms of a sulfonamide herbicide, flumetsulam. *J. Environ. Qual.* 20, 759-762.

- 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., Ripley, B. y Clegg, B. (1990).** Contamination of rural ponds with pesticides, 1971-85, Ontario, Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 401-409.
- Fuesler, T.P. y Hanafey, M.K. (1990).** Effect of moisture on chlorimuron degradation in soil. *Weed Sci.* 38, 256-261.
- Gallardo-Lara, F. y Nogales, R. (1987).** Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: a review. *Biol. Wastes* 19, 35-62.
- Galletti, G.C., Bonetti, A. y Dinelli, G. (1995).** High-performance liquid chromatographic determination of sulfonylureas in soil and water. *J. Chromatogr. A* 692, 27-37. 530
- Gao, J.P., Maguhn, J., Spitzauer, P. y Kettrup, A. (1997).** Distribution of pesticides in the sediment of the small Teufelsweiher pond. *Water Res.* 31, 2811-2819.
- García-Gómez, A., Bernal, M.P. y Roig, A. (2005).** Organic matter fractions involved in degradation and humification processes during composting. *Compost Sci. Util.*, 127-135.
- García-Ortíz, A. y Frías, L. (1995).** El empleo del alpechín y orujos húmedos. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. pp.13.
- García-Valcárcel, A.I. y Tadeo, J.L. (1999).** Influence of soil moisture on sorption and degradation of hexazinone and simazine in soil. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3895-3900.
- Garg, P., Gupta, A. y Satya, S. (2006).** Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Bioresour. Technol.* 97, 391-395.
- Gaynor, J.D., MacTavish, D.C. y Findlay, W.I. (1992).** Surface and subsurface transport of atrazine and alachlor from a Brookston clay loam under continuous corn production. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 23, 240-245.
- Gebendinger, N. y Radosevich, M. (1999).** Inhibition of atrazine degradation by cyanazine and exogenous nitrogen in bacterial isolate M91-3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 375-381.
- Gerecke, A.C., Schärer, M., Singer, H.P., Müller, S.R., Schwarzenbach, R.P., Sägesser, M., Ochsenbein, U. y Popow, G. (2002).** Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste treatment plants – current situation and reduction potential. *Chemosphere* 48, 307-315.
- Giardina, M.C. y Buffone, R. (1977).** Pathway of initial prometryn degradation by a soil bacteria. *Chemosphere* 9, 589-594.
- Gigliotti, G., Onofri, A., Pannacci, E., Businelli, D. y Trevisan, M. (2005).** Influence of dissolved organic matter from waste material on the phytotoxicity and environmental fate of triflurosulfuron methyl. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7446-7451.
- Giles, C.H., McEwan, T.H., Nakhwa, S.N. y Smith, D. (1960).** Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *J. Chem. Soc.* 3, 3973-3993.
- Giusquiani, P.L., Marucchini, C. y Businelli, M. (1988).** Chemical properties of soils amended with compost of urban waste. *Plant Soil* 109, 73-78.
- Golod, B.I. (1968).** Formation of substances which are toxic for plants during the decomposition of straw in soil. *DOKL. AKAD. SKHA.* 133, 373-376.
- González, J.L., Benítez, I.C., Pérez, M.I. y Medina, M. (1991).** Pig-slurry composts as wheat fertilizers. *Bioresour. Technol.* 40, 125- 130.

- González, M.D., Moreno, E., Quevedo-Sarmiento, J. y Ramos-Cormenzana, A. (1990).** Studies on antibacterial activity of waste waters from olive oil mills (Alpechín): Inhibitory activity of phenolic and fatty acids. *Chemosphere* 20, 423-432.
- González-Vila, F.J., Almendros, G., Madrid, F. (1999).** Molecular alterations of organic fractions from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil. *Sci. Total Environ.* 236, 215-229.
- Gonzalez-Vila, F.J., Mancha, A., Almendros, G., Martín, F. y del Rio, J.C. (1996).** Changes in the physico-chemical characteristics and lipid composition in sediments from productive aquaculture ponds after a short-term shrimp growth experiment. *Aquaculture* 144, 121-132.
- Graber, E.R. y Borisover, M.D. (1998).** Hydration-facilitated sorption of specific interacting organic compounds by model soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 32, 258-263.
- Graber, E.R., Dror, I., Bercovich, F. C. y Rosner, M. (2001).** Enhanced transport of pesticides in a field trial with treated sewage sludge. *Chemosphere* 44, 805-811.
- Graber, E.R., Sluszny, C. y Gerstl, Z. (1997).** Influence of sludge amendment on transport and sorption ideality of s- triazines in soil columns. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2463-2469.
- Green, R.E. y Karickhoff, S.N. (1990).** Sorption estimates for modelling. En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling*. H.H. Cheng (Ed.). Soil Sci. Soc. of America, WI, Book Series no. 2, Capítulo 4, pp. 79-101.
- Green, R.E. y Yamane, V.K. (1970).** Precision in pesticide adsorption measurements. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34, 353-355.
- Greenhalgh, R. (1980).** Definition of persistence in pesticide chemistry. *Pure Appl. Chem.* 52, 2563-2566.
- Grigatti, M., Civiatta, C. y Gessa, C. (2004).** Evolution of organic matter from sewage sludge and garden trimmings during composting. *Bioresour. Technol.* 91, 163-169.
- Gutián, F. y Carballas, T. (1976).** *Técnicas de Análisis de Suelos*. Pico Sacro, Santiago de Compostela.
- 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.
- Guo, L., Bicki, T.J., Hinesly, T.D. y Felsot, A.S. (1991).** Effect of carbon-rich waste materials on movement and sorption of atrazine in a sandy, coarse-textured soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 1273-1282.
- 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. D.H. Hutson y T.R. Roberts (Eds.). John Wiley and Sons, New York, pp. 85-104.
- Hall, F.R. y Menn, J.J. (1999).** *Biopesticides. Use and Delivery*. Humana Press Inc., New Jersey, (USA). 431 pp.
- Hall, J.K., Murray, M.R. y Hartwig, N.L. (1989).** Herbicide leaching and distribution in tilled and untilled soil. *J. Environ. Qual.* 18, 439-445.
- Hamaker, J.W. y Goring, C.A.I. (1976).** Turnover of pesticide residues in soil. En: *Bound and Conjugated Pesticide Residues*. D.D. Kaufman, G.G. Still, G.D. Paulson y S.K. Bandal (Eds.). ACS American Chemical Society, Symposium Series 29, pp. 219-243.
- Hamaker, J.W. y Thompson, J.M. (1972).** Adsorption. En: *Organic Chemicals in the Environment*. C.A. Goring y J.W. Hamaker (Eds.). Marcel Dekker, New York, Capítulo 2, pp. 49-143.

- Harada, Y. e Inoko, A. (1980).** The measurement of cation-exchange capacity of composts for the estimation of degree of maturity. *Soil Sci. Plant Nutr.* 26, 123-134.
- Harris, C.I. (1967).** Fate of 2-chloro-s-triazine herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 15, 157-162.
- Hartenstein, R. (1986).** Earthworm biotechnology and global biogeochemistry. *Adv. Ecol. Res.* 15, 379-409.
- Hassett, J.J., Banwart, W.L., Wood, S.G. y Means, J.C. (1981).** Sorption of α -naphthol: Implications concerning the limits of hydrophobic sorption. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45, 38-42.
- Haworth, R.D. (1971).** The chemical nature of humic acid. *Soil Sci.*, 111, 71-79.
- Hay, J.V. (1990).** Chemistry of sulfonylurea herbicides. *Pestic. Sci.* 29, 247-261.
- Hayes, M.H.B. (1970).** Adsorption of triazine herbicides on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. *Residue Rev.* 32, 131-174.
- He, X.T., Traina, S.J. y Logan, T.J. (1992).** Chemical properties of municipal solid waste composts. *J. Environ. Qual.* 21, 318-329.
- Hemmamda, S., Calmon, M. y Calmon, J.P. (1994).** Kinetics and hydrolysis mechanism of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl. *Pestic. Sci.* 40, 71-76.
- Ho, Y.S. y McKay, G. (1999).** Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochem.* 1999, 34, 451-465.
- Hogendoorn, E.A., Dijkman, E., Baumann, B., Hidalgo, C., Sancho, J.-V. y Hernández, F. (1999).** Strategies in using analytical restricted access media columns for the removal of humic acid interferences in the trace analysis of acidic herbicides in water samples by coupled column liquid chromatography with UV detection. *Anal. Chem.* 71, 1111-1118.
- Hoitink, H.A.J. y Kuter, J.A. (1984).** Role of composts in suppression of soil-borne plant pathogens of ornamental plants. *BioCycle* 25, 40-42.
- Hultgren, R.P., Hudson, R.J.M. y Sims, G.K. (2002).** Effects of soil pH and soil water content on prosulfuron dissipation. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3236-3243.
- Hunt, P.G., Hortenstine, C.C. y Eno, C.F. (1973).** Direct and indirect effects of composted municipal refuse on plant seed germination. *Soil Crop Sci. Soc. Fl. Proc.* 32, 92-98.
- Hurle, K. y Walker, A. (1980).** Persistente and its prediction. En: *Interactions between Herbicides and the Soil*. R.J. Hance (Ed.). Academic Press, London, Capítulo 4, pp. 83-122.
- Ideal (2005).** Artículo publicado en el diario Ideal el 13 de Julio de 2005.
- Ideal (2006).** Artículo publicado en el diario Ideal el 23 de Mayo de 2006.
- Iglesias-Jiménez, E., Poveda, E., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (1997).** Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticide sorption by the soil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33, 117-124.
- Ilani, T., Schulz, E. y Chefetz, B. (2005).** Interactions of organic compounds with wastewater dissolved organic matter: role of hydrophobic fractions. *J. Environ. Qual.*, 34, 552-562.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. (1972).** Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units. Appendix II, Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry. D.H. Everett (Ed.). Butterworths, London, pp. 579-621.
- Isensee, A. y Sadeghi, A.M. (1994).** Effects of tillage and rainfall on atrazine residue levels in soil. *Weed Sci.* 42, 462-467.

- James, T.K., Holland, P.T., Rahman A. y Lu, Y.R. (1999).** Degradation of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and triasulfuron in a high-organic-matter volcanic soil. *Weed Res.* 39, 137-147.
- Jardine, P.M., Weber, N.L. y McCarthy, J.F. (1989).** Mechanism of dissolved organic carbon adsorption on soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1378-1385.
- Jarvis, N.J. (1998).** Modelling the impact of preferential flow on solute transport in soils. En: *Physical Nonequilibrium in Soils: Modeling and Applications*. H.M. Selim y L. Ma (Eds.). Ann Arbor Press, pp. 195-222.
- Joshi, M.M., Brown, H.M. y Romesser, J.A. (1985).** Degradation of chlorsulfuron by soil microorganisms. *Weed Sci.* 33, 888-893.
- Kan, A.T y Tomson, M.B. (1990).** Ground water transport of hydrophobic organic compounds in the presence of dissolved organic matter. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 253-263.
- Karickhoff, S.W. (1980).** Sorption kinetics of hydrophobic pollutants in natural sediments. En: *Contaminants and Sediments*. R.A. Baker (Ed.). Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, MI., pp. 193-205.
- Karickhoff, S.W. (1984).** Organic pollutant sorption in aquatic systems. *J. Hydraul. Eng.* 110, 707-735.
- Kaufman, D.D y Kearney, P.C. (1970).** Microbial degradation of s-triazine herbicides. *Res. Rev.* 32, 235-265.
- Kaushik, P. y Grag, V.K. (2004).** Dynamics of biological and chemical parameters during vermicomposting of solid textile mill sludge mixed with cow dung and agricultural residues. *Bioresour. Technol.* 94, 203-209.
- Kelezawa, M., Nishida, T. y Takahara, Y. (1992).** Structural characteristics of humic acids extracted from woody composts by two-step composting process. *Soil Sci. Plant Nutr.* 38, 85-92.
- Khan, A., Hassett, J.J., Banwart, W.L. y Means, J.C. (1979).** Sorption of acetophenone by sediments and soils. *Soil Sci.* 128, 297-302.
- Khan, S.U. (1980).** *Pesticides in the Soil Environment*. Elsevier, Amsterdam, 240 pp.
- Kilmer, V.J. y Alexander, L.T. (1949).** Methods of making mechanical analyses of soils. *Soil Sci.* 68, 15-24.
- Kirchmann, H. y Widen, P. (1994).** Separately collected organic household wastes. *Swed. J. Agr. Res.* 24, 3-12.
- Knuesli, E., Berrer, D. Dupuis, G. y Esser, H. (1969).** s-Triazines. En: *Degradation of Herbicides*. P.C. Kearney y D.D. Kaufman (Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York. Capítulo 2, pp 51-78.
- Kolpin, D.W., Barbash, J.E. y Gilliom, R.J. (2002).** Atrazine and metolachlor occurrence in shallow ground water of the United States, 1993-1995: Relation to explanatory factors. *J. Am. Water Resour.* 38, 301-311.
- Kontchou, C. y Gschwind, N. (1994).** Mineralization of the herbicide atrazine as a C source by a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 4297-4302.
- Kontchou, Y. y Gschwind, N. (1999).** Biodegradation of s-triazine compounds by a stable mixed bacterial community. *Ecotox. Environ. Safe.* 43, 47-56.
- Kordel, W. y Klein, M. (2006).** Prediction of leaching and groundwater contamination by pesticides. *Pure Appl. Chem.* 78, 1081-1090.
- Koskinen, W.C. y Cheng, H.H. (1983).** Effects of experimental variables on 2,4,5-T adsorption-desorption in soil. *J. Environ. Qual.* 12, 325-330.

- Koskinen, W.C. y Harper, S.S. (1990).** The retention process: Mechanisms. En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling*. H.H. Cheng (Ed.). Soil Sci. Soc. of America, WI, Book Series no. 2, Capítulo 3, pp. 51-77.
- Koskinen, W.C., Stone, D.M. y Harris, A.R. (1996).** Sorption of hexazinone, sulfometuron-methyl, and tebuthiuron on acid, low base saturated sands. *Chemosphere* 32, 1681-1686.
- Lair, D.A. y Sawhney, B.L. (2002).** Reactions of pesticides with soil minerals. En: *Soil Mineralogy with Environmental Applications*. J.B. Dixon y D.G. Schulze (Eds.). SSSA Inc., Madison, pp. 756-793.
- 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.
- 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 (British Crop Protection Council monograph) n° 62*. Walker y col. (Eds.). Farnham, Surrey, UK, pp. 217-222.
- Lee, D.-Y. y Farmer, W.J. (1989).** Dissolved organic matter interaction with napropamide and four other non-ionic pesticides. *J. Environ. Qual.* 18, 468-474.
- Lee, D.-Y., Farmer, W.J. y Aochi, Y. (1990).** Sorption of napropamide on clay and soil in the presence of dissolved organic matter. *J. Environ. Qual.* 19, 567-573.
- Lee, J.-F., Hsu, M.-H., Chao, H.-P., Huang, H.-C. y Wang, S.-P. (2004).** The effect of surfactants on the distribution of organic compounds in the soil solid/water system. *J. Hazard. Materials B* 114, 123-130.
- Leenheer, J.A y Ahlrichs, J.L. (1971).** A kinetic and equilibrium study of the adsorption of carbaryl and parathion upon soil organic matter surfaces. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 35, 700-705.
- Leistra, M. y Boesten, J.J.T.I. (1989).** Pesticides contamination of groundwater in Western Europe. *Agric. Ecosys. Environ.* 26, 369-389.
- Lesan, H.M. y Bhandari, A. (2003).** Atrazine sorption on surface soils: time-dependent phase distribution and apparent desorption hysteresis. *Water Res.* 37, 1644-1654.
- Levitt, G. (1983).** En: *Pesticide Chemistry: Human Welfare and the Environment*. Proceedings of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry. Kyoto, Japón, pp. 243-250.
- Ley 10/1998,** de 21 de Abril. De Residuos. BOE N° 96, de 22 de abril de 1998.
- Lin, C., Gu, J.-G., Qiao, C., Duan, S. y Gu, J.-D. (2006).** Degradability of atrazine, cyanazine and dicamba in methanogenic enrichment culture microcosms using sediment from the Pearl River of Southern China. *Biol. Fertil. Soils* 42, 395-401.
- Liu, J. y Qian, C. (1995).** Hydrophobic coefficients of s-triazine and phenylurea herbicides. *Chemosphere*, 31, 3951-3959.
- 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.
- Lobo, M.C. (1985).** *Biodegradación y Humificación del Sarmiento de Vid. Caracterización Agrobiológica de los Compost Obtenidos*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Logan, T.J., Eckert, D.J. y Beak, D.G. (1994).** Tillage, crop and climatic effects on runoff and tile drainage losses of nitrate and four herbicides. *Soil Tillage Res.* 30, 75-103.
- Lopes Marques, R.M. y Shoenmakers, P.J. (1992).** Modelling retention in reversed-phase liquid chromatography as a function of pH and solvent composition. *J. Chromatogr.* 592, 157-182.

- Lynch, J.M. (1993).** Substrate availability in the production of compost. En: *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. H.A.J. Hoitink y H.M. Keener (Eds.). Renaissance Publications, Ohio, pp. 24-35.
- M.A.P.A. (2000).** Anuario de Estadística Agraria Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- M.A.P.A. (2005).** Anuario de Estadística Agraria Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- M.A.P.A. (2006).** Anuario de Estadística Agraria Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Clapp, C. E. y Bloom, P. R. (1990).** An introduction to soil humic substances. En: *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings*. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, pp. 1-12.
- Mandelbaum, R.T., Allan, D.A y Wackett, L.P. (1995).** Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *App. Environ. Microbiol.* 61, 1451-1457.
- Maqueda, C., Morillo, E., Martín, F. y Undabeytia, T. (1993).** Interaction of pesticides with the soluble fraction of natural and artificial humic substances. *J. Environ. Sci. Health B* 28, 655-670.
- Martín A.I., Moumen A., Yáñez, D.R. y Molina E. (2003).** Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two stage olive cake and olive leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 107, 61-74.
- Martínez Nieto, L., Hodaifa, G., Rodríguez Vives, S., Jiménez Casares, J.A., Lozano Peña, J.L. y Muñoz Cobo, A. (2005).** Caracterización y depuración oxidativa de las aguas de lavado de aceite de aceitunas. *Actividades de Investigación y Transferencia de Tecnología. Programa de Mejora de la Calidad de la Producción de Aceite de Oliva y de Aceitunas de Mesa*. Junta de Andalucía. pp. 266-268.
- Martínez-Iñigo, M.J. y Almendros, G. (1992).** Pesticide sorption on soils treated with evergreen oak biomasa at different humification stages. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 23, 1717-1729.
- Martins, J.M. y Mermoud, A. (1998).** Sorption and degradation of four nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. *J. Contam. Hydrol.* 33, 187-210.
- Matallo, M. B., Romero, E., Sánchez Rasero, F., Peña, A. y Dios, G. (1998).** Adsorption of mecoprop and dichlorprop on calcareous and organic matter amended soils. Comparative adsorption of racemic and pure enantiomeric forms. *J. Environ. Sci. Health, B* 33, 51-66.
- Mays, M.K., Sikora, L.J., Hatton, J.W. y Lucia, S.M. (1989).** Composting as a method for hazardous waste treatment. En: *Superfund'89: Proc. 10th National Conference*. Noviembre. USEPA, Washington, pp. 289-293.
- Mazzoncini, M. y Bonari, E. (1997).** The relationship between soil tillage and herbicide dissipation. State of the art. En: *Effects of Tillage Systems on Herbicide Dissipation*. M. Borin, L. Sartori, C. Giupponi, M. Mazzoncini, R.-A. Düring y G. Basch (Eds.) Commission of the European Communities, pp. 3-16.
- McDowell, W.H. y Word, T. (1984).** Podsolization: Soil processes control dissolved organic carbon concentrations in stream water. *Soil Sci.* 137, 23-32.
- Menne, H.J., Janowitz, K. y Berger, B.M. (1999).** Comparison of capillary electrophoresis and liquid chromatography for determination of sulfonylurea herbicides in soil. *J. AOAC Int.* 2, 1534-1541.

- Menniti, C., Cambon, J.-P. y Bastide, J. (2003).** Soil transformation of prosulfuron. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3525-3527.
- Mersie, W. y Foy, C.L. (1986).** Adsorption, desorption, and mobility of chlorsulfuron in soils. *J. Agric. Food Chem.* 34, 89-92
- Métodos Oficiales de Análisis (Tomo III). (1986).** Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Dirección General de Política Alimentaria. Secretaría General Técnica Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Michael, J.L. y Neary, D.G. (1993).** Herbicide dissipation studies in southern forest ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 12, 405-410.
- Miikki, V., Senesi, N. y Hanninen, K. (1997).** Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. Part 2: Spectroscopic evaluation of humic acid structures. *Chemosphere.* 34, 1639-1651.
- Millner, P.D., Olenchock, S.A., Epstein, E., Rylander, R., Haines, J., Walker, J., Ooi, B.L., Horne, E. y Maritato, M. (1994).** Bioaerosols associated with composting facilities. *Compost Sci. Util.* 2, 6-57.
- Mingelgrin, U. y Gerstl, Z. (1983).** Reevaluation of partitioning as a mechanism of nonionic chemicals adsorption in soils. *J. Environ. Qual.* 12, 1-11.
- Molina Alcaide E., Yáñez Ruiz D.R., Moumen A. y Martín García I. (2003).** Chemical composition and nitrogen availability for goats and sheep of some olive by-products. *Small Ruminant Res.* 49, 329-336.
- Molina Alcalde, E., Nogales, R., Martín, A.I., Yáñez, D.R. y Moumen, A. (2001).** Reutilización de los orujos procedentes de las nuevas tecnologías de extracción en dos fases del aceite de oliva de aceituna en alimentación de rumiantes. En: *I Encuentro Internacional de Gestión de Residuos Orgánicos en el Ámbito Rural Mediterráneo*. Febrero, Pamplona (España).
- Moorman, T.B., Cowan, J.K., Arthur, E.L. y Coats, J.R. (2001a).** Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biol. Fertil. Soils* 33, 541-545.
- Moorman, T.B., Jayachandran, K. y Reugsang, A. (2001b).** Adsorption and desorption of atrazine in soils and subsurface sediments. *Soil Sci.* 166, 921-929.
- Moreale, A. y van Bladel, R. (1979).** Soil interactions of herbicide-derived aniline residues: a thermodynamic approach. *Soil Sci.* 127, 1-9.
- Morillo, E., Maqueda, C., Reinoso, R. y Undabeytia, T. (2002).** Effect of two organic amendments on norflurazon retention and release by soils of different characteristics. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 4319-4325.
- Morrica, P., Barbato, F., Giordano, A., Seccia, S. y Ungaro, F. (2000).** Adsorption and desorption of imazosulfuron by soil. *J. Agric. Food Chem.* 48, 6132-6137
- Morrica, P., Fidente, P., Seccia, S. y Ventriglia, M. (2002).** Degradation of imazosulfuron in different soils – HPLC determination. *Biomed. Chromatogr.* 16, 489-494.
- Mougin, C., Laugero, C., Esther, M. y Chaplain, V. (1997).** Biotransformation of s-triazines herbicides and related degradation products in liquid cultures by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Pest. Sci.* 49, 169-177.
- Muller, R. y Gooch, P.S. (1982).** Organic amendments in nematode control. An examination of the literature. *Nematropica* 12, 319-326.
- Müller-Wegener, U. (1988).** Interaction of humic substances with biota. En: *Humic Substances and their Role in the Environment*. F.H. Frimmel y R.F. Christman (Eds.). Wiley & Sons, Chichester, pp. 179-192.

- Namkoong, W., Hwang, E.Y., Cheong, J.G. y Choi, J.Y. (1999).** A comparative evaluation of maturity parameters for food waste composting. *Compost Sci. Util.* 7, 55-62.
- Nannipieri, P., Grego, S. y Ceccanti, B. (1990).** Ecological significance of the biological activity in soil. En: *Soil Biochemistry*. Vol. 6. J.-M. Bollag y G. Stotzky (Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y., pp. 293-355.
- Navarro, S., Barba, A., Segura, J.C. y Oliva, J. (2000).** Disappearance of endosulfan residues in seawater and sediment under laboratory conditions. *Pest Manage. Sci.* 56, 849-854.
- Navarro, S., Vela, N., García, C. y Navarro, G. (2003).** Persistence of simazine and terbuthylazine in a semiarid soil after organic amendment with urban sewage sludge. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7359-7365.
- Nicholls, P.H. y Evans A.A. (1991).** Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 1: Acids. *Pestic. Sci.* 33, 319-330
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E. y Gallardo-Lara, F. (1995).** Uso agrícola de compost y vermicompost de basuras urbanas (I): Procesos, madurez y calidad de los productos. *Residuos* 26, 53-57.
- Nogales, R., Thompson, R., Calmet, A., Benítez, E., Gómez, M. y Elvira, C. (1998).** Feasibility of vermicomposting residues from oil production obtained using two stages centrifuge. *J. Environ. Sci. Health A* 33, 1491-1506.
- Normativa del Reino de España,** Orden Ministerial de 2 de junio de **1998**, sobre productos fertilizantes y afines.
- Normativa del Reino de España,** Orden Ministerial del 2 de noviembre de **1999**, sobre productos fertilizantes y afines
- OECD Guidelines for Testing Chemicals. (1996).** Adsorption/desorption using a batch equilibration method. Guideline No. 106.
- Okamoto, Y., Fisher, R.L., Armbrust, K.L. y Meter, C.J. (1998).** Surface water monitoring survey for bensulfuron methyl applied in paddy fields. *Pestic. Sci.* 23, 235-240.
- Oliveira, R.S., Jr., Koskinen, W.C. y Ferreira, F.A. (2001).** Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Res.* 41, 97-119.
- Ozores-Hampton, M., Schaffer, B., Bryan, H.H. y Hanlon, E.A. (1994).** Nutrient concentrations, growth and yield of tomato and squash in municipal solid-waste-amended soil. *HortScience* 29, 785- 788.
- Ozores-Hampton, M., Stansly, P.A. y Obreza, T.A. (2005).** Heavy metal accumulation in a sandy soil and in pepper fruit following long-term application of organic amendments. *Compost Sci. Util.* 13, 60 -64
- Pacáková, V., Stulík, K. y Jiskra, J. (1996).** High-performance separation in the determination of triazine herbicides and their residues. *J. Chromatogr. A* 754, 17-31.
- Pare, T., Gregorich, E.G. y Diné, H. (1997).** Effects of stockpiled and composted manures on germination and initial growth of cress (*Lepidium sativum*). *Biol Agric Hort.* 14, 1-11.
- Paredes, C., Bernal, M.P., Cegarra, J. y Roig, A. (2002).** Bio-degradation of olive mill wastewater sludge by its co-composting with agricultural wastes. *Bioresour. Technol.* 85, 1-8.
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M.P., Sánchez -Monedero, M. A. y Cegarra, J. (2000).** Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biol. Fert. Soils.* 32, 222-227.
- Parras M. y Torres F.J. (1994).** La domanda di olio di oliva vergine nel mercato spagnolo: aspettidel mercato del consumatore. *Olivae* 54, 22-32.

- Pascual, J.A., Ayuso, M. García, C. y Hernández, M.T. (1997).** Characterization of urban wastes according to fertility and phytotoxicity parameters. *Waste Manage Res* 15, 103-112.
- Pavlostathis, S.G. y Mathavan, G.N. (1992).** Desorption kinetics of selected volatile organic compounds from field contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* 26, 532-538.
- Payá-Pérez, A.B., Cortés, A., Sala, M.N. y Larsen, B. (1992).** Organic matter fractions controlling the sorption of atrazine in sandy soils. *Chemosphere* 25, 887-898.
- Phae, C.G., Sasaki, Shoda, M. y Kubota, H. (1990).** Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganisms. *Soil Sci. Plant Nutr.* 36, 575-586.
- Piccolo, A. Nardo, S. y Concheri, G. (1996).** Macromolecular changes of humic substances induced by interactions with organic acids. *Eur. J. Soil Sci.* 47, 319-328.
- Piccolo, A., Conte, P., Scheunert, I. y Paci, M. (1998).** Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. *J. Environ. Qual.* 27, 1324-1333.
- Pichon, V. (2000).** Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *J. Chromatogr. A* 885, 195-215.
- Pignatello, J.J. y Huang, L.Q. (1991).** Sorptive reversibility of atrazine and metalochlor residues in field soil samples. *J. Environ. Qual.* 20, 222-228.
- Pimentel, D. y Greiner, A. (1997).** Environmental and socio-economic costs of pesticide use. En: *Techniques for Reducing Pesticide Use: Economic and Environmental Benefits*. D. Pimentel (Ed.). John Wiley and Sons, Chichester, Capítulo 4, pp. 51-78.
- Pimentel, D., Mc Laughlin, L., Zepp, A., Lakitan, B., Graus, T., Kleinman, P., Vancini, F., Roach, V.J., Graap, E., Keeton, W.S. y Selig, G. (1991).** Environmental and economic impacts of reducing US agricultural pesticide use. En: *Handbook on Pest Management in Agriculture*. D. Pimentel (Ed.). CRC Press, Boca Raton, FLA, EEUU, pp. 679-718.
- 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.
- Pionke, H.B. y DeAngelis, R.J. (1980).** Method for distributing pesticide loss in field runoff between the solution and adsorbed phase. En: *CREAMS, A Field Scale Model for Chemicals, Runoff and Erosion from Agricultural Management Systems*. USDA Conservation Res. Rep. 26. USDA, SEA, Washington, DC, pp. 607-643.
- Piper, C.S. (1950).** Soil and plant analysis. En: *A Laboratory Manual of Methods for the Examination of Soils and the Determination of the Inorganic Constituents of Plants*. C.S. Piper (Ed.). Interscience Publishers. Inc., New York., pp. 197-201.
- Porta, J., López-Acevedo, M. y Roquero, C. (2003).** *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. 3ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 929 pp.
- Portal, J.M., Pillon, P., Jeanson, P. y Gerard, B. (1986).** Oxygen-containing functional groups in land-derived humic acids. I. Evaluation by derivatization methods. *Org. Geochem.* 9, 305-311.
- Powley, C.R. y de Bernard, P.A. (1998).** Screening method for nine sulfonylurea herbicides in soil and water by liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Agric. Food Chem.* 46, 514-519.
- Primo Yúfera, E. y Carrasco Dorrién, J.M. (1977).** *Química Agrícola. II. Plaguicidas y Fitorreguladores*. Alhambra, Madrid, 639pp.
- Pusino, A., Fiori, M.G., Braschi, I. y Gessa, C. (2003).** Adsorption and desorption of triasulfuron by soil. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5350-5354.

- Pusino, A., Petretto, S. y Gessa, C. (1997).** Adsorption and desorption of imazapyr by soil. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1012-1016.
- Pusino, A., Petretto, S. y Gessa, C. (2004a).** Sorption of primisulfuron on soil, and inorganic and organic soil colloids. *Eur. J. Soil Sci.* 55, 175-182.
- Pusino, A., Pinna, M.V. y Gessa, C. (2004b).** Azimsulfuron sorption-desorption on soil. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3462-3466.
- Qualls, R.G. y Haynes, B.L. (1991).** Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55, 1112-1123.
- Rao, P.S.C., Davidson, J.M., Jessup, R.E. y Selim, H.M. (1979).** Evaluation of conceptual models for describing nonequilibrium adsorption-desorption of pesticides during steady-flow in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 22-28.
- Ravelli, A., Pantani, O., Calamai, L. y Fusi, P. (1997).** Rates of chlorsulfuron degradation in three Brazilian oxisols. *Weed Res.* 37, 51-59.
- Ray, T.B. (1982).** The mode of action of chlorsulfuron: a new herbicide for cereals. *Pestic. Biochem. Phys.* 17, 10-17.
- Real Decreto 3349/83,** de 30 de Noviembre de 1983. Reglamento técnico-sanitario para la fabricación y utilización de plaguicidas. BOE Nº 20, de 24 de Enero de 1987.
- Real Decreto 569/1990,** de 27 de abril de 1990. Relativo a la fijación de contenidos máximos para los residuos de plaguicidas sobre y en los productos alimenticios de origen animal. BOE Nº 111, de 9 de Mayo de 1990.
- Reglamento Comunitario 396/2005,** de 23 de Febrero de 2005. Relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. DOCE Nº L70, de 16 de Marzo de 2005.
- Richerson, H.B. (1994).** Hypersensitivity pneumonitis. En: *Organic Dusts: Exposure, Effects and Prevention.* R. Rylander y R.R. Jacobs (Eds.). Lewis Publishers, Chicago, pp. 139-160.
- Riffaldi, R. y Levi-Minzi, R. (1983).** Osservazioni preliminari sul ruolo dell'*Eisenia foetida* nell'umificazione del letame. *Agrochimica*, 23, 271-274.
- Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Saviozzi, A. y Benetti, A. (1998).** Adsorption on soil of dissolved organic carbon from farmyard manure. *Agr. Ecosyst. Environ.* 69, 113-119. (225)
- Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Saviozzi, A. y Viti, G. (1997).** Carbon mineralization potential of soils amended with sludge from olive processing. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58, 30-37. (224)
- Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Saviozzi, A., Vanni, G. y Scagnozzi, A. (1993).** Effect of the disposal of sludge from olive processing on some soil characteristics: Laboratory experiments. *Water Air Soil Pollut.* 69, 257-264.
- Romero Taboada, E., Barifouse Matallo, M., Sánchez Rasero, F., Peña Heras, A., de la Colina González, C. y Dios Cancela, G. (1997).** Fate of methabenzthiazuron in calcareous soils from southeastern Spain. *J. Environ. Qual.* 26, 39-41.
- Romero Taboada, E., Dios Cancela, G., Peña Heras, A. y Sánchez Rasero, F. (2000).** Methods for the determination of pesticide adsorption on soils and their constituents. En: *Pesticide/Soil Interactions. Some Current Research Methods.* J. Cornejo y P. Jamet (Eds.). Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, pp. 199-205.
- Romero, E., Dios, G., Mingorance, M., 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.

- Rosenfeld, A. y Kak, A.C. (1982).** *Digital Picture Processing*. Vol I. Academic Press, New York.
- Roth, K., Jury, W.A., Flühler, H. y Attinger, W. (1991).** Transport of chloride through an unsaturated field soil. *Water Resour. Res.* 27, 2533-2541.
- Rouchaud, J., Neus, O., Callens, D. y Bulcke, R. (1997).** Soil metabolism of the herbicide rimsulfuron under laboratory and field conditions. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3283-3291.
- Rynk, R., van de Kamp, M., Wilson, G.B., Singley, M.E., Richard, T.L., Colega, J.L., Gouin, F.R., Laliberty, L. Jr. y col. (1992).** *On Farm Composting Handbook*. New York, Cornell University, 166 pp.
- Sabadie, J. (1990).** Hydrolyse chimique acide du metsulfuron methyl. *Weed Res.* 30, 413-419.
- Sabadie, J. (1995).** Alcoolise et hydrolyse chimique acide du chlorimuron ethyl. *Weed Res.* 35, 33-40.
- Sabadie, J. (1996).** Alcoolysis and chemical hydrolysis of bensulfuron-methyl. *Weed Res.* 36, 441-448.
- Sabadie, J. (1997).** Degradation of bensulfuron-methyl on various mineral and humic acids. *Weed Res.* 37, 411-418.
- Sabey, B.R. y Hart, W.E. (1975).** Land application of sewage sludge. I. Effect on growth and chemical composition of plants. *J. Environ. Qual.* 4, 252-256.
- Sabine, J.R. (1988).** Earthworms as animal feed: an overview. En: *Earthworms in Waste and Environmental Management*. C. A. Edwards y E. F. Neuhauser (Eds). SPB Academic Publishing BV, La Haya, pp. 165-167.
- Sadeghi, A.M. e Isensee, A.R. (1997).** Alachlor and cyanazine persistence in soil under different tillage and rainfall regimes. *Soil Sci.* 162, 430-438.
- Said-Pullicino, D., Gigliotti G. y Vella, A.J. (2004).** Environmental fate of triasulfuron in soils amended with municipal waste compost. *J. Environ. Qual.* 33, 1743-1751.
- Sánchez Monedero, M.A., Cegarra, J., García, D. y Roig, A. (2002).** Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation* 13, 361-371.
- Sánchez Moreno, L. (2002).** *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. Estudio de los Procesos que la Rigen*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada. 310 pp.
- Sánchez, L., Mingorance, M.D. y Peña, A. (2004).** Chemical and physical factors affecting the extractability of methidathion from soil samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 764-769.
- Sánchez, L., Peña, A., Sánchez Rasero, F. y Romero, E. (2003a).** Methidathion degradation in a soil amended with biosolid and a cationic surfactant. Use of different kinetic models. *Biol. Fertil. Soils* 37, 319-323.
- Sánchez, L., Romero, E., Castillo, A. y Peña, A. (2006).** Field study of methidathion in soil amended with biosolid and a cationic surfactant under different irrigation regimes. Solute transport modelling. *Chemosphere* 63, 616-625.
- Sánchez, L., Romero, E., Sánchez-Rasero, F., Dios, G. y Peña, A. (2003b).** Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Manage. Sci.* 59, 857-864.
- Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (1991).** Relationship between the structure of organophosphorus pesticides and adsorption by soil components. *Soil Sci.* 152, 283-288.

- Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J., García, D. y Roig, A. (2002).** Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation* 13, 361-371.
- Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., Cegarra, J. y Bernal, M.P. (1999).** Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting. *Biores. Technol.* 13, 361-371.
- Sarmah, A.K. y Sabadie, J. (2002).** Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: a review. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6253-6265.
- Sarmah, A.K., Kookana, R. S. y Alston, A. M. (1999).** Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soils under laboratory conditions. *Weed Res.* 39, 83-94.
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., Biasci, A. y Riffaldi, R. (2001).** Suitability of moist olive pomace as soil amendment. *Water Air Soil Poll.* 128, 13-22.
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R. y Vanni, G. (1997).** Role of chemical constituents of wheat straw and pig slurry on their decomposition in soil. *Biol. Fertil. Soils* 25, 401-406.
- Scheunert, I. (1992).** Physical and physicochemical processes governing the residue behaviour of pesticides in terrestrial ecosystems. En: *Chemistry of Plant Protection. Vol. 8: Terrestrial Behaviour of Pesticides.* W. Ebing (Ed.). Springer Verlag, Berlin, pp. 1-22.
- Schnitzer, M. (1978).** Humic substances: chemistry and reactions. En: *Soil Organic Matter.* M. Schnitzer y S.U. Khan (Eds.). Elsevier, Amsterdam, pp. 1-64.
- Schnitzer, M. (1991).** Soil organic matter – The next 75 years. *Soil Sci.* 151, 41-58.
- Schnitzer, M. y Khan, S.U. (1972).** *Humic Substances in the Environment.* Marcel Dekker: New York, 327 pp.
- Schoenmakers, P.J. y Tijssen, R. (1993).** Modelling retention of ionogenic solutes in liquid chromatography as a function of pH for optimization purposes. *J. Chromatogr. A* 656, 577-590.
- Schroll, R., Dörfler, U. y Schneuert, I. (1999).** Volatilization and mineralization of ¹⁴C-labelled pesticides on lysimeter surfaces. *Chemosphere* 39, 595-602.
- Senesi, N. (1989).** Composted material as organic fertilizers. *Sci. Total Environ.* 81/82, 521-542.
- Senesi, N. (1992).** Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci. Total Environ.* 123/124, 63-76.
- Senesi, N. y Chen, Y. (1989).** Interactions of toxic organic chemicals with humic substances. En: *Toxic Organic Chemicals in Porous Media.* Z. Gerstl, Y. Chen, U. Mingelgrin y B. Yaron (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 37-90.
- Sequeiros, L., Méndez, M. y Sousa, M. (1995).** Tecnología de obtención de aceite de oliva por dos fases. seguimiento y situación actual en Andalucía. *Tecnoambiente*, Julio, 59-62.
- Serra-Wittling, C., Houot, S. y Barriuso, E. (1995).** Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost. *Biol. Fertil. Soils* 20, 226-236.
- Shapir, N. y Mandelbaum, R. (1997).** Atrazine degradation in subsurface soil by indigenous and introduced microorganisms. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4481-4486.
- Shea, P.J. (1986).** Chlorsulfuron dissociation and adsorption on selected adsorbents and soils. *Weed Sci.* 34, 474-478.
- Shipitalo, M.J., Edwards, W.M., Dick, W.A. y Owens, L.B. (1990).** Initial storm effects on macropore transport of surface-applied chemicals in no-till soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 1530-1536.

- Simoneit, B.R.T. y Mazurek, M.A. (1982).** Organic matter of the troposphere. II. Natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States. *Atmos. Environ.* 16, 2139-2159.
- Singh, N., Kloeppel, H. y Klein, W. (2001).** Sorption behaviour of metolachlor, isoproturon and terbuthylazine in soils. *J. Environ. Sci. Health B* 36, 397-407.
- Sirons, G.J., Frank, R. y Sawyer, T. (1973).** Residues of atrazine, cyanazine and their phytotoxic metabolites in a clay loam soil. *J. Agric. Food. Chem.* 21, 1016-1020.
- Skark, C. y Zulleiseibert, N. (1995).** The occurrence of pesticides in groundwater – result of case studies *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 58, 387-396.
- Sluszny, C., Graber, E. R. y Gerstl, Z. (1999).** Sorption of s-triazine herbicides in organic matter amended soils: fresh and incubated systems. *Water Air Soil Poll.* 115, 395-410.
- Smith, A.E. (1995).** A review of analytical methods for sulfonylurea herbicides in soil. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 59, 97-106.
- Smith, C.A., Iwata, Y. y Gunther, F.A. (1978).** Conversion and disappearance of methidathion on thin layers of dry soil. *J. Agric. Food Chem.* 26, 959-962.
- Soil Conservation Service. (1972).** *Soil Survey Laboratory Methods and Procedures for Collecting Soil Samples.* USDA. Washington, D.C.
- Solbraa, K. (1979).** Composting of bark. IV. Potential growth reducing compounds and elements in bark. *Meddelelser fra Norsk Institutt for Skogforskning*, 443-508.
- Spacie, A. y Hamelink, J.L. (1985).** Bioaccumulation. En: *Fundamentals of Aquatic Toxicology.* G.M. Rand y S.R. Petrocelli (Eds.). Hemisphere Publishing, Washington, DC, pp. 495-525.
- Spark, K.M. y Swift, R.S. (1994).** Investigation of the interaction between pesticides and humic substances using fluorescence spectroscopy. *Sci. Total Environ.* 152, 9-17.
- Spark, K.M. y Swift, R.S. (2002).** Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Sci. Total Environ.* 298, 147-161.
- 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.
- Stevenson, F.J. (1972).** Reviews and analyses. Organic matter reactions involving herbicides in soil. *J. Environ. Qual.* 1, 333-343.
- Stevenson, F.J. (1982).** *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions.* John Wiley & Sons. 443 pp.
- Stork, P.R. (1995).** Field leaching and degradation of soil applied herbicides in a gradationally textured alkaline soil: chlorsulfuron and triasulfuron. *Aust. J. Agric. Res.* 46, 1445-1458.
- Stratton, M.L., Barker A.V. y Rechcigl, J.E. (1995).** Compost. En: *Soil Amendments and Environmental Quality.* J.E. Rechcigl (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida, Capítulo 3, pp. 249-309.
- Strek, H. J. (1998b).** Fate of chlorsulfuron in the environment. 2. Field evaluations. *Pestic. Sci.* 53, 52-70.
- Strek, H.J. (1998a).** Fate of chlorsulfuron in the environment. 1. Laboratory evaluations. *Pestic. Sci.* 53, 29-51.
- Struthers, J.K., Jayachandran, K. y Moorman, T.B. (1998).** Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3368-3375.

- Taylor, A.W. (1995).** The volatilization of pesticide residues. En: *Environmental Behaviour of Agrochemicals*. T.R. Roberts y P.C. Kearney (Eds.) J. Wiley & Sons, Chichester, UK, pp. 257-306.
- Tejada, M., Ruiz, J.L., Dobao, M. Benítez, C. y González, J.L. (1997).** Evolución de los parámetros físicos de un suelo tras la adición de distintos tipos de orujos de aceituna. *Actas Horticult.* 18, 514-518.
- Thirunarayanan, K., Zimdahl, R.L. y Smika, D.E. (1985).** Chlorsulfuron adsorption and degradation in soil. *Weed Sci.* 33, 558-563.
- Tiquia, S.M. (2005).** Microbiological parameters as indicators of compost maturity. *J. Appl. Microbiol.* 99: 816-828.
- Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y. y Hodgkiss, I.J. (1996).** Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Bioresour. Technol.* 55, 201-206.
- Tomati, U., Galli, E., Pasetti, L. y Volterra, E. (1995).** Bioremediation of olive-mill wastewaters by composting. *Waste Manage. Res.* 13, 509-518.
- Tomati, U., Grappelli, A. y Galli, E. (1987).** The presence of growth regulators in earthworm-worked wastes. En: *Earthworm*. A. M. Bonvicini (Ed). Cool. U.Z.I. Sel. Symp. Mon., 2, Mucchi Ed., Modena. pp. 423-435.
- Tomlin, C.D.S. (2003).** *The Pesticide Manual*, 13 edn. British Crop Protection Council, Alton, Hampshire, UK, 1344 pp.
- Travis, C.C. y Etnier, E.L. (1981).** A survey of sorption relationship for reactive solutes in soil. *J. Environ. Qual.* 10, 8-17.
- Tsutsuki, K. y Kuwatsuka, S. (1978).** Chemical studies on soil humic acids. II. Composition of oxygen-containing functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* 24, 547-560.
- Tuominen, L., Kairesalo, T. y Hartikainen, H. (1994).** Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 3454-3457.
- Turin, H.J. y Bowman R.S. (1997).** Sorption behavior and competition of bromacil, napropamide, and prometryn. *J. Environ. Qual.* 26, 1282-1287.
- Turin, H.J. y Bowman, R.S. (1993).** A solid-phase extraction based soil extraction method for pesticides of varying polarity. *J. Environ. Qual.* 22, 332-334.
- Uceda, M. Hermoso, H. y González, J. (1995).** Evolución de la tecnología del aceite de oliva, nuevos sistemas ecológicos: Ensayos y conclusiones. *Alimentación, Equipos Y Tecnología.* 5, 93-98.
- Ureña-Amate, M.D., Socías-Viciano, M., González- Pradas, E. y Saifi, M. (2005).** Effects of ionic strength and temperature on adsorption of atrazine by a heat treated kerolite. *Chemosphere* 59, 69-74.
- Farmer, V.C. (1974).** The layer silicates. En: *The Infrared spectra in minerals*. Farmer, V.C. (Eds.). Mineralogical Society, Londres. pp. 331-365.
- Valiente, C., Arrigoni, E., Corrales, J.R., Esteban, R.M. y Amadó, R. (1995).** Composición de la fibra alimentaria en el orujo de aceituna. Aminoácidos asociados a la fibra insoluble, soluble y total. *Grasas y Aceites* 46, 98-102.
- Veeken, A., Nierop, K., de Wilde, V. y Hamelers, B. (2000).** Characterization of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste. *Bioresour. Technol.* 72, 33-41.
- Vega, D., Bastide, J. y Poulain, C. (1992).** Dégradation chimique ou microbiologique des sulfonilurées dans le sol. II. Cas du metsulfuron méthyle. *Weed Res.* 32, 149-155.
- Vega, D., Cambon, J.P. y Bastide, J. (2000).** Trisulfuron-methyl dissipation in water and soil. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3733-3737.

- Vela, N., Navarro, G., Jiménez, M.J. y Navarro, S. (2004).** Gradual fall of s-triazine herbicides in drinking and wastewater samples as influenced by light and temperature. *Water, Air Soil Pollut.* 158, 3-19.
- Velthorst, E., Nakken-Brameijer, N. y Mulder, J. (1999).** Fractionation of soil organic matter. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 73, 237-251.
- Vigh, G., Varga-Puchony, Z. y Bartha, A. (1982).** Retention behaviour of acetyl-indandiones in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 241, 169-176.
- Vlyssides, A.G., Loizides, M. y Karlis, P.K. (2004).** Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *J. Cleaner Prod.* 12, 603-611.
- Wagner, G.H. y Stevenson, F.J. (1965).** Structural arrangement of functional groups in soil humic acid as revealed by infrared analyses. *Soil Sci. Soc. Proc.* 29, 43-48.
- Walker, A., Cotterill, E.G. y Welch, S.J. (1989).** Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soils from different depths. *Weed Res.* 29, 281-287.
- Walkley, A. (1947).** A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63, 251-264.
- Walkley, A. y Black, I.A. (1934).** An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29-38.
- Wauchope R.D., Yeh, S., Linders, J.B.H.J., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B., Katayama, A., Kördel, W., Gerstl, Z., Lane, M. y Unsworth, J.B. (2002).** Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Manage. Sci.* 58, 419-445.
- Wauchope, R.D. (1978).** The pesticide content of surface water draining from agricultural fields – a review. *J. Environ. Qual.* 7, 459-472.
- Wauchope, R.D. y Koskinen, W.C. (1983).** Adsorption-desorption equilibria of herbicides in soil: A thermodynamic perspective. *Weed Sci.* 31, 504-512.
- Wauchope, R.D. y Myers, R.S. (1985).** Adsorption-desorption kinetics of atrazine and linuron in fresh water-sediment aqueous slurries. *J. Environ. Qual.* 14, 132-136.
- Weber, J.B. (1986).** Herbicide mobility in soil leaching columns. En: *Research Methods in Weed Science*. N.D. Camper (Ed.). Southern Weed Science Society, Champaign, IL, pp. 174-179.
- Weber, J.B., Shea, P.H. y Weed, S. B. (1986).** Fluridone retention and release in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 582-588.
- Weber, W.J., Jr. (1972).** *Physicochemical Processes for Water Quality Control*. Wiley Interscience, New York, 640 pp.
- 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.
- Wershaw, R.L. (1985).** Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining functionality in humic substances. En: *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*. R.G. Aiken, D.M. McKnight, R.L. Wershaw y P. MacCarthy (Eds.). Wiley & Sons, New York, pp. 561-582.
- Wershaw, R.L. (1989).** Application of a membrane model to the sorptive interactions of humic substances. *Environ. Health Perspect.* 83, 191-203.

- Williams, R.T. y Keehan, K.R. (1993).** Hazardous and industrial waste composting. En: *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. H.A.J. Hoitink y H.M. Keener (Eds.). Renaissance Publications, Ohio, EEUU, pp. 363-375.
- Wolf, D.C., Dao, T.H., Scott, H.D. y Lavy, T.L. (1989).** Influence of sterilization methods on 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*. H.H. Cheng (Ed.) SSSA Book Series: 2. Capítulo 5, pp 103-169.
- Woodbury, P.B. (1992).** Trace elements in municipal solid waste composts: a review of potential detrimental effects on plants, soil biota, and water quality. *Biomass Bioenerg.* 3, 239-259.
- Xing, B., Pignatello, J.J. y Gigliotti, B. (1996).** Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. *Environ. Sci. Technol.* 30, 2432-2440.
- 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.
- Zahnow, E.W. (1982).** Analysis of the herbicide chlorsulfuron in soil by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 30, 854-857.
- Zbytniewski, R. y Buszewski, B. (2002).** Sorption of pesticides in soil and compost. *Polish J. Environ. Studies* 11, 179-184.
- Zhang, Z.L., Hong, H.S., Zhou, J.L. y Yu, G. (2002).** Occurrence and behaviour of organophosphorus insecticides in the River Wuchuan, southeast China. *J. Environ. Monit.* 4, 498-504.
- Zimdahl, R., Cranmer, B.K. y Stroup, W. (1994).** Use of empirical equations to describe dissipation of metribuzin and pendimethalin. *Weed Sci.* 42, 241-248.

ANEXO I



Tabla 1. Nomenclatura, contenido de carbono orgánico y pH de las muestras de suelo de olivar sin incubar.

MUESTRA	NOMENCLATURA	CO (%)	pH
SIN INCUBACIÓN			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
Suelo de olivar	SO	2,14 ± 0,08	7,9 ± 0,09
Suelo de olivar + alperujo	SOA	4,85 ± 0,34	7,13 ± 0,14
Suelo de olivar + compost	SOC	3,75 ± 0,16	7,88 ± 0,14
Suelo olivar + vermicompost	SOV	3,59 ± 0,09	7,75 ± 0,16
SIN HIDROSOLUBLE			
Suelo de olivar	SO _h	2,74 ± 0,08	
Suelo de olivar + alperujo	SOA _h	4,63 ± 0,25	
Suelo de olivar + compost	SOC _h	3,53 ± 0,16	
Suelo olivar + vermicompost	SOV _h	3,71 ± 0,11	
SIN HIDROSOLUBLE Y SIN LÍPIDOS			
Suelo de olivar	SO _{hlip}	2,14 ± 0,08	
Suelo de olivar + alperujo	SOA _{hlip}	4,38 ± 0,25	
Suelo de olivar + compost	SOC _{hlip}	3,53 ± 0,16	
Suelo olivar + vermicompost	SOV _{hlip}	3,70 ± 0,11	
SIN HIDROSOLUBLE, SIN LÍPIDOS Y SIN AH, NI AF			
Suelo de olivar	SO _{HF}	1,34 ± 0,18	
Suelo de olivar + alperujo	SOA _{HF}	3,25 ± 0,36	
Suelo de olivar + compost	SOC _{HF}	2,77 ± 0,16	
Suelo olivar + vermicompost	SOV _{HF}	2,81 ± 0,22	
SIN INCUBACIÓN			
DOSIS BAJA (50 t ha⁻¹)			
Suelo de olivar			
Suelo de olivar + alperujo	SOAB	2,63 ± 0,10	
Suelo de olivar + compost	SOCB	2,52 ± 0,01	
Suelo olivar + vermicompost	SOVB	2,53 ± 0,06	

Tabla 2. Nomenclatura, contenido de carbono orgánico y pH de las muestras de suelo de olivar incubado 1, 2 y 3 meses.

MUESTRA	NOMENCLATURA	CO (%)	pH
CON INCUBACIÓN			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
INCUBADO 1 MES			
Suelo de olivar	SO-1	2,10 ± 0,12	
Suelo de olivar + alperujo	SOA-1	4,73 ± 0,18	
Suelo de olivar + compost	SOC-1	3,49 ± 0,14	
Suelo olivar + vermicompost	SOV-1	3,55 ± 0,10	
INCUBADO 2 MESES			
Suelo de olivar	SO-2	2,03 ± 0,05	
Suelo de olivar + alperujo	SOA-2	4,56 ± 0,29	
Suelo de olivar + compost	SOC-2	3,30 ± 0,17	
Suelo olivar + vermicompost	SOV-2	3,44 ± 0,06	
INCUBADO 3 MESES			
Suelo de olivar	SO-3	1,89 ± 0,06	7,65 ± 0,11
Suelo de olivar + alperujo	SOA-3	3,54 ± 0,22	7,55 ± 0,10
Suelo de olivar + compost	SOC-3	3,25 ± 0,04	7,70 ± 0,12
Suelo olivar + vermicompost	SOV-3	3,33 ± 0,05	7,62 ± 0,10

Tabla 3. Nomenclatura, contenido de carbono orgánico y pH de las muestras de suelo de la vega sin incubar e incubado durante tres meses.

MUESTRA	NOMENCLATURA	CO(%)	pH
SIN INCUBACIÓN			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
Suelo de la vega	S	1,23 ± 0,03	8,06 ± 0,09
Suelo de vega + alperujo	SA	4,76 ± 0,03	7,31 ± 0,08
Suelo de vega + compost	SC	2,65 ± 0,11	8,24 ± 0,18
Suelo vega + vermicompost	SV	2,85 ± 0,03	8,00 ± 0,14
SIN HIDROSOLUBLE			
Suelo de la vega	S _h	1,23 ± 0,03	8,13 ± 0,07
Suelo de vega + alperujo	SA _h	3,99 ± 0,23	8,16 ± 0,13
Suelo de vega + compost	SC _h	2,57 ± 0,11	8,06 ± 0,12
Suelo vega + vermicompost	SV _h	2,80 ± 0,04	8,06 ± 0,08
SIN HIDROSOLUBLE Y SIN LÍPIDOS			
Suelo de la vega	S _{hip}	1,23 ± 0,03	8,03 ± 0,12
Suelo de vega + alperujo	SA _{hip}	3,67 ± 0,23	8,14 ± 0,01
Suelo de vega + compost	SC _{hip}	2,56 ± 0,11	8,08 ± 0,11
Suelo vega + vermicompost	SV _{hip}	2,79 ± 0,04	8,01 ± 0,06
SIN HIDROSOLUBLE, SIN LÍPIDOS Y SIN AH, NI AF			
Suelo de la vega	S _{HF}	1,02 ± 0,03	7,85 ± 0,07
Suelo de vega + alperujo	SA _{HF}	2,59 ± 0,31	7,85 ± 0,17
Suelo de vega + compost	SC _{HF}	2,03 ± 0,11	8,02 ± 0,07
Suelo vega + vermicompost	SV _{HF}	1,98 ± 0,04	7,88 ±
INCUBADO 3 MESES			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
Suelo de la vega	S-3	1,24 ± 0,09	8,08 ± 0,12
Suelo de vega + alperujo	SA-3	2,96 ± 0,04	7,89 ± 0,08
Suelo de vega + compost	SC-3	2,50 ± 0,01	8,19 ± 0,03
Suelo vega + vermicompost	SV-3	2,70 ± 0,06	7,85 ± 0,03

Tabla 4. Nomenclatura, contenido de carbono orgánico y pH de las muestras de suelo de vega y de olivar estéril.

MUESTRA	NOMENCLATURA	CO (%)	pH
SUELO DE VEGA SIN INCUBACIÓN Y ESTERILIZADO			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
Suelo de vega estéril	S _{est}		8,18 ± 0,25
Suelo de vega estéril + alperujo estéril	SA _{est}		7,07 ± 0,28
Suelo de vega estéril + compost estéril	SC _{est}		7,99 ± 0,19
Suelo vega estéril + vermicompost estéril	SV _{et}		7,75 ± 0,13
SUELO DE OLIVAR SIN INCUBACIÓN Y ESTERILIZADO			
DOSIS ALTA DE ENMIENDA (200 t ha⁻¹)			
Suelo de olivar estéril	SO _{est}		7,80 ± 0,22
Suelo de olivar estéril + alperujo estéril	SOA _{est}		6,91 ± 0,51
Suelo de olivar estéril + compost estéril	SOC _{est}		7,79 ± 0,27
Suelo olivar estéril + vermicompost estéril	SOV _{est}		7,66 ± 0,13

ANEXO II



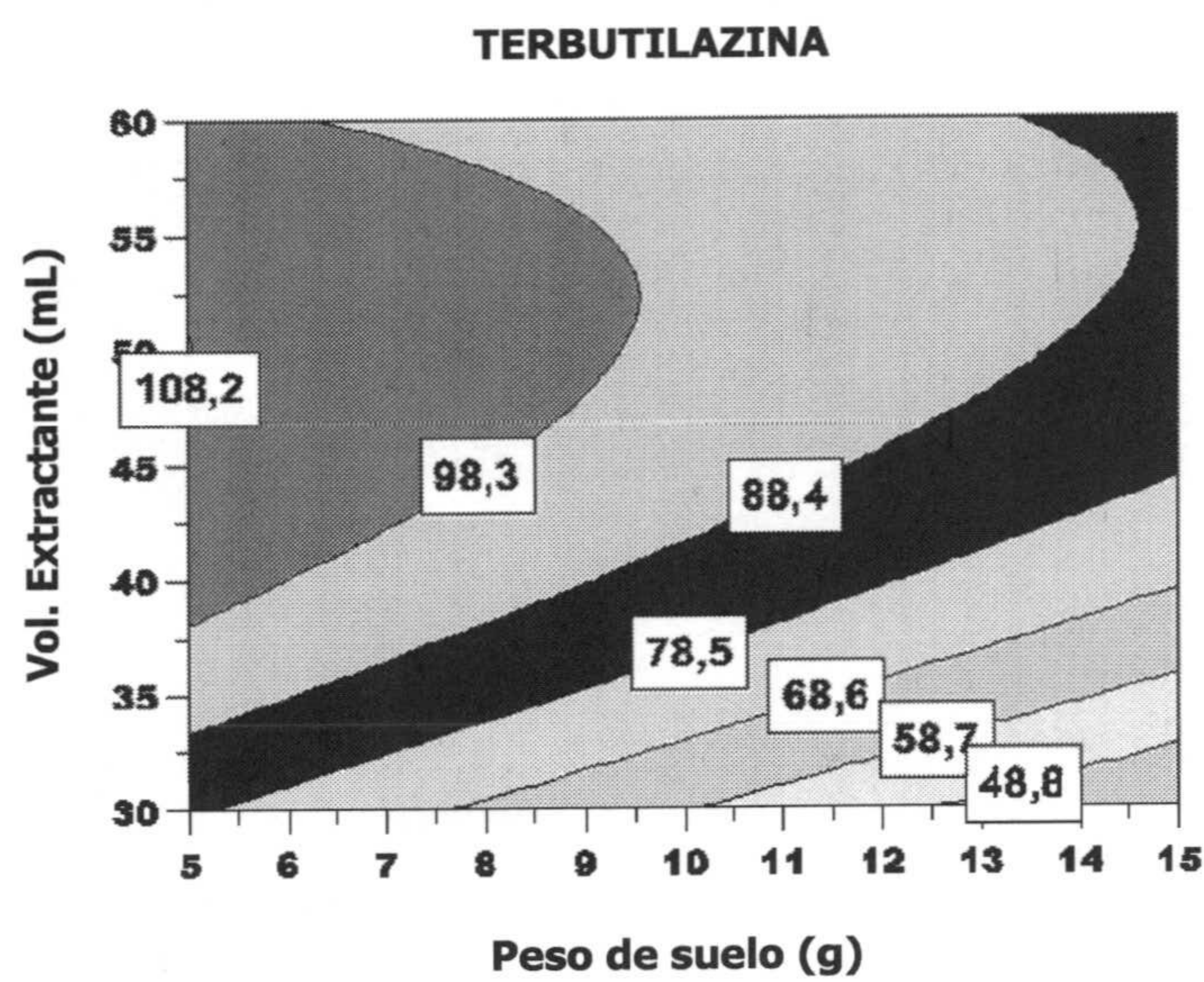
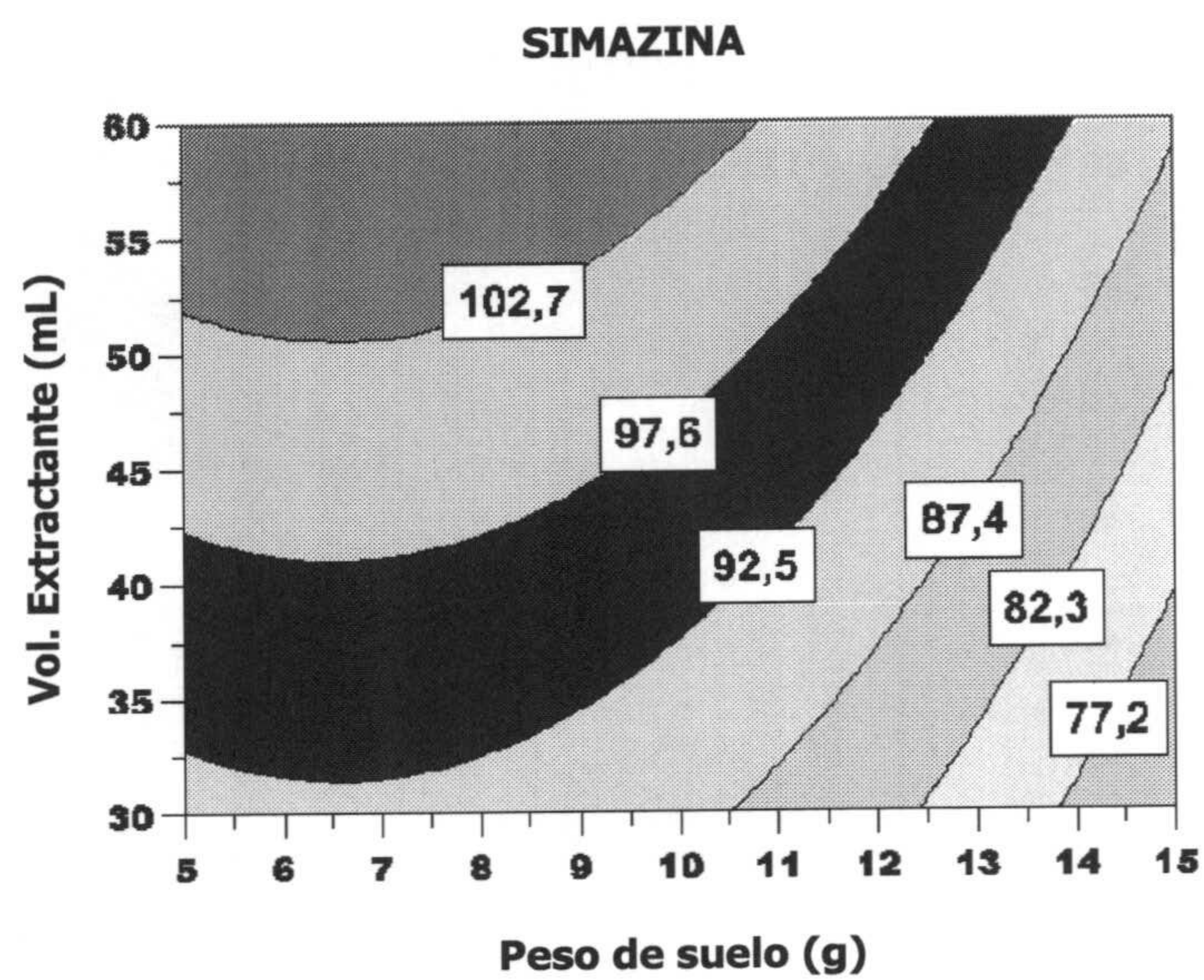


Figura 1. Superficies de respuesta para simazina y terbutilazina.

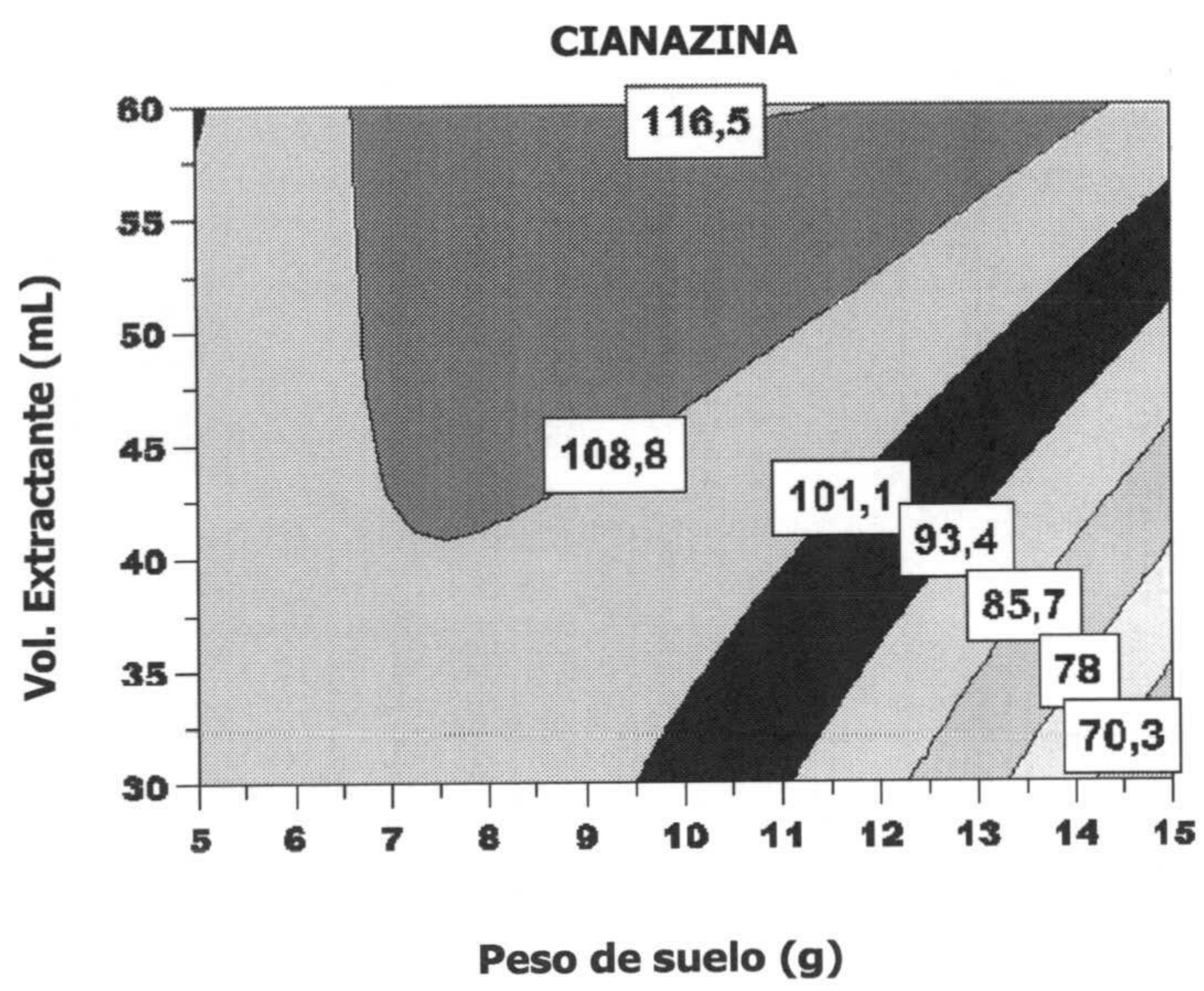
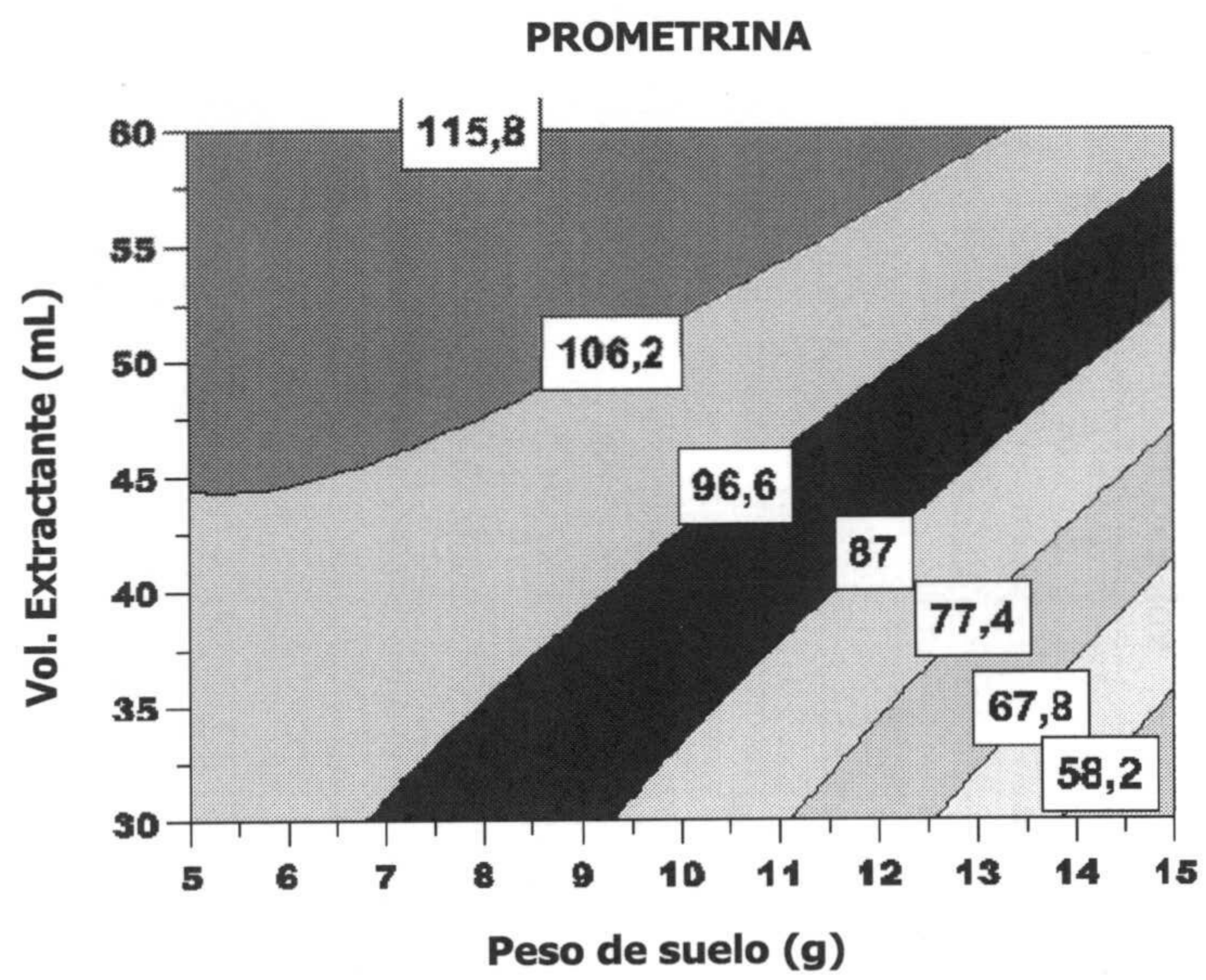


Figura 2. Superficies de respuesta para prometrina y cianazina.