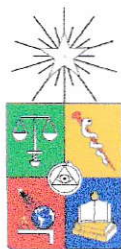


VCH-FC
B. ambiental
V494
C.1



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

**“DINAMICA Y BIODISPONIBILIDAD DE CLORPIRIFOS EN DOS SUELOS DE LA
V REGION”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de:

Químico Ambiental

Rosa Eugenia Vergara Retamales

Director de Seminario de Título y Profesor Patrocinante: M. Cs. Sylvia Copaja

Junio de 2011
Santiago – Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la candidata:

ROSA EUGENIA VERGARA RETAMALES

“DINAMICA Y BIODISPONIBILIDAD DE CLORPIRIFOS EN DOS SUELOS DE LA V REGION”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Químico Ambiental

COMISIÓN DE EVALUACIÓN

M. Cs. Sylvia Copaja Castillo
**Director Seminario de Título y
Profesor Patrocinante**

Una firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.

Dr. Antonio Galdámez
Corrector

Una firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.

M. Cs. Héctor Bravo
Corrector

Una firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.



Nací el 2 de Septiembre del año 1982 en Santiago de Chile, mis padres son Nadirca Retamales y Hernán Vergara. Tuve una infancia feliz junto a mis hermanos Hernán, Gabriel y Jorge. Mi enseñanza la realicé en el Colegio Adventista Porvenir.

Al egresar de la enseñanza media hice ingreso el año 2001 al programa de Bachillerato de la Universidad del Bio Bio en la ciudad de Concepción, donde pude aprender muchas cosas en el aspecto académico y también en el personal, a pesar de no permanecer más de un semestre en dicho programa la cantidad de experiencias edificadoras y el encuentro con personas que luego serían muy importantes en mi vida hacen de este periodo una etapa importante en mi vida.

El año 2002 ya de vuelta en Santiago ingresé a la carrera de Química Ambiental de la Universidad de Chile. Donde pude adquirir los conocimientos necesarios para desempeñarme como profesional y poder realizar un trabajo que ayude a hacer de este mundo un mejor lugar para vivir. En el proceso por conseguir esta meta se entrelazaron varias etapas ya que después del primer año de mis estudios me casé con Isaac Mora de quien tuve un hijo, Santiaguito luego de tres años. Fue difícil encontrar el punto de equilibrio para avanzar en cada uno de estos aspectos de mi vida, pero ahora que estoy a punto de titularme veo hacia atrás y siento la satisfacción de haber concluido esta etapa.



Dedicatoria

Primeramente a Dios por sustentarme y guiar mi vida.

A mi familia, padres, esposo e hijo por su apoyo, comprensión y paciencia.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por su amor y apoyo infinito. A mis padres por darme las herramientas para avanzar en esta carrera y confiar en mí. A mis hermanos por estar siempre allí. A Isaac por todo su amor, comprensión, paciencia y apoyo. Aunque todavía no lo entienda agradezco a Santiago por ser quien es y darme parte de su tiempo para cerrar este ciclo.

A mi profesora guía Sylvia Copaja por guiarme, confiar en mí, ayudarme, apoyarme y facilitarme los equipos del laboratorio de química orgánica y cromatografía de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

A la profesora María Estrella Báez de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile por facilitarme suelos para este estudio.

A Ricardo Melo por su ayuda bibliográfica y apoyo para ordenar mis ideas, además de su excelente disposición para ayudarme.

También quiero agradecer a todos mis amigos que me apoyaron y ayudaron durante este trabajo, en especial a Consuelo, Stephanie y Marcela. A mis amigas de toda la carrera que me apoyaron, acompañaron en los buenos y malos momentos, Claudia, Marjorie, Glenda y María José y que a pesar de la distancia siempre están ahí.



INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE DE CONTENIDO	iv
INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
I INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes generales	1
1.2 Suelos.....	5
1.3 Dinámica de los pesticidas.....	9
1.4 Descripción del plaguicida clorpirifos	17
1.5 Vías de acceso de compuestos orgánicos a la vegetación	21
Hipótesis.....	25
Objetivo general.....	25
Objetivos específicos	25
II MATERIALES Y METODOS	26
2.1 Muestras de Suelos	26
2.2 Caracterización de los suelos estudiados	26
2.3 Preparación de soluciones	35
2.4 Análisis químico	35
2.5 Estudio de la persistencia de clorpirifos	39
2.6 Estudio de biodisponibilidad de clorpirifos en plantas de trigo (<i>Triticum aestivum itálica cv Quellen</i>)	43



III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.1 Caracterización de los suelos estudiados	49
3.2 Validación del método cromatográfico	50
3.3 Estudio de la persistencia de clorpirifos en los suelos estudiados.....	54
3.4 Estudio de biodisponibilidad de clorpirifos en suelos utilizando plantas de trigo (<i>Triticum aestivum itálica cv Quellen</i>).....	65
3.5 Análisis de la interacción de clorpirifos con el suelo.....	72
IV CONCLUSIONES	74
V REFERENCIAS	78
VI ANEXOS	83
Anexo A.....	84
Anexo B.....	86
Anexo C.....	100

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Categorías Toxicológicas de la Organización Mundial de la Salud	5
Tabla 2. Interpretación de valores de vida media de pesticidas	11
Tabla 3. Interpretación de valores de constante de Henry de pesticidas.....	11
Tabla 4. Interpretación de valores de coeficiente de reparto de carbono orgánico de pesticidas.....	12
Tabla 5. Interpretación de valores de solubilidad de pesticidas.....	12
Tabla 6. Características fisicoquímicas de clorpirifos	18
Tabla 7. Resumen del procedimiento de incubación de suelos con plaguicida	40
Tabla 8. Textura de los suelos Calera y San Estaban.....	49
Tabla 9. Características químicas de los suelos	49
Tabla 10. Clasificación de Suelos según conductividad eléctrica	50
Tabla 11. Precisión del método analítico para clorpirifos comercial	53
Tabla 12. Límites de detección y cuantificación para clorpirifos comercial y estándar .	54
Tabla 13. Valores de tiempo de vida media de clorpirifos	63
Tabla 14. Valores de tiempo de disipación al 75% de clorpirifos	63
Tabla 15. Valores de índice de GUS para clorpirifos	64
Tabla 16. Datos para la obtención de la textura para los suelos	86
Tabla 17. Potencial eléctrico y volumen gastado en el blanco	88
Tabla 18. Datos para % humedad y factor de corrección (fh) para suelo Calera y San Esteban	89
Tabla 19. Diluciones de compuesto comercial y estándar	90
Tabla 20. Datos de área y desviación estándar de validación del método en curva total	91
Tabla 21. Datos de área y desviación estándar para curva ds	91
Tabla 22. Datos de áreas de señal y concentraciones calculadas para estudio de persistencia con extractante acetonitrilo	93
Tabla 23. Datos de áreas de señal y concentraciones calculadas para estudio de persistencia con extractante hexano	94
Tabla 24. Valores de parámetros para obtener índice de GUS	96

Tabla 25. Masa de raíz y áreas de señal para extracción con hexano	96
Tabla 26. Masa de parte aérea y áreas de señal para extracción con hexano	97
Tabla 27. Masa de suelo y áreas de señal para extracción con hexano	97
Tabla 28. Masa de raíz y áreas de señal para extracción con acetonitrilo Masa de raíz y áreas de señal para extracción con hexano	97
Tabla 29. Masa de parte aérea y áreas de señal para extracción con acetonitrilo Masa de parte aérea y áreas de señal para extracción con hexano	98
Tabla 30. Masa de suelo y áreas de señal para extracción con acetonitrilo Masa de suelo y áreas de señal para extracción con hexano	98

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Posibles mecanismos de transporte y transformación de plaguicidas en el ambiente.....	2
Figura 2. Proporción de fracciones en un suelo ideal.....	6
Figura 3. Mapa de series de suelos de la V región de Valparaíso.....	8
Figura 4. Dinámica de un plaguicida en el suelo.....	10
Figura 5. Diagrama conceptual de biodisponibilidad y bioaccesibilidad	15
Figura 6. Procesos de la biodisponibilidad	16
Figura 7. Estructura química de Clorpirifos (O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato).....	17
Figura 8. Metabolitos de clorpirifos	20
Figura 9. Mecanismos de acumulación de contaminantes orgánicos en la vegetación (Calvelo, 2008)	21
Figura 10. Potes con suelos incubados con plaguicida	41
Figura 11. Esquema de muestras realizadas en el estudio de persistencia	43
Figura 12. Plantas de trigo para estudio de biodisponibilidad.....	45
Figura 13. Molienda y homogeneización para la extracción del plaguicida de raíces y parte aérea	45
Figura 14. Esquema de muestras realizadas para el estudio de biodisponibilidad con solvente acetonitrilo	47
Figura 15. Esquema de trabajo para el estudio de biodisponibilidad	48
Figura 16. Curva de calibración de clorpirifos comercial	51
Figura 17. Curva de calibración de clorpirifos estándar.....	52
Figura 28. Fases de desaparición de plaguicida en el suelo	54
Figura 19. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con acetonitrilo como extractante en el suelo Calera.....	55
Figura 20. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con acetonitrilo como extractante en suelo San Esteban	56
Figura 21. Comportamiento de persistencia de clorpirifos entre los dos suelos	57
Figura 22. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con hexano como extractante en suelo Calera	58
Figura 23. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con hexano como extractante en suelo San Esteban	58
Figura 24. Comportamiento de persistencia de clorpirifos entre los dos suelos	61

Figura 25. Hidrólisis alcalina de clorpirifos	60
Figura 26. Comparación de persistencia de clorpirifos entre los dos suelos y los dos extractantes	64
Figura 27. Masa de clorpirifos absorbida por las plantas con acetonitrilo como extractante	66
Figura 28. Masa de clorpirifos en suelo aledaño a la raíz con acetonitrilo como extractante	67
Figura 29. Masa de clorpirifos absorbido por las plantas con hexano como extractante	68
Figura 30. Masa de clorpirifos en suelo aledaño a la raíz con hexano como extractante	69
Figura 31. Comparación de clorpirifos absorbido por las plantas y en suelo extraído con hexano y acetonitrilo	70
Figura 32. Comparación de clorpirifos en el suelo extraído con hexano y acetonitrilo ..	71
Figura 33. Gráfico temperatura de la suspensión vs. "k"	84
Figura 34. Triángulo de Clasificación Textural de Suelos (UDSA).....	85
Figura 35. Ejemplo de obtención de la textura a través del triángulo de Clasificación Textural de Suelos (UDSA).....	87
Figura 36. Curva de potencial vs. Volumen gastado en el blanco	88
Figura 37. Primera derivada gráfica Potencial vs. Volumen para el Blanco	88
Figura 38. Gráfico de desviación estándar versus concentración	92
Figura 39. Cromatograma clorpirifos comercial	100
Figura 40. Espectro de absorción clorpirifos comercial	100
Figura 41. Cromatograma clorpirifos estándar	101
Figura 42. Espectro de absorción de clorpirifos estándar	101

RESUMEN

Debido al uso indiscriminado de los recursos naturales de nuestro planeta, al crecimiento exponencial de la población mundial, a la introducción de sustancias que afectan al ecosistema, resulta necesario tener mayor conocimiento de los efectos adversos que provocan compuestos que se utilizan en labores tan comunes como en el cultivo de frutas, hortalizas y cereales. Estudios de este tipo pueden contribuir a crear conciencia de lo que estamos haciendo con el mundo en el que vivimos y permitirá tomar mejores decisiones en el manejo de los recursos agrícolas.

Las propiedades del suelo, características fisicoquímicas de los compuestos y condiciones medioambientales condicionan la dinámica de un contaminante en un determinado compartimento ambiental. En el suelo, la dinámica de un compuesto, determinará si el compuesto está biodisponible para los organismos presentes en el mismo y así su entrada en la cadena trófica, por lo que conocer esta dinámica podría darnos algunos indicios de cómo enfrentar este hecho.

El estudio de la dinámica de un compuesto en el suelo involucra muchos procesos como: la adsorción-desorción, absorción por organismos, degradación química, biodegradación, fotodescomposición, volatilización, lixiviación, difusión, escorrentía. Un parámetro que engloba todos estos procesos es la persistencia, dado que proporciona una estimación del tiempo que permanecerá el compuesto "activo" en un determinado espacio. Conociendo el tiempo de permanencia del compuesto y la cantidad del mismo podemos predecir su biodisponibilidad para la biota.

Es así, como en este estudio se determinó la persistencia de un pesticida de amplio uso en nuestro país: el insecticida organofosforado clorpirifos. Luego se comparó estos resultados con un estudio de biodisponibilidad de este pesticida en plantas de trigo (*Triticum aestivum*) y así se determinó el riesgo ambiental que conlleva el uso de este pesticida.

Al realizar este estudio en dos suelos se pudo comparar el efecto de las características de los suelos en la persistencia y biodisponibilidad del pesticida y además al usar dos solventes extractantes diferentes determinamos la eficiencia de cada uno.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede decir que clorpirifos persiste hasta el día 63 (tiempo límite de este estudio) en los dos suelos estudiados, con tiempos de vida media de 14 y 23 días. Por lo tanto el pesticida esta biodisponible para las plantas trigo, lo que fue demostrado con el estudio de biodisponibilidad donde se observó que clorpirifos se encontró presente en las tres matrices estudiadas: suelo aledaño a la raíz, raíz y parte aérea, siendo la raíz la matriz que mostro un contenido mayor del pesticida.

Palabras clave: Clorpirifos, suelos, persistencia, biodisponibilidad.

ABSTRACT

Due to the indiscriminate use of our planet's natural resources, the exponential growth world population, the introduction of substances that affect the ecosystem, it is necessary to have greater knowledge of the adverse effects that cause compounds used in such common tasks as growing fruits, vegetables and cereals. This kind of studies can help to create awareness of what are doing to the world in which we live and can help us to make better decisions in the management of agricultural resources.

Soil properties, physicochemical characteristics of compounds and environmental conditions determine the dynamics of a contaminant in a given environmental compartment. In soil, dynamics of a compound, will determine if the compound is bioavailable to organisms that bid on ground and thus entering the food chain. So to

The study of the dynamic of a compound in the soil involves many processes such as adsorption-desorption, absorption by organisms, chemical degradation, biodegradation, photolysis, volatilization, leaching, diffusion, and runoff. A parameter encompasses all these processes is the persistence, this provides an estimate of the time that can be "active" in a given space. Knowing permanence time of the compound and the amount of it, can predict how bioavailable for biota is it.

Thus, in this study we determined persistence of a pesticide used widely in our country such as organophosphate insecticide chlorpyrifos. Therefore there was compare these results with a bioavailability study of this pesticide in plants of wheat (*Triticum aestivum*) and so determine the environmental risk associated with use of this pesticide.

By studying two soils we could also compare the effect of soil characteristics over persistence and bioavailability of the pesticide and also, by using two different extractants solvents we determined the efficiency of each.

According to the results obtained in this study, can say that chlorpyrifos persists to this day 63 (Time limit of this study) in the two soils studied, with half-life time of 14 and 23 days. Therefore, the pesticide is bioavailable for wheat plants, which was shown in the study bioavailability, that indicated that chlorpyrifos was present in the three matrices studied: soil adjacent to the root, root and aerial part of plant, being the root the matrix that showed a higher content of pesticide.

Keywords: Chlorpyrifos, soil, persistence, bioavailability.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes Generales.

Desde el asentamiento del hombre como agricultor su subsistencia ha dependido de la cantidad y calidad de sus cosechas. Es así como la lucha contra las distintas plagas que amenazan los cultivos ha llevado a la aplicación de diferentes sustancias para defender las plantaciones. Se tiene noción de su empleo desde la antigüedad, pero, el concepto moderno de plaguicida surge en el siglo XIX, cuando se sintetizaron varias sustancias con propiedades insecticidas que se utilizaron años después.

Con el gran progreso de la industria química del siglo XX se ha suministrado una gran cantidad de sustancias químicas de alta agresividad contra los organismos dañinos, cuyos efectos sobre el hombre y el equilibrio del ecosistema continúan siendo debatidos.

Según la definición dada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), por plaguicida se entiende cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que puedan administrarse a los animales para combatir ectoparásitos (Ferrer, 2003).

La aplicación de un plaguicida puede ser de diferentes maneras, como: espolvoreo, pulverización, fumigación, aplicación de cebos, tratamientos vía riego y aplicación directa en el suelo como es el caso de los herbicidas y algunos insecticidas, sin embargo, como factor común tienen que en mayor o menor medida estos productos son incorporados al suelo, donde además de realizar la tarea de exterminar el agente nocivo para el cultivo, interactúan con el suelo de diversas formas, como se ve en la figura 1, dependiendo estas interacciones del tipo de plaguicida, las características del suelo, así como de las condiciones ambientales del lugar. Se ha estimado que el 50% de lo aplicado indirectamente no cumple con su objetivo y cae al suelo, además parte de ellos pueden ser volatilizados o trasladados por erosión eólica y por escorrentía, a la atmósfera y/o a cuerpos de agua, pasando de ser un problema local a un problema global.

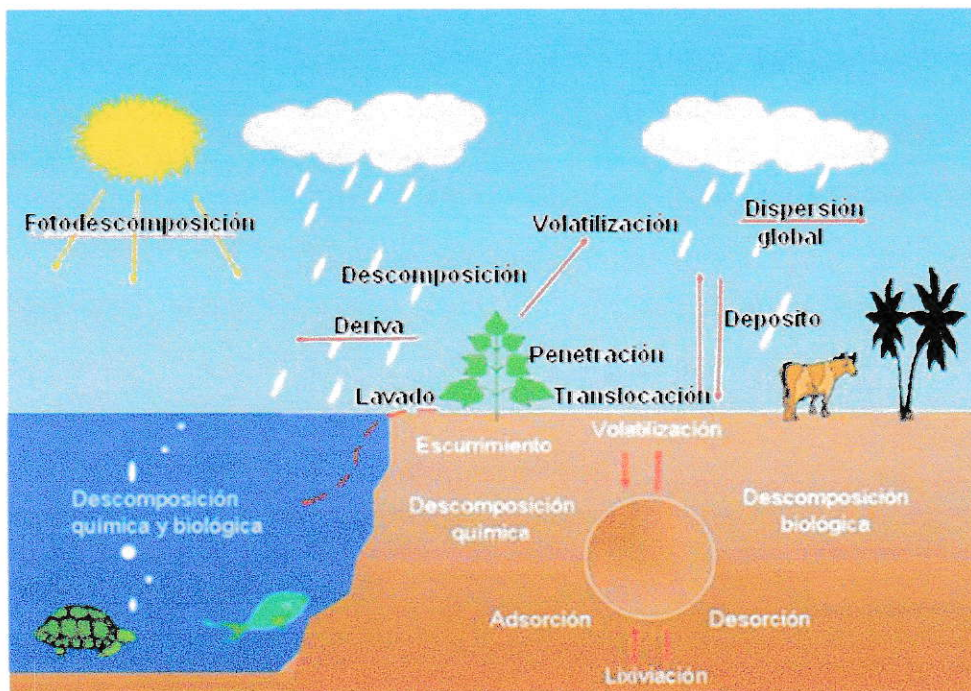


Figura 1. Posibles mecanismos de transporte y transformación de plaguicidas en el ambiente.

Dada la gran cantidad de plaguicidas existentes, estos se agrupan según algún criterio para sistematizar su información, es así como los plaguicidas se clasifican teniendo en cuenta diversos aspectos como:

❖ Según su aplicación:

- Plaguicidas de uso fitosanitario: su utilización es en el ámbito de la sanidad vegetal o el control de vegetales.
- Plaguicidas de uso ganadero: su utilización es en el entorno de los animales o en actividades relacionadas con su explotación.
- Plaguicidas de uso en la industria alimentaria: utilizados en tratamientos de productos o dispositivos relacionados con la industria alimentaria.
- Plaguicidas de uso ambiental: para el saneamiento de locales o establecimientos públicos o privados.
- Plaguicidas de uso en higiene personal: preparados útiles para la aplicación directa sobre el ser humano.
- Plaguicidas de uso doméstico: preparados destinados para aplicación por personas no especialmente calificadas en viviendas o locales habitados.

❖ Según su acción específica:

- | | |
|---|--|
| ○ insecticida (insectos). | ○ herbicida (plantas indeseadas), |
| ○ acaricida (ácaros). | ○ fitorregulador (regula el |
| ○ fungicidas (hongos). | crecimiento de plantas). |
| ○ desinfectante (bacterias, virus y
protozoos) y bactericida (bacterias) | ○ Rodenticidas (roedores), entre
otros. |

❖ Según el estado de presentación en la aplicación:

- gases o gases licuados.
- fumigantes y aerosoles.
- polvos con diámetro de partícula inferior a 50 μm .
- sólidos.
- líquidos.

❖ Según su constitución química:

- Arseniacales.
- Carbamatos.
- Derivados de cumarina.
- Derivados de urea.
- Dinitrocompuestos.
- Organoclorados.
- Organofosforados.
- Organometálicos.
- Piretroides.
- Tiocarbamatos.
- Triazinas.

Según su grado de toxicidad, los plaguicidas se clasifican de la siguiente forma:

Ligeramente peligrosos: los que por inhalación, ingestión o penetración cutánea no entrañan riesgos apreciables.

Moderadamente peligrosos: los que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos de gravedad limitada.

Altamente peligrosos: los que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte

Extremadamente peligrosos: los que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos extremadamente graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte.

La clasificación toxicológica de los plaguicidas se realiza en base a su toxicidad aguda, expresada en DL50 (dosis letal al 50%) por vía oral o dérmica para una población de prueba, o en CL 50 (concentración letal al 50%) por vía respiratoria para los animales de experimentación, de acuerdo con una serie de criterios que se especifican en las normas y leyes competentes, atendiendo principalmente a las vías de acción más importantes de cada compuesto (Ramírez y Col. 2001). En la tabla 1 se muestra el cuadro de categorías según dosis letal al 50%.

Tabla 1. Categorías Toxicológicas de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Categoría Toxicológica	DL 50 para ratas (mg/Kg de peso del cuerpo)			
	Oral		Dérmica	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
I a Extremadamente Peligroso	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
I b Altamente Peligroso	>5-50	>20-200	>10-100	>40-400
II Moderadamente Peligroso	>50-500	>200-2000	>100-1000	>400-4000
III Ligeramente Peligroso	>500	>2000	>1000	>4000

1.2 Suelos

Al considerar la matriz ambiental de este estudio, el suelo, se debe saber que este se define como la parte más externa de la litosfera, que resulta de la meteorización del material parental. Los procesos que meteorizan la roca madre pueden ser físicos o químicos, pero en general se puede indicar que el origen de los suelos depende de cinco factores: material parental, relieve, clima, organismos vivos y tiempo.

El suelo está dividido en tres fases: sólida, líquida y gaseosa, en la figura 2 se pueden apreciar las proporciones de cada una de estas fracciones.

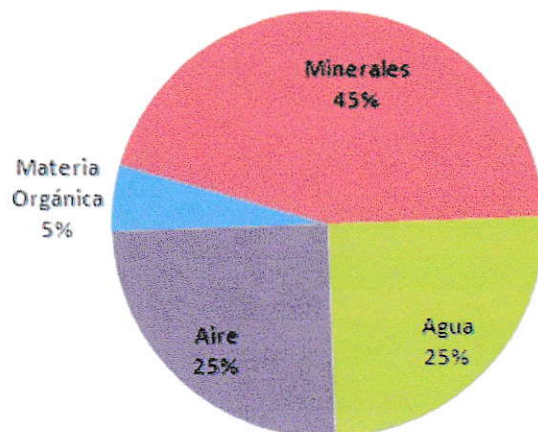


Figura 2. Proporción de fracciones en un suelo ideal.

Se puede observar que en un suelo ideal la fase sólida es de 50%, que se divide a su vez en un componente inorgánico y otro orgánico. La fracción inorgánica está constituida por: silicatos, micas, feldspatos, cuarzo, óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio, carbonatos, cloruros y nitratos. La fracción orgánica es de dos tipos: degradada y no degradada, esta última se considera como la biomasa responsable de la transformación de toda sustancia orgánica en el suelo. La fracción degradada se divide en la materia fresca que es la materia prima de la cual se producen las demás sustancias por medio de la biomasa y el humus que es la materia orgánica no viviente transformada por la biomasa.

La fase líquida es una disolución acuosa de sales e iones y además sustancias orgánicas. Finalmente la fase gaseosa está principalmente formada por los gases atmosféricos (Honorato, 2000).

Por otro lado la estructura de los suelos también es característica para cada uno, y esta depende de la proporción de los tamaños de las partículas sólidas. Una de las clasificaciones por tamaño de partícula es la clasificación M.I.T, propuesta por G. Gilboy y adoptada por el Massachusetts Institute of Technology.

A continuación se presenta un esquema, donde se observa el rango de tamaño para cada fracción (Juarez, Rico. 2005):

Tamaño (mm).

2.0 0.6 0.2 0.06 0.02 0.006 0.002 0.0006 0.0002

Gruesa	Media	Fina	Gruesa	Media	Fina	Gruesa	Media	Fina
Arena			Limo			Arcilla		

Las fracciones más finas (arcillas y limos) son las que le dan al suelo cohesión, adherencia, absorción y retención de agua.

Considerando la variedad de componentes del suelo y la posibilidad de diferentes combinaciones de ellos es que se conoce gran variedad de suelos y debido a esto se han elaborado distintos sistemas de clasificación. Los sistemas modernos son multicategóricos y con distintos planos de caracterización y generalización. En Chile se ha adoptado la "Taxonomía de Suelos", con doce órdenes, que son: Entisol, Inceptisol, Aridisol, Molisol, Espodosol, Alfisol, Ultisol, Oxisol, Vertisol, Histosol, Andisol y Gelisol. (Honorato, 2000)

En la región de Valparaíso están presentes las siguientes series de suelos: Molisoles, Alfisoles, Inceptisoles, la distribución de ellos en esta región se muestra en la figura 3.

En esta región el 30% de la producción agrícola se destina a la agroindustria y el 70% al consumo fresco. La región aporta el 29,7% de la producción nacional de uva y el 30% de la producción total de duraznos. También produce kiwis, nectarines, damascos, nueces, almendras y limones. En sus zonas de microclimas produce el 41% del total de paltas del país y gran parte de la producción de chirimoyas. También destaca la producción de legumbres, papas y cultivos orientales como tabaco, maravilla y cáñamo.

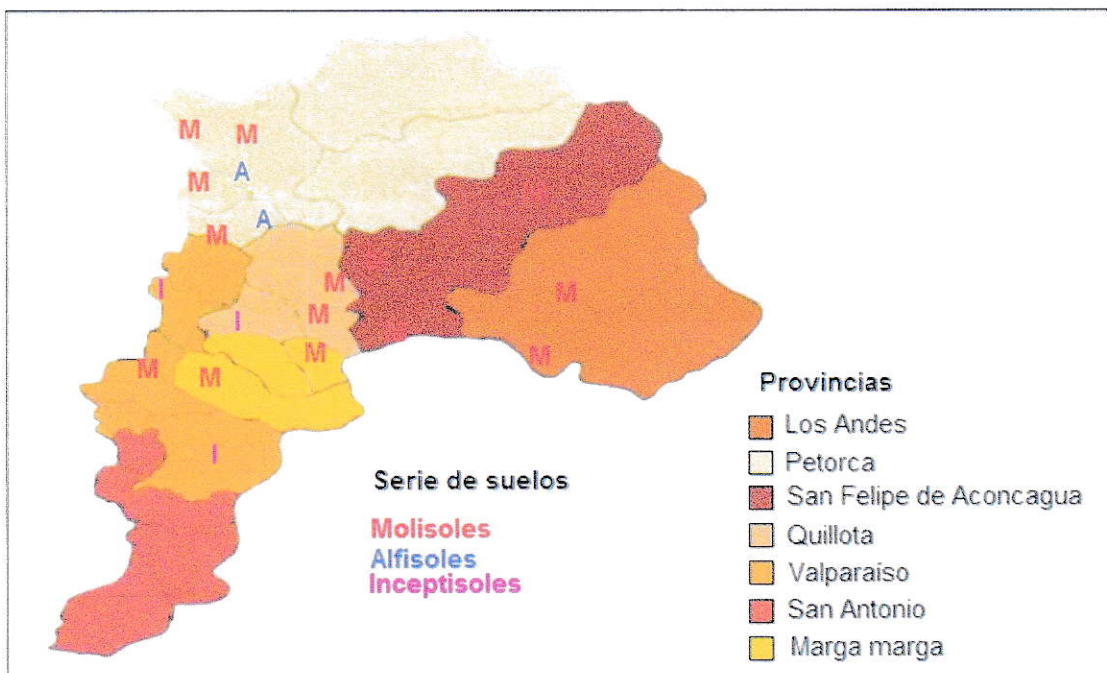


Figura 3. Mapa de series de suelos de la V región de Valparaíso.

Muchas de las propiedades del suelo como: la capacidad de intercambio de iones, poder amortiguador, bases de cambio, elementos disponibles, pH y sales del suelo,

están ligadas a la fracción coloidal de este. Esta se encuentra en la fracción más fina del suelo que es la fracción más activa debido a su gran área superficial.

En el suelo los coloides se dividen en orgánicos e inorgánicos, los primeros consisten en la fracción humificada de la materia orgánica de naturaleza compleja y amorfa y los segundos a arcillas silicatadas o filotasas y cristalinas con estructuras en capas, geles de Al y SiO₂ (alofán y imogolita), y óxidos e hidróxidos de Fe y Al.

1.3 Dinámica de los Plaguicidas en el suelo

Al llegar al suelo, el plaguicida sufre diferentes procesos que afectan su dinámica como se ve en la figura 4, estos procesos se pueden agrupar de la siguiente manera:

- Procesos de transporte: volatilización, lixiviación, difusión y escurrimiento.
- Procesos de acumulación: adsorción-desorción, absorción por la planta.
- Procesos de transformación: fotodescomposición, degradación Química y biodegradación.

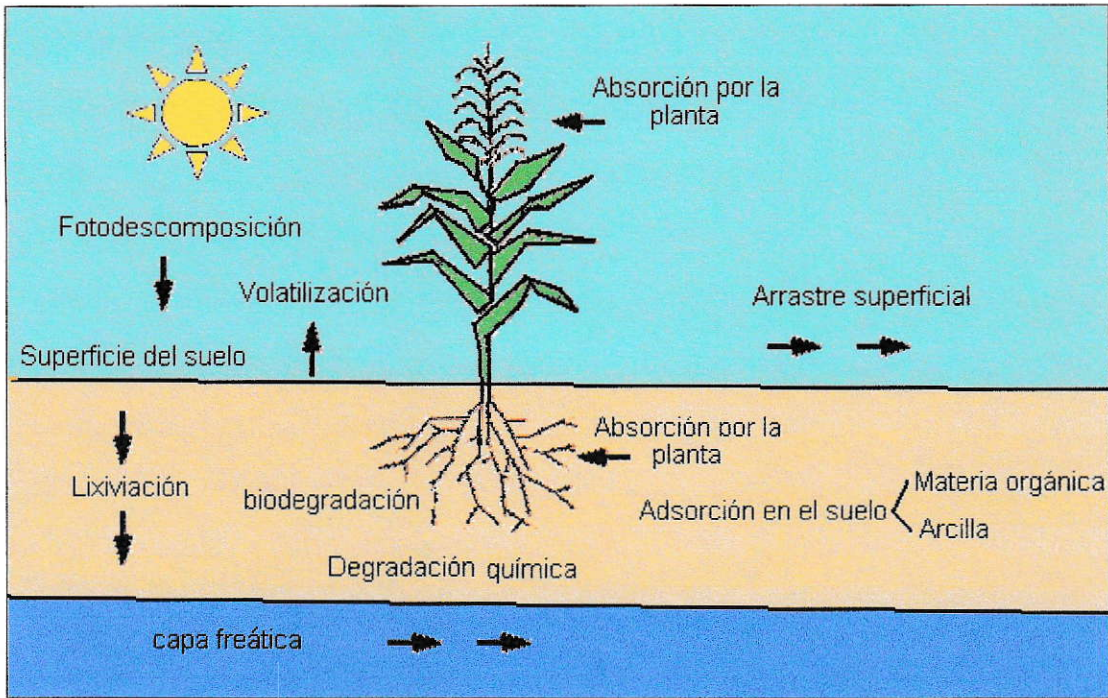


Figura 4. Dinámica de un plaguicida en el suelo.

Los factores que gobiernan la dinámica de los plaguicidas en el suelo dependen de las características del plaguicida como: la estructura química que nos da una aproximación del comportamiento químico que tendrá la molécula, su carácter ácido base, hidrofilia o lipofilia, volatilidad, entre otras. La persistencia que está determinada por el tiempo de vida media de este, el cual se define como el tiempo necesario para la disipación de la mitad de la cantidad inicialmente presente en el suelo. Este parámetro nos da una idea de cuánto tiempo permanecerá en un determinado lugar y la interpretación de sus valores se muestran en la tabla 2. La constante de Henry que representa el reparto de una sustancia entre la fase líquida del suelo y la atmósfera, da una idea de que tan volátil puede ser el compuesto, la tabla 3 nos muestra su interpretación. Coeficiente de adsorción de carbono orgánico (K_{oc}) da una aproximación de la movilidad del plaguicida en el suelo ya que este parámetro es la razón entre el plaguicida adherido a

las partículas de suelo y lo disuelto en el agua del suelo, y la adsorción de los plaguicidas constituye el principal medio de retención por parte del suelo sus valores se interpretan en la tabla 4. La solubilidad en agua mide la cantidad de plaguicida que se puede disolver en agua y se puede obtener a partir de del coeficiente de reparto octanol: agua (K_{ow}), es una característica importante ya que nos permite saber si el plaguicida se movilizará con el agua o no y así predecir su destino, su interpretación se muestra en la tabla 5. El pKa y pKb nos dan una idea de cuan ionizada estará la molécula en un determinado medio.

Tabla 2. Interpretación de valores de vida media de plaguicidas.

Vida media (días)	Interpretación
<30	No persistente
30 – 100	Moderadamente persistente
100 – 365	Persistente
> 365	Muy persistente

Tabla 3. Interpretación de valores de constante de Henry de plaguicidas.

Presión de vapor (mPa)	Constante de Henry (Pa m ³ / mol)	Interpretación
<1*10 ⁻⁶	<0,1	No volátil
1*10 ⁻⁴ – 1*10 ⁻⁶	0,1 – 100	Moderadamente volátil
>1*10 ⁻⁴	>100	Volátil

Tabla 4. Interpretación de valores de coeficiente de reparto de carbono orgánico de plaguicidas.

Koc	Interpretación
<15	Muy móvil
15 – 75	Móvil
75 – 500	Moderadamente móvil
500 – 4000	Ligeramente móvil
>4000	Inmóvil

Tabla 5. Interpretación de valores de solubilidad de plaguicidas.

Solubilidad (ppm)	Condición
<50	Baja
50 – 500	Moderada
>500	Alta

Estos factores también dependen de las propiedades del suelo como sus coloides (arcillas y humus) que adsorben fuertemente los plaguicidas debido a su alta capacidad de intercambio catiónico. El pH también tiene influencia en la adsorción del plaguicida, pero esta depende de la naturaleza del compuesto y el tipo de enlaces involucrados en el proceso de adsorción. La estructura y textura del suelo intervienen en la movilidad, volatilización, oxidación y transporte del plaguicida. Y finalmente los microorganismos, temperatura y humedad intervienen en la degradación del plaguicida (Fuenzalida, 2011).

La adsorción es uno de los primeros fenómenos que sufren los plaguicidas al llegar a los suelos y tiene una influencia importante sobre el destino del mismo, en particular sobre su movilidad y biodisponibilidad en los suelos. La adsorción de los plaguicidas en los suelos depende de las características fisicoquímicas de las moléculas y de las propiedades del suelo (Madrigal y col, 2008).

Los procesos de adsorción-desorción de plaguicidas en los suelos así como su persistencia, determinan su biodisponibilidad y su posterior degradación, es así como las moléculas adsorbidas deben desorberse hacia la solución del suelo para poder estar biodisponibles para las plantas y los microorganismos del suelo (Cox y col, 2003). Al existir tantos factores que determinan el comportamiento de un contaminante en el medio ambiente (los mencionados anteriormente más las condiciones ambientales como precipitaciones, temperatura, relieve) la estimación del efecto que tendrá un agroquímico sobre los organismos se hace compleja e imprecisa. Desde la perspectiva de evaluación del riesgo ambiental en una situación tal como la aplicación directa o indirecta de plaguicidas al suelo, surgen conceptos como la biodisponibilidad, el cual es un factor importante en la evaluación de un riesgo ambiental, además de considerar su variabilidad en el tiempo.

Considerando que hay definiciones de biodisponibilidad en diferentes disciplinas como farmacología y toxicología es posible experimentar algo de confusión al querer aplicar esta palabra a las ciencias ambientales.

Según Semple y colaboradores una buena definición para biodisponible es "Capaz de ser utilizado a disposición de". Este término indica disponible ahora, por esto se puede decir que los compuestos biodisponibles son aquellos que están disponibles para cruzar la membrana celular de un organismo desde el medio en que este habita, en un tiempo determinado. Una vez que el paso a través de la membrana ha ocurrido, el almacenamiento, transformación, asimilación o degradación de los compuestos pueden tener lugar dentro del organismo (Semple y col., 2004). La norma ISO 11074 (2005) define biodisponibilidad como el grado en el cual los compuestos químicos presentes

en el suelo (o sedimentos), pueden ser absorbidos o metabolizados por receptores humanos o ecológicos o quedan disponibles para interactuar con sistemas biológicos (Brack y col 2009).

Además, se conoce el concepto de bioaccesible que se define como “Capaz de ponerse en contacto con o ser alcanzado por”. La definición implica que una fracción de lo que es accesible puede ser alcanzada, pero a menudo no lo es desde un sitio determinado en un tiempo dado.

Entonces es posible indicar que un producto químico puede ser bioaccesible para un organismo ya que podría cruzar la membrana celular, pero solo cuando este coincide en tiempo y espacio con el organismo está biodisponible. En la figura 5 se muestra un diagrama conceptual que ilustra la biodisponibilidad y bioaccesibilidad, muestra las fracciones de un contaminante en el suelo definido por su posición física, también describe la relación de las moléculas del contaminante asociadas al suelo en relación a la fracción bioaccesible.

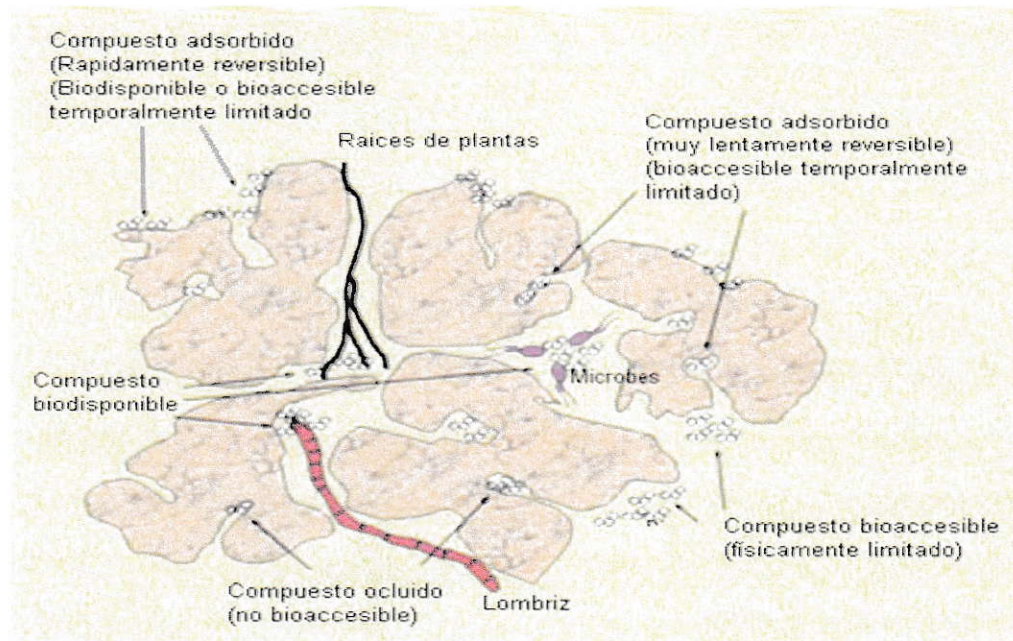


Figura 5. Diagrama conceptual de biodisponibilidad y bioaccesibilidad (Semple, 2004).

Es así como los contaminantes pueden estar disponibles dentro del orden de los segundos desde los lugares donde están adsorbidos débilmente (y por lo tanto, son altamente biodisponible, tras su puesta en libertad); y el organismo puede ponerse en contacto con la sustancia contaminante. Por otra parte, la puesta en libertad puede ocurrir mucho más a largos plazos (por ejemplo, años o decenios) y hacer que el producto químico solo sea bioaccesible. Para resumir, bioaccesibilidad abarca lo que es realmente biodisponible y lo que ahora es potencialmente biodisponible.

En la figura 6 se muestra que tanto en el suelo como en los sedimentos, los procesos que determinan la exposición a la contaminación incluyen la liberación de un contaminante sólido ligado (A) y transporte posterior (B), el transporte de

contaminantes ligados (C), la captación través de una membrana fisiológica (D), y la incorporación a la vida del sistema (E). Teniendo en cuenta que A, B y C puede ocurrir al interior de un organismo, como en el lumen del intestino. El informe del NRC define A, B, C y D como los procesos de la biodisponibilidad, pero no E, porque el suelo y los sedimentos ya no desempeñan un papel importante, sino que los procesos del compuesto dependerán solo del organismo. Además, se define A, B, C y D como procesos que rigen bioaccesibilidad, mientras que D se refiere a la biodisponibilidad (Ehlers y col. 2003).

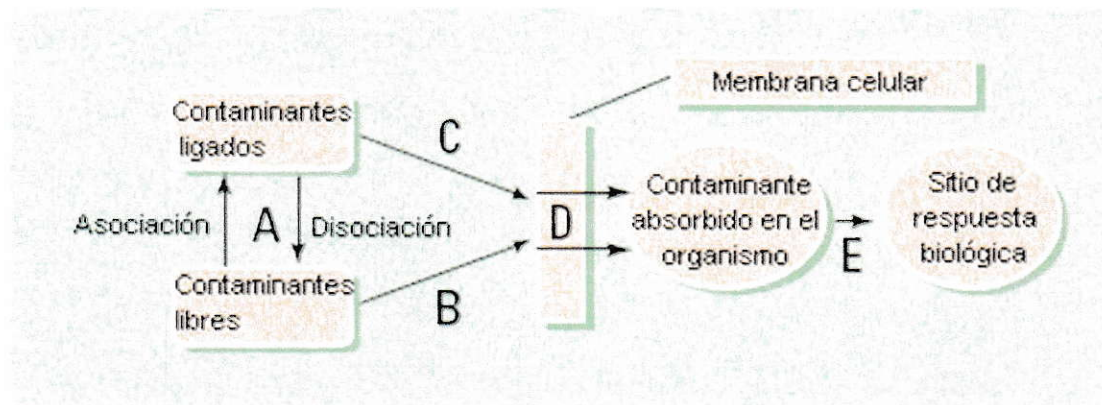


Figura 6. Procesos de la biodisponibilidad (Ehlers y col. 2003).

En este sentido se han realizado algunos estudios para determinar la biodisponibilidad de algunos plaguicidas en diferentes cultivos como el estudio de la absorción y distribución del clorpirifos en plantas de pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex chiov.) cultivadas hidropónicamente (Márquez. 2010) donde se encontró que el plaguicida clorpirifos se bioacumuló en la raíz y el follaje. En el estudio titulado Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla en

la depresión de Quíbor, Venezuela (Pierre, Betancourt. 2008) se encontró residuos de clorpirifos y butaclor en las cebollas.

1.4 Descripción del plaguicida Clorpirifos

Clorpirifos (Clorpyrifos) es un plaguicida que pertenece a la clasificación de los organofosforados, de toxicidad leve (clase II moderadamente peligroso). En la siguiente figura (Figura 7) se muestra la estructura química de Clorpirifos.

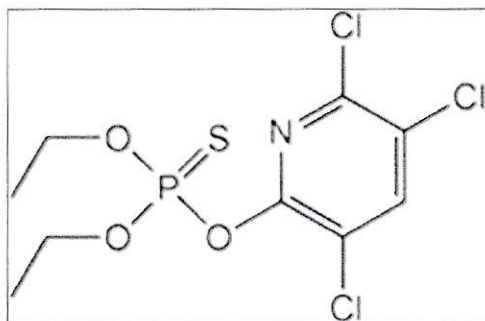


Figura 7. Estructura química de Clorpirifos (O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato).

Las características fisicoquímicas del plaguicida se muestran a continuación en la siguiente tabla:

Tabla 6. Características fisicoquímicas de clorpirifos.

Propiedad	Valor	Condición
Nombre común	Clorpirifos	
Nombre IUPAC	O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato	organofosforado
Clasificación por tipo de uso	Insecticida, acaricida	
Modo de acción	No sistémico de triple acción (contacto, ingestión e inhalación)	inhibidor de acetilcolinesterasa
Formula molecular	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	
Masa Molar ($g\ mol^{-1}$)	350,89	
Estado físico	Sólido, cristales blanco /ámbar	
Olor	Suave del sulfuro	
Punto de fusión ($^{\circ}C$)	41,5	
Punto de ebullición	Se descompone antes de ebulir	
Punto de descomposición ($^{\circ}C$)	170	
Densidad ($g\ ml^{-1}$)	1,51	
Solubilidad en agua en $20^{\circ}C$ ($mg\ l^{-1}$)	1,05	Baja
Otros disolventes orgánicos a $20^{\circ}C$ ($mg\ l^{-1}$)	Hexano 774000 - Metanol 290000 Acetato de etilo 4000000 - Tolueno 4000000	Soluble en disolventes apolares
Presión de vapor a $25^{\circ}C$ (mPa)	1,43	Volátil
coeficiente de partición Octanol / agua a pH 7 a $20^{\circ}C$	P: $5,01 \times 10^{04}$ Log P: 4,7	Alto
Estabilidad	Estabilidad amplia a temperatura ambiente	
Constante de ley de Henry a $25^{\circ}C$ ($Pa\ m^3\ mol^{-1}$)	0,478	Volátil moderado
Constante de ley de Henry a $20^{\circ}C$ (adimencional)	$2,80 \times 10^{-04}$	Volátil
Koc – coeficiente de sorción carbono Orgánico ($ml\ g^{-1}$)	8151	No móvil

Clorpirifos es un insecticida y acaricida organofosforado de amplio espectro, de triple acción: contacto, ingestión y vapor, que inhibe la enzima acetilcolinesterasa, responsable de la degradación de la acetilcolina (la acumulación de la misma resulta tóxica para insectos).

Se usa en la agricultura para control de insectos de los órdenes Coleoptera, Diptera, Homoptera y Lepidóptera, en estadios de larvas y adultos. El producto se usa en diversos cultivos alrededor del mundo. Puede ser aplicado a las hojas de las plantas o las frutas. También es posible aplicar al suelo en donde el producto tiene control de insectos que habitan ahí. Clorpirifos es el segundo insecticida más vendido en el mundo (después de Imidacloprid) (Cheminova, 2002)

En Chile según la declaración de ventas de plaguicidas del año 2006 del Ministerio de Agricultura, clorpirifos es el segundo insecticida más vendido en el país después del aceite mineral (con 9,86% del total de ingredientes activos vendidos en el país), y el tercero más utilizado en la región de Valparaíso después del aceite mineral y el Bromuro de metilo/cloropicrina (con 8,87% del total de ingredientes activos vendidos en la región).

La persistencia ambiental del clorpirifos varía dependiendo del tipo de suelo y de las condiciones medioambientales. La baja temperatura ambiental y los bajos valores del pH de los suelos retardan los procesos de transformación y degradación de este insecticida, favoreciendo su biodisponibilidad. La vida media, bajo metabolismo aeróbico en el suelo, está en el rango de 11 a 180 días, con un promedio de 28,9 días. El Clorpirifos adsorbido a los suelos está sujeto a degradación fotolítica ultravioleta y a

hidrólisis química y biológica por microorganismos. Está bien establecido que la principal vía de degradación hidrolítica en suelos, incluye la formación de 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), proceso que puede ser acelerado bajo condiciones de alcalinidad. Subsecuentemente el TCP es degradado a compuestos organoclorados y a dióxido de carbono (Morales y col. 2010). En la siguiente figura se aprecian algunas vías de degradación del compuesto.

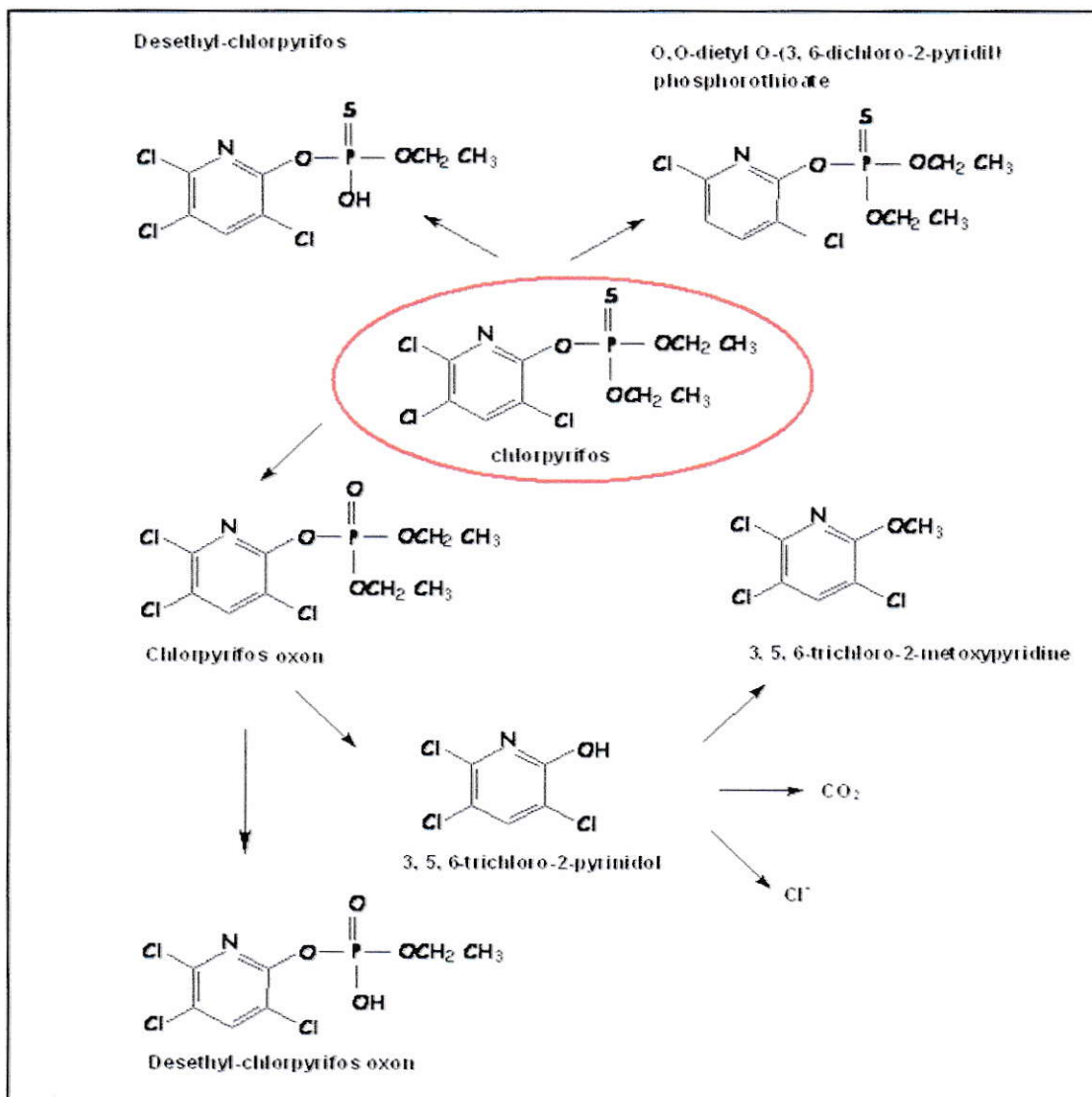


Figura 8. Metabolitos de clorpirifos

Al considerar las características del compuesto y las condiciones que determinan su dinámica en el suelo es importante conocer cuáles serían las posibles vías de ingreso del plaguicida a la cadena trófica. Una ruta es la vegetación, a través de la cual se estudiará la biodisponibilidad de clorpirifos en este trabajo y por esta razón es necesario conocer algo de los mecanismos de las plantas para incorporar compuestos orgánicos como es el plaguicida en estudio.

1.5 Vías de acceso de compuestos orgánicos a la vegetación.

Considerando que una vez que el ambiente (suelo, agua, atmosfera) se encuentra contaminado por plaguicidas, hay dos rutas principales por las que los contaminantes pueden acceder a la vegetación, bien sea la vegetación objetivo (caso de herbicidas) o la “no-objetivo”, caso de insecticidas como el clorpirifos: ruta suelo-planta y ruta aire-planta (Figura 9).

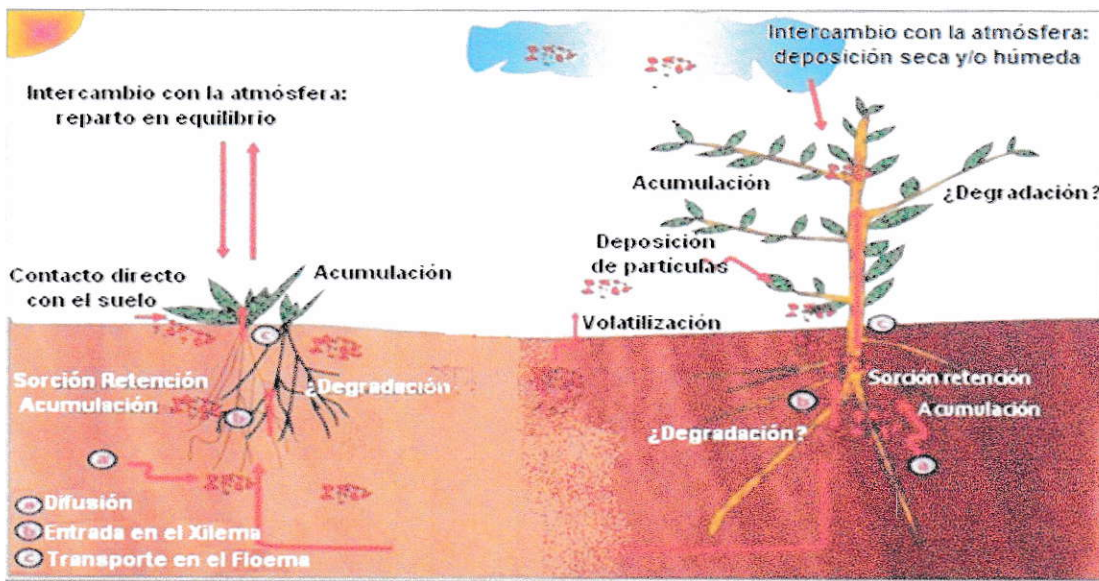


Figura 9. Mecanismos de acumulación de contaminantes orgánicos en la vegetación (Calvelo, 2008).

Los principales procesos que se relacionan con estas rutas son: retención en los tejidos radiculares (reparto disolución del suelo: raíz); absorción por las raíces y translocación a través del xilema vegetal; volatilización a partir del suelo y posterior absorción foliar directamente de la fase gaseosa; absorción foliar directa vía deposición húmeda o deposición seca a partir de la atmósfera circundante; resuspensión de las partículas del suelo por el viento o la lluvia y subsiguiente captura por la vegetación (Calvelo, 2008).

En la ruta suelo: planta las raíces extraen el agua y los solutos disueltos en la disolución del suelo. La entrada de las sustancias disueltas en la planta a partir de la disolución suelo es prácticamente no selectiva y reversible (difusión pasiva), gobernada por la diferencia de gradiente del potencial químico o hídrico entre el interior de la raíz y el suelo. De acuerdo a las características del plaguicida, y en particular del valor de $\log K_{ow}$ es posible saber el destino probable de un contaminante en la planta: absorción a nivel radicular, adsorción y reparto agua: planta con retención en la superficie de la raíz o permanencia en la disolución suelo (Schnoor y col., 1995 citado en Calvelo, 2008). En el caso de clorpirifos puede ocurrir una retención en la superficie de las raíces ($\log K_{ow} > 3$) y esta retención en muchos casos puede ser el paso inicial para una absorción posterior al interior de la planta. Tanto la hemicelulosa de la pared celular como la doble capa lipídica de las membranas celulares son los lugares preferentes de acumulación de los compuestos orgánicos hidrofóbicos.

En la ruta suelo-aire-biomasa aérea, donde la superficie de las hojas constituye la segunda gran vía de entrada para los contaminantes orgánicos debido a la gran área de exposición, sumado a su carácter hidrofóbico que facilita la permeabilidad de los

compuestos apolares (Riederer, 2005 citado en Calvelo, 2008), los principales mecanismos de contaminación son: (i) absorción directa del contaminante por reparto en equilibrio desde la fase gaseosa que rodea al vegetal; (ii) absorción foliar vía deposición húmeda o deposición seca a partir de la atmósfera circundante contaminada; (iii) resuspensión de las partículas del suelo por el viento o la lluvia y subsiguiente acumulación en la vegetación. Todos estos mecanismos conducen a la acumulación del contaminante en los tejidos vegetales comparable a la que se produce por la ruta suelo-raíces (Bacci y col., 1990; Paterson y col., 1991; Kömp y McLachlan, 1997; MacLachlan, 1999; Mackay y col., 2006 citados en Calvelo, 2008).

En función de las características fisicoquímicas del contaminante orgánico y del estado fisiológico de la hoja, las sustancias orgánicas pueden ser absorbidas o liberadas a través de la cutícula o a través de los estomas (Barber y col., 2002 citado en Calvelo, 2008). En todo caso, la cutícula misma puede actuar como compartimiento de acumulación del contaminante. La estructura y composición química de la cutícula puede variar con la especie vegetal y el estado de desarrollo (Bakker, 2000 citado en Calvelo, 2008). La biodisponibilidad de la fracción aérea del compuesto se relaciona en parte con la concentración en el vapor atmosférico. La absorción de los contaminantes orgánicos por las hojas se ha relacionado con un reparto sencillo desde la fase gaseosa (o bien la fase acuosa) de la atmósfera y la superficie foliar hidrofóbica (reparto aire: hoja, reparto agua: hoja). Un valor alto del coeficiente de reparto octanol agua (K_{ow}) y una constante de la Ley de Henry suficientemente alta para permitir la volatilización convierten al contaminante en un compuesto químico candidato para la absorción foliar (Calvelo, 2008). Como es el caso de clorpirifos con un valor de $\log K_{ow}$ de 4,7 (alto) que permitiría el ingreso del plaguicida a través de la parte aérea de la

planta y una constante de Henry de 0,478 ($\text{Pa m}^3 \text{mol}^{-1}$) (volátil moderado) que permite que el plaguicida se volatilice un poco desde la superficie del suelo, hacen posible que este compuesto pueda ser incorporado a la planta, aunque a niveles menores.

Por otro lado las semillas son también capaces de absorber compuestos orgánicos que pueden estar presentes incluso antes de la germinación. La adsorción de estos compuestos en la superficie externa de las semillas aumenta la posibilidad de absorción, que puede tener lugar por procesos no metabólicos cuando las semillas están embebidas en agua o mediante procesos de difusión (consejería de medio ambiente de la junta de Andalucía, 2003). Este es el caso del experimento usado para determinar la biodisponibilidad de clorpirifos en plantas de trigo.

Teniendo en cuenta toda la información detallada anteriormente es posible plantear la hipótesis de este trabajo para el plaguicida clorpirifos y determinar los objetivos necesarios para demostrar dicha afirmación.

Hipótesis:

El proceso de persistencia como parte de la dinámica de clorpirifos en el suelo depende de las características físicas y químicas del compuesto y del suelo, lo que determinaría su biodisponibilidad.

Objetivo general:

Determinar la biodisponibilidad de Clorpirifos en dos suelos Chilenos, utilizando plantas de trigo (*Triticum aestivum*) como indicador.

Objetivos específicos:

- Establecer y validar las condiciones analíticas para la identificación y cuantificación por cromatografía líquida (HPLC) para Clorpirifos.
- Caracterizar los suelos en estudio: San Esteban y Calera ambos de la V Región.
- Estudiar la persistencia de Clorpirifos en los dos suelos.
- Contaminar los dos suelos en estudio con clorpirifos para determinar la biodisponibilidad.
- Extraer el insecticida utilizando dos solventes de distinta polaridad desde el suelo, parte aérea y raíz de la planta.
- Determinar clorpirifos en las diferentes matrices por HPLC.
- Comparar el efecto de las distintas características del suelo en la biodisponibilidad del plaguicida.
- Analizar como las características de los suelos utilizados en este estudio influyen en el riesgo ambiental que lleva el uso de este plaguicida.

II MATERIALES Y METODOS

2.1 Muestras de suelos.

Los suelos estudiados fueron colectados en la V Región: a una profundidad de 0-25 cm. Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente y tamizadas para obtener la fracción menor a 2 mm con un tamiz de 1000 μm U.S. Standard Sieve Series.

Los suelos corresponden a suelo Calera y San Esteban. El suelo Calera pertenece a la serie La Calera Familia franca fina, mixta, térmica de los Typic Haploxerolls (Mollisol). El suelo San Esteban pertenece a la serie Pocuro que es miembro de la familia limosa fina, mixta, térmica de los Fulventic Haploxerolls (Mollisol) (CIREN, 2003).

2.2 Caracterización de los suelos estudiados.

Cada suelo fue caracterizado de acuerdo a métodos descritos (Sadzawka 1990):

- Textura por el método de la pipeta (Ley de Stoke)
- pH y CE métodos potenciométricos
- Carbono orgánico fácilmente oxidable, método de Blakey Black

2.2.1 Determinación de la textura.

➤ Material de vidrio y otros:

- Vasos de precipitado.
- Probetas: 100, 1000 mL.
- Pipetas totales de 25 mL.
- Frascos plásticos con tapa.
- Termómetro.

➤ Reactivos

- Agua destilada
- Oxalato de sodio saturado (Merck, p.a.)

➤ Equipos

- Balanza de precisión ACCULAB V-600.
- Balanza analítica SHIMADZU AUX220.
- Estufa de esterilización y secado Jinghong DHG 9147 A.
- Agitador orbital LAB. ROTATOR ALREADY ENTERPRISE INC. 5FL-2.

➤ Procedimiento:

Para la determinación de la textura de los suelos se utilizó la velocidad de sedimentación, conocida como el método de la pipeta, este método provee los porcentajes de arena, limo y arcilla de la muestra de suelo. La base de este método está en la relación que existe entre el tiempo de sedimentación y el diámetro de la partícula, lo que se expresa en la ley de Stoke, según la siguiente ecuación:

$$V = \frac{d^2 (D_p - D_1) g}{18 Z} \quad \text{Ec. /1/}$$

Donde:

V = velocidad de caída de partículas [cm/s]

D = diámetro de las partículas [cm]

D_p = densidad de las partículas [g/cm³]

D₁ = densidad del agua [g/cm³]

g = aceleración causada por la gravedad [cm/s²]

Z = viscosidad absoluta del agua [g/cm s]

Esta ley establece para las partículas tamaño limo y algunas de arcilla gruesa, la velocidad de sedimentación es proporcional al cuadrado del diámetro de las partículas, según la siguiente ecuación:

$$V = kd^2 \quad \text{Ec. /2/}$$

Donde:

V = velocidad de sedimentación

k = constante que depende de la temperatura

d = diámetro de partícula

Para este procedimiento se masó 50 gramos de cada suelo en vasos de precipitado de masa conocida y se dejaron secar en la estufa a 105 °C por 24 horas, esto con la finalidad de obtener la masa real de suelo.

Luego se masó 100 gramos de cada suelo en frascos plásticos con tapa, se agregó 100 mL de agua destilada y se agitó para obtener una suspensión a la que luego se agregó 30 mL de oxalato de sodio saturado, agitando hasta que estuvo todo bien mezclado. Cada suspensión se transfirió cuantitativamente a una probeta de 1000 mL, luego se enrazó la probeta hasta los 1000 mL con agua destilada. A continuación se midió la temperatura de la suspensión y se determinó la constante (k) dependiente de la temperatura (figura 33 anexo A), esto con el objeto de determinar el tiempo al que se deben extraer las muestras de cada porción de suelo.

Aproximadamente a los 48 segundos se extrajo una alícuota de 25 mL a 10 cm desde la superficie de la suspensión, se transfirieron a un vaso de precipitado previamente masado y se llevó a la estufa a 105°C por 24 horas y finalmente transcurridas 2,5 se extrajeron alícuotas de 25 mL a 3 cm desde la superficie de la suspensión, se colocaron en vasos de precipitado previamente masados y se llevaron a la estufa a la misma temperatura y tiempo que los vasos anteriores.

Con los datos obtenidos y utilizando las siguientes formulas se obtiene la composición del suelo:

$$\text{Masa Real} = 100\text{g} * \frac{\text{g de suelo efectivo}}{50 \text{ g}} \quad \text{Ec. /3/}$$

La masa de (limo + arcilla) se multiplica por 40, debido a que se toma 25 mL de una solución de 1000 mL (1000/25= 40), luego al valor obtenido se resta 1 por el efecto del agente dispersante.

$$\% \text{ de (Limo + Arcilla)} = \frac{[(\text{g de limo} + \text{arcilla}) * 40] - 1}{\text{masa real g}} * 100 \quad \text{Ec. /4/}$$

$$\% \text{ de (Arcilla)} = \frac{[(\text{g de arcilla}) * 40] - 1}{\text{masa real g}} * 100 \quad \text{Ec. /5/}$$

$$\% \text{ de Limo} = \% (\text{limo} + \text{arcilla}) - \% (\text{arcilla}) \quad \text{Ec. /6/}$$

$$\% \text{ de Arena} = 100 - \% (\text{limo} + \text{arcilla}) \quad \text{Ec. /7/}$$

Finalmente para determinar la textura de los suelos estudiados se usó el triángulo de textura de la USDA (figura 34 anexo A) con los resultados de porcentaje de arcilla, limo y arena obtenidos.

2.2.2 Determinación del pH y la conductividad eléctrica (CE).

➤ Material de vidrio y otros:

- Vasos de precipitado.
- Probetas 50 mL
- Frascos plásticos con tapa.

➤ Reactivos:

- Agua desionizada (grado mili Q)

➤ Equipos:

- Balanza de precisión ACCULAB V-600.
- Agitador orbital LAB. ROTATOR ALREADY ENTERPRISE INC. 5FL-2.
- Conductímetro pH-/EC/TDS HI9813-0 HANNA INSTRUMENT

➤ Procedimiento:

Se masó 20 gramos de cada suelo en dos frascos plásticos de agitación por separado y se incluyó un frasco para el blanco, luego se agregó a cada frasco 50 mL de agua desionizada y se agitó en el agitador orbital durante dos horas a 100 rpm, a continuación se agito manualmente y se dejó sedimentar el suelo por unos momentos y se sumergió el electrodo correspondiente en el sobrenadante para leer el pH y la conductividad eléctrica.

2.2.3 Determinación de carbono orgánico.

➤ Material de vidrio y otros.

- Vasos de precipitado.
- Probetas: 10, 100 mL
- matraz erlenmeyer
- bureta 25 mL
- Tamiz de 1000 μm U.S. Standard Sieve Series

➤ Reactivos

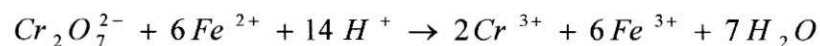
- Agua destilada
- ácido ortofosfórico concentrado (Merck, p.a)
- dicromato de potasio 0,1667 M (Merck, p.a)
- agua desionizada (grado mili Q)
- ácido sulfúrico concentrado (Merck, p.a)
- sulfato ferroso (Merck, p.a)

➤ Equipos

- Balanza de precisión ACCULAB V-600.
- Agitador magnético ARE Heating Magnetic Stirrer VELP científica EQUILAB
- Potenciómetro pH/ORP HANNA INSTRUMENTS HI111
- Electrodo de platino

➤ Procedimiento:

Para la determinación del carbono orgánico fácilmente oxidable se usó el método de Walkley y Black, este consiste en una combustión húmeda del carbono con dicromato de potasio en medio ácido (H₂SO₄). Luego el dicromato residual que no reaccionó se titula con sulfato ferroso. La reacción es la siguiente:



Para este procedimiento se masó 1 gramo de cada suelo previamente tamizado y se transfirió a un matraz erlenmeyer, se incluye un blanco. Luego se agregó 10 mL de dicromato de potasio 0,1667 M a ambos matraces y se añadió cuidadosamente 10 mL

de ácido sulfúrico, se agitaron suavemente los matraces y se dejaron reposar por 30 minutos bajo campana. Posteriormente se agregaron 10 mL de ácido ortofosfórico y además 180 mL de agua desionizada. Finalmente se titula potenciométricamente la solución con sulfato ferroso con un electrodo de platino.

Para determinar el contenido de carbono se usa la siguiente ecuación:

$$C (\%) = \frac{V_2 - V_1}{S} * M * 0,39 * fh \quad \text{Ec. /8/}$$

Donde:

V1 = mL de solución de sulfato ferroso gastado en el blanco.

V2 = mL de solución de sulfato ferroso gastado en la muestra.

M = molaridad de solución de sulfato ferroso.

0,39 = $(3 \cdot 100 \cdot 1,3 / 1000)$ donde 3 (peso equivalente del carbono); 1,3 (factor de compensación por la combustión incompleta de la MO; 1000 (Meq/eq).

S = peso en gramos de la muestra seca al aire

fh = factor de humedad.

El porcentaje de materia orgánica se obtiene con la siguiente ecuación:

$$MO (\%) = 1,724 * C (\%) \quad \text{Ec. /9/}$$

Donde:

El valor 1,724 corresponde al factor de Baumé, el cual es la conversión del porcentaje de carbono a porcentaje de materia orgánica.

2.2.4 Determinación del factor de corrección por humedad

➤ Procedimiento:

Se utilizó el vaso con 50 g de suelo de la determinación de textura y se esperó a que se enfriara y se masó. Esta operación se repitió hasta masa constante.

El porcentaje de humedad (%) se expresa mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{a - b}{b - c} \times 100 \quad \text{Ec. /10/}$$

Dónde:

a = peso en g del suelo seco al aire + recipiente

b = peso en g del suelo seco a 105°C + recipiente

c = peso en g del recipiente

El factor de corrección por humedad (fh) se expresa como:

$$fh = \frac{100 + \text{humedad (\%)}}{100} \quad \text{Ec. /11/}$$

2.3 Preparación de soluciones de clorpirifos.

- Material de vidrio y otros.
 - Matraz de aforo de 1000 mL.
 - Vasos de precipitado.
 - Micropipeta de volumen variable de 100 - 1000 μ L ISOLAB.

- Reactivos
 - Solución de clorpirifos comercial al 48% p/v Troya 4 EC, distribuido por Anasac.
 - Agua desionizada (grado mili Q)

Preparación de solución de clorpirifos comercial

La concentración de clorpirifos comercial es de 48 % p/v, de esta solución se extrajeron 2100 μ L con micropipeta y se transfirieron a un matraz de aforo de 1000 mL, se aforó con agua desionizada para obtener una solución de concentración 1000,9 mg/L, la que fue guardada en botella ámbar en frío.

2.4 Análisis químico.

La determinación del plaguicida se realizó con la ayuda de un equipo cromatográfico líquido (HPLC) WATERS 1525 BINARY HPLC Pump. Las muestras fueron separadas en una Columna Waters C-18, Fase Móvil: Acetonitrilo/agua 70:30, grado HPLC, Velocidad de flujo: 1 mL/min, horno a $30\pm 3^{\circ}\text{C}$, Longitud de onda para clorpirifos de 220

nm, Volumen de inyección: 20 µL. La detección del insecticida se realizó con un detector de arreglo de fotodiodos Waters 2996, para el procesamiento de datos se utiliza el software Empower.

La validación del método analítico para la determinación de Clorpirifos por HPLC se realizó utilizando soluciones tanto del plaguicida estándar como del compuesto comercial.

2.4.1 Validación del método cromatográfico

2.4.1.1 Preparación de curvas de calibración

- Material de vidrio y otros.
 - Matraz de aforo de 100, 10 mL.
 - Vasos de precipitado.
 - Micropipeta de volumen variable de 100 - 1000 µL ISOLAB.

- Reactivos
 - Solución de clorpirifos comercial al 48% p/v Troya 4 EC, distribuido por Anasac.
 - Clorpirifos estándar (Pestanal)
 - Acetonitrilo (Merck, grado HPLC)

➤ Procedimiento

→ Clorpirifos comercial

Se preparó una solución de clorpirifos comercial en Acetonitrilo de 100 mg/L de la cual se sacaron diferentes alícuotas para preparar los diferentes niveles de concentración como se muestra en la tabla 19 en el anexo B.

→ Clorpirifos estándar

Se preparó una solución de clorpirifos estándar en Acetonitrilo, masando 10 mg del estándar aforando a 10 mL con acetonitrilo. Las diluciones se realizaron del mismo modo que el estándar comercial (Tabla 19 anexo B).

2.4.1.2 Rango lineal.

Se prepararon soluciones en un amplio rango de concentraciones desde 100 a 0,2 mgL⁻¹ del plaguicida comercial y de 1000 a 5 mgL⁻¹ del compuesto estándar. Se determinó la función de calibración que describe la respuesta del instrumento frente a la concentración del plaguicida utilizando como modelo una regresión lineal.

$$y = a + b x$$

Ec. /12/

Donde:

a = intercepto

b = pendiente de la regresión

A través de esta función de calibración se determinó la linealidad y se determinaron los límites de detección y cuantificación.

2.4.1.3 Precisión.

Se realizaron tres repeticiones de las inyecciones de cada muestra para ver la dispersión de los datos, se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

2.4.1.4 Límite de detección.

El límite de detección se determinó a través de la curva de calibración total y la desviación estándar de las áreas de la curva de la zona más diluida. Ocupando la siguiente ecuación:

$$LOD = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} \quad \text{Ec. /13/}$$

Donde:

LOD = límite de detección.

Y_{bl} = intercepto de la curva.

S_{bl} = intercepto de la curva de desviación estándar de los puntos de la zona más diluida versus concentración.

b = pendiente de la curva.

2.4.1.5 Límite de cuantificación.

El límite de cuantificación se determinó a través de la curva de calibración total y la desviación estándar de las áreas de la curva de la zona más diluida. Ocupando la siguiente ecuación:

$$LOQ = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} \quad \text{Ec. /14/}$$

Donde:

LOQ = límite de cuantificación.

Y_{bl} = intercepto de la curva.

S_{bl} = intercepto de la curva de desviación estándar de los puntos de la zona más diluida versus concentración.

b = pendiente de la curva.

2.5 Estudio de la persistencia de clorpirifos.

➤ Materia de vidrio y otros.

- Probetas 5 mL
- Matraz de aforo de 1000 mL
- Vasos de precipitado.
- Potes plásticos
- Frascos plásticos con tapa.
- tubos de centrifuga
- Micropipeta de volumen variable de 100 - 1000 µL ISOLAB
- filtros Millex de 0,22 µm

➤ Reactivos

- Solución de clorpirifos comercial 1000 ppm
- Acetonitrilo (Merck, grado HPLC).
- hexano (Merck, grado HPLC)
- agua desionizada (18,2 Mohm de resistividad) obtenida en un equipo Millipore

➤ Equipos

- Agitador orbital LAB. ROTATOR ALREADY ENTERPRISE INC. 5FL-2.
- Centrifuga ALREADY ENTERPRISE INC. Modelo DSC – 156 T a 3000

➤ Procedimiento:

2.5.1 Incubación

Para la incubación de los suelos con plaguicida se prepararon 20 potes plásticos para cada suelo como se observa en la figura 10 y se aplicó el plaguicida de acuerdo al diseño que se muestra en la tabla 7. Se rociaron los potes con agua periódicamente para mantener la humedad a capacidad de campo.

Tabla 7. Resumen del procedimiento de incubación de suelos con plaguicida.

Nombre de la muestra	Suelo (g)	Plaguicida aplicado (mL solución 1000 mg/L)	Agua desionizada(mL)
SCC o SEC T _x Acetonitrilo	10	0	5
SCP o SEP T _x Acetonitrilo	10	5	0
SCC o SEC T _x Hexano	5	0	2,5
SCP o SEP T _x Hexano	5	2,5	0

SC: suelo calera, SE: suelo san esteban, T_x: número de extracción



Figura 10. Potes con suelos incubados con plaguicida.

2.5.2 Extracción

Las extracciones para el estudio de la persistencia se realizaron cada 7 días, considerando día cero el momento de la incubación. Se transfirió el sólido desde el pote plástico a un frasco de boca ancha con 5 mL de Acetonitrilo para arrastrar todo el suelo, luego se agitó por 30 minutos en agitador orbital, esta operación se repitió tres veces, luego se centrifugó a 3000 rpm por 15 min, se filtró y guardó en frío para su análisis posterior.

La extracción también se realizó con hexano para comparar la capacidad extractiva de los solventes con 2 mL de hexano por tres veces luego se centrifugó, evaporó, resuspendió en 2 mL de acetonitrilo, se filtró y guardó en frío para su posterior análisis.

En la figura 11 se muestra un esquema resumen de las muestras realizadas para el estudio de persistencia.

Persistencia									
Ensayo cada 7 días	Extracción con acetonitrilo				Extracción con hexano				
	Controles		Con Plaguicida		Controles		Con Plaguicida		
	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T0	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T1	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T2	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T3	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T4	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T5	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T6	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T7	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T8	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban
T9	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo Calera	Suelo San Esteban	Suelo San Esteban

Figura 11. Esquema de muestras realizadas en el estudio de persistencia.

2.6 Estudio de biodisponibilidad de clorpirifos en plantas de trigo (*Triticum aestivum itálica cv Quellen*).

➤ Material de vidrio y otros

- Probetas 5 mL
- Balón 50 mL
- Vasos de precipitado.
- morteros de porcelana
- Frascos plásticos con tapa.
- Maceteros plásticos
- tubos de centrifuga
- filtros Millex de 0,22 µm
- Micropipeta de volumen variable de 100 - 1000 µL ISOLAB
- Semillas de trigo (*Triticum aestivum itálica cv Quellen*)

Nota:

El trigo (*Triticum aestivum*) es un cereal de la familia de las gramíneas, es una planta anual, herbácea de hasta 1,2 m de altura. La variedad Quellen INIA es de tipo panadero y su origen es en el programa de fitomejoramiento de trigo. INIA Quilamapu, Chillan, Chile.

➤ Reactivos.

- Solución de clorpirifos comercial 1000 ppm
- Acetonitrilo (Merck, grado HPLC).
- hexano (Merck, grado HPLC)
- agua desionizada (grado mili Q)

➤ Equipos

- Balanza analítica SHIMADZU AUX220.
- Agitador orbital LAB. ROTATOR ALREADY ENTERPRISE INC. 5FL-2.
- Centrifuga ALREADY ENTERPRISE INC. Modelo DSC – 156 T
- Rotovapor Labotota 4001 efficient Heidolph
- Baño de ultra sonido (BRANSON 2510)

➤ Procedimiento.

Para determinar la biodisponibilidad del plaguicida se preparó maceteros con 250 g de cada uno de los suelos, se añadió 50 mL de solución acuosa de clorpirifos comercial de 1000 ppm y se sembraron 50 semillas de trigo, finalmente las semillas se cubrieron con una capa de suelo de 1 cm, esto se hizo por triplicado y se sumó un macetero testigo al que no se adicionó clorpirifos.

Luego de transcurridos 40 días las plantas obtuvieron una altura aproximada de 15- 20 cm, tamaño suficiente para realizar las extracciones para determinar el plaguicida. Se separó la parte aérea de la planta, las raíces y el suelo aledaño a las raíces. A cada matriz se le realizó el siguiente procedimiento de extracción.



Figura 12. Plantas de trigo para estudio de biodisponibilidad.

Para realizar la extracción del plaguicida cada matriz se dividió en tres porciones, las que se masaron para luego molerlas en un mortero de porcelana (figura 15), añadiendo 5 mL de Acetonitrilo tres veces, el extracto se transfirió a tubos centrifuga y se centrifugaron a 3000 rpm por 15 min, el sobrenadante se filtró y se guardó para su posterior análisis. Este procedimiento se repitió con hexano.



Figura 13. Molienda y homogeneización para la extracción del plaguicida de raíces y parte aérea.

La extracción en el suelo aledaño se hizo igual que las extracciones del ensayo de persistencia del plaguicida en suelo.

Considerando que la concentración del plaguicida en los extractos de la parte aérea y raíz podría estar muy diluida, se realizó una etapa de concentración del analito.

Los extractos fueron evaporados en un rotoevaporador hasta sequedad y posteriormente disueltos en 2 mL de disolvente acetonitrilo con ayuda de ultrasonido y a continuación filtrados y conservados en frío para luego ser analizado.

En el siguiente esquema se muestra un resumen de las muestras del experimento de biodisponibilidad con uno de los extractantes (acetonitrilo), por lo tanto este procedimiento se realizó dos veces.

Maceteros	Raíz	Parte Aérea	Suelo
Suelo Calera 1	3 muestras	2 muestras	1 muestrta
Suelo Calera 2	3 muestras	2 muestras	1 muestra
Suelo Calera 3	3 muestras	2 muestras	1 muestra
Suelo Calera Testigo	3 muestras	3 muestras	1 muestra
Suelo San Esteban 1	3 muestras	3 muestras	1 muestra
Suelo San Esteban 2	3 muestras	2 muestras	1 muestra
Suelo San Esteban 3	3 muestras	3 muestras	1 muestra
Suelo San Esteban Testigo	3 muestras	3 muestras	1 muestra

Figura 14. Esquema de muestras realizadas para el estudio de biodisponibilidad con solvente acetonitrilo.

En la figura 15 se muestra un resumen de los procedimientos hechos a cada una de las muestras que se muestran en la figura anterior (figura 14).

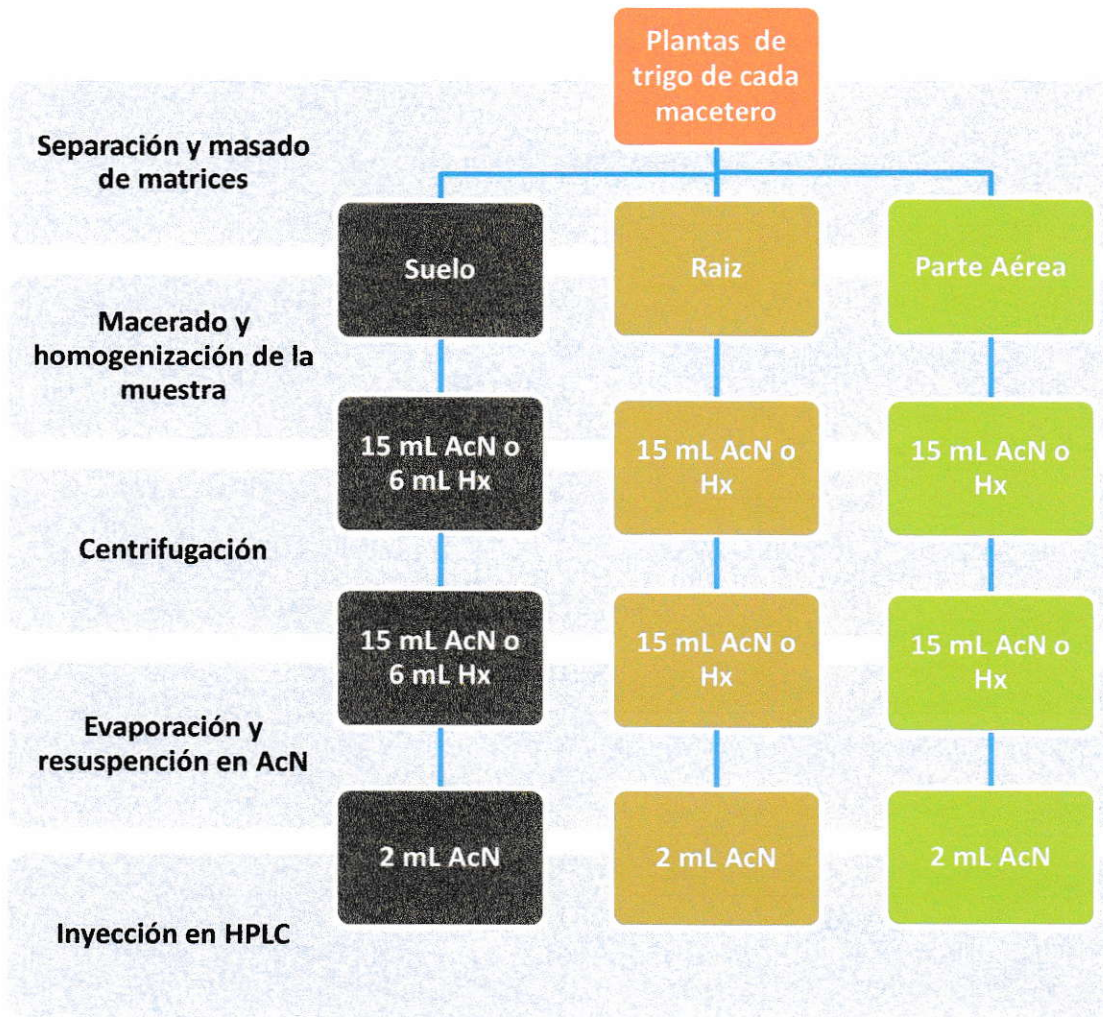


Figura 15. Esquema de trabajo para el estudio de biodisponibilidad.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de los suelos:

Las características físicas y químicas del suelo pueden determinar la interacción que este puede tener con el plaguicida (Honorato, 2000). En la siguiente tabla se muestran algunas características físicas, de cada suelo (cálculos en anexo B).

Tabla 8. Textura de los suelos Calera y San Estaban.

Suelo	% Arcilla	%Limo	%Arena	Textura (USDA)
Calera	12,7	29,9	57,4	Franco arenosa
San Esteban	10,1	43,2	46,7	Franco

La diferencia que hay entre la cantidad de arcilla de los dos suelos no es significativa como la diferencia que hay de la suma de la fracción arcilla y limo con la arena. Considerando que este es uno de los factores que determinan la adsorción, el suelo San Esteban posee un mayor porcentaje de limo más arcilla comparado con el suelo Calera, entonces se podría esperar que este adsorba más el plaguicida que el suelo Calera, ya que es esta partícula del suelo que muestra mayor posibilidad de interacción química debido a su gran área superficial y reactividad. En la siguiente tabla se muestran las características químicas de los suelos estudiados.

Tabla 9. Características químicas de los suelos

Suelo	pH	CE (dS / m)	% MO
Calera	7,8	0,69	3,9
San Esteban	7,6	0,11	2,0

La conductividad eléctrica del suelo Calera es levemente mayor que la del Suelo San Esteban y si consideramos que la conductividad eléctrica indica una estimación de la salinidad de un suelo, según la tabla 10 se consideran ambos suelos como no salinos.

Tabla 10. Clasificación de Suelos según conductividad eléctrica (Honorato, 2000)

Suelo	CE (dS/m)
No salino	0 – 2
Ligeramente Salino	2 – 4
Salino	4 – 8
Muy Salino	8 – 12
Extremadamente Salino	> 12

El pH de los suelos es medianamente alcalino siendo el suelo Calera ligeramente más básico que el San Esteban y por otro lado los valores de carbono orgánico (MO) fácilmente oxidable corresponde a suelo agrícola (valor estimado 5%), siendo el suelo Calera el que muestra el porcentaje más elevado y siendo este un factor importante para la adsorción de compuestos en el suelo se podría esperar que el suelo Calera adsorba más el plaguicida.

3.2 Validación del método cromatográfico

Para el estudio tanto de la persistencia como de la biodisponibilidad del plaguicida clorpirifos en los suelos estudiados se procedió en primer lugar a validar el método analítico utilizado para el análisis químico del plaguicida.

3.2.1 Curva de calibración y rango lineal.

En la figura 16 se ve el gráfico de la curva de calibración de clorpirifos comercial, de donde se obtiene la siguiente ecuación de la recta:

$$y = m x + n$$

$$y = 118768,34 x - 114922,82$$

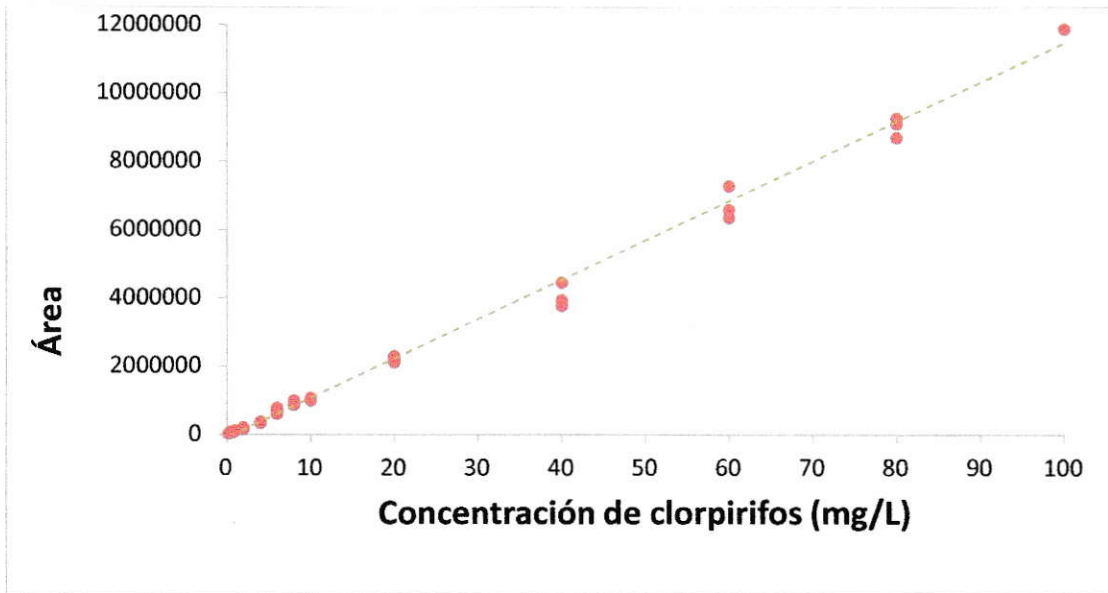


Figura 16. Curva de calibración de clorpirifos comercial.

El valor de coeficiente de correlación (R^2) de la curva es 0,9959, muy cercano a la unidad, por lo que el modelo lineal sería el adecuado para representar los datos obtenidos, pues cuanto más próximo a uno, mayor la precisión del conjunto de datos y menor la incertidumbre de los coeficientes de la regresión estimados (m y n).

La curva de calibración para el compuesto puro (estándar) se presenta en la figura 17, donde se puede apreciar que la respuesta del instrumento es lineal en el rango de concentración ya que el coeficiente de correlación R^2 es 0,9987, cercano a 1. Cuya ecuación de la recta es la siguiente:

$$y = m x + n$$

$$y = 236945,41 x - 28898,10$$

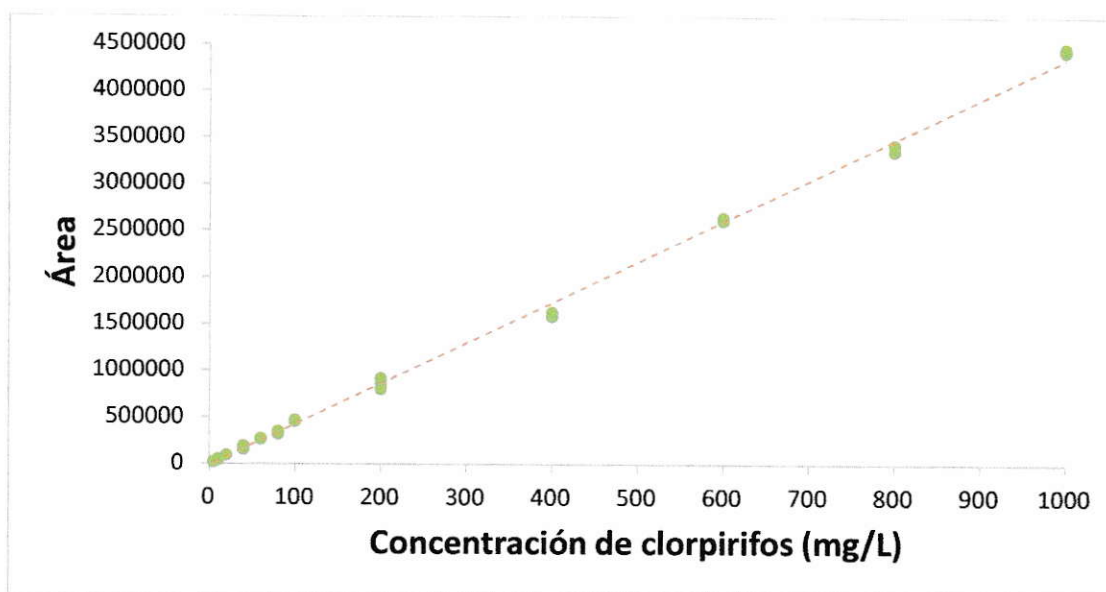


Figura 17. Curva de calibración de clorpirifos estándar.

En el anexo C se pueden ver los cromatogramas del compuesto comercial y el estándar puro, donde se aprecia que los tiempos de retención y los espectros de absorción son los mismos, por lo cual podemos asegurar que el compuesto de la formulación comercial corresponde al estándar.

3.2.2 Precisión.

Se entiende por precisión la capacidad de un instrumento de dar el mismo resultado en mediciones diferentes realizadas en las mismas condiciones (en un corto plazo). Al considerar que precisión se refiere a la dispersión del conjunto de valores obtenidos de mediciones repetidas de una magnitud. Cuanto menor es la dispersión mayor la precisión. Una medida común de la variabilidad es la desviación estándar de las mediciones y la precisión se puede estimar como una función de ella. El coeficiente de variación es el parámetro estadístico que indica, en términos porcentuales, la dispersión de los datos con respecto al valor medio. En la tabla 11 se ve el coeficiente de variación de los datos para clorpirifos comercial, donde se ven valores que indican una buena precisión (inferiores al 10%).

Tabla 11: Precisión del método analítico para clorpirifos comercial.

Concentración clorpirifos (mgL ⁻¹)	Promedio de área	% Coeficiente variación	Promedio t _r	% Coeficiente variación
0,2	22060	6,5	9,361	1,07
0,4	38265	5,8	9,127	0,67
0,6	57948	7,5	8,993	0,23
0,8	75286	6,5	9,104	0,72
1	95334	2,7	9,083	0,04
2	168161	8,7	8,404	0,37
4	348240	4,2	8,488	0,04
6	681156	11,0	8,501	0,03
8	904060	6,7	8,492	0,10
10	1014463	3,5	8,485	0,55
20	2205720	3,6	8,489	0,09
40	4038103	7,2	8,373	0,67
60	6729490	5,9	9,361	0,03
80	8996320	2,6	9,127	0,09
100	11871400	0,1	8,993	0,02

3.2.3 Límite de detección y cuantificación.

Al procesar los datos de áreas obtenidos por el cromatógrafo, ocupando las ecuaciones 13 y 14 se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 12. Límites de detección y cuantificación para clorpirifos comercial y estándar.

Compuesto	LD (mgL ⁻¹)	LC (mgL ⁻¹)
Comercial	0,98	1,00
Estándar	0,032	0,105

3.3 Estudio de la persistencia de clorpirifos en los suelos estudiados

La desaparición de un plaguicida del suelo ocurre en tres fases: una etapa inicial muy breve en la que se mantiene una alta concentración del plaguicida llamada fase de latencia, luego una fase de disipación donde el plaguicida desaparece rápidamente y finalmente una etapa en la que la disminución es lenta como se ve en la figura 18.

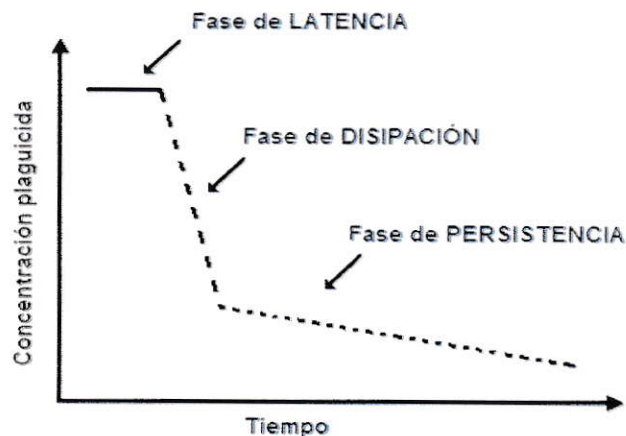


Figura 18. Fases de desaparición de plaguicida en el suelo.

Con los datos de área de las inyecciones de muestras de suelo incubado con plaguicida y posterior extracción del plaguicida a los distintos tiempos (T0 a T9) como se describe en la sección de materiales y método, más la ecuación de la curva de calibración obtenida en la etapa de validación del método se obtuvo la concentración de clorpirifos en equilibrio en mgL^{-1} , con estos datos se construyeron gráficos que muestran como el plaguicida se disipa a través del tiempo en cada suelo, para así compararlos con las fases de desaparición de plaguicida en el suelo de la figura 18.

Para el estudio de la persistencia de clorpirifos utilizando como solvente extractante acetonitrilo se obtuvo para el suelo Calera, el siguiente gráfico:

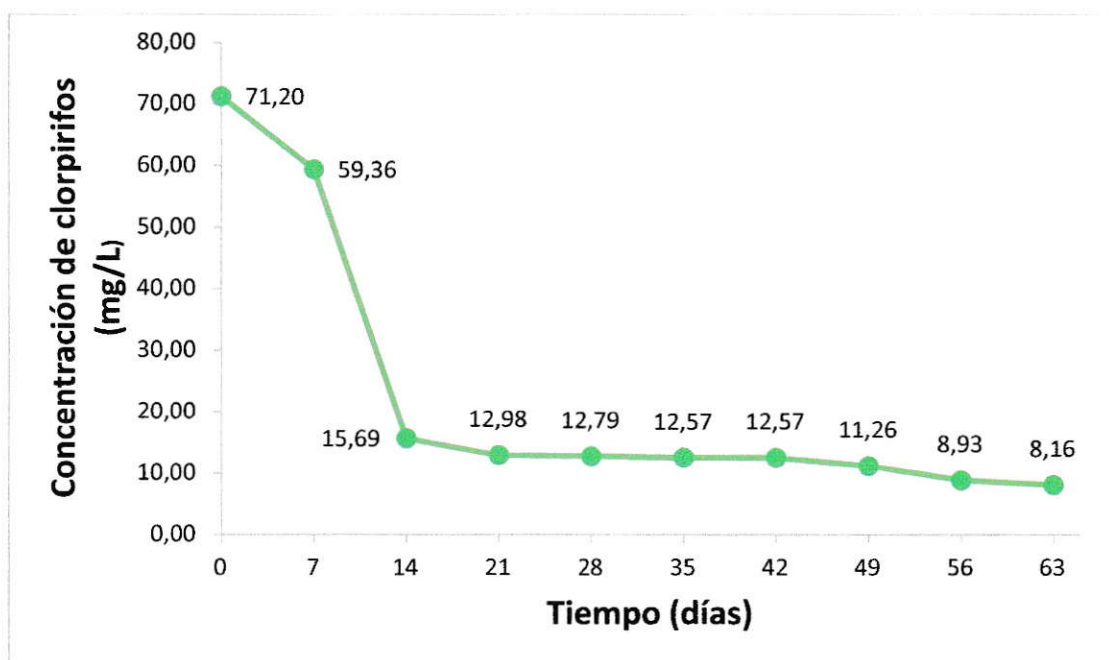


Figura 19. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con acetonitrilo como extractante en el suelo Calera.

Para el suelo San Esteban en las mismas condiciones se obtuvo el gráfico que se muestra a continuación:

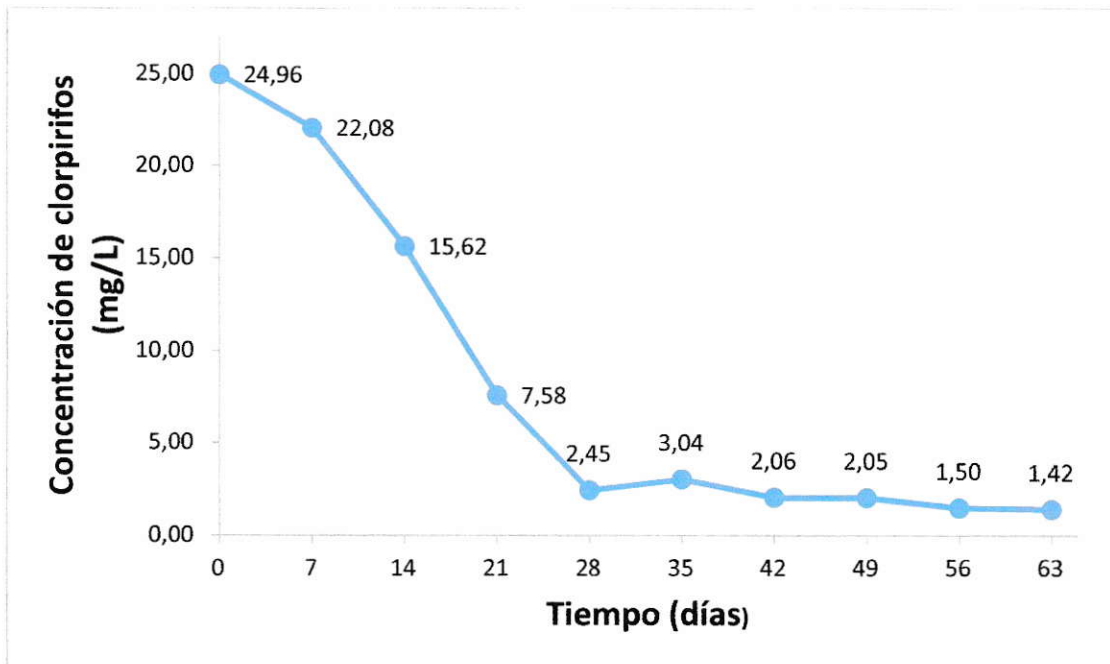


Figura 20. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con acetonitrilo como extractante en suelo San Esteban.

Se ve en ambos suelos una tendencia similar a la de la figura 18, con una disipación rápida determinada por el tiempo de vida media D_{50} de 14 días Suelo Calera y 28 días Suelo San Esteban y luego un proceso lento de persistencia determinado por D_{75} .

Cuando se comparan considerando el porcentaje del plaguicida en equilibrio en cada suelo, (figura 21) se observa que en ambos suelos se disipa gran cantidad del plaguicida, a tiempo cero se encuentran un 22 % en el suelo Calera y un 8 % en el suelo San Esteban. Además es posible observar que a los 63 días, tiempo de término

de este estudio aún se encuentra un 2,4 % en suelo Calera y un 0,3 % en suelo San Esteban. De hecho al calcular el DS 75 (Tabla 14), dato que nos indica la fase de persistencia, se encuentra que la disipación del 75 % de la concentración inicial es a los 46 y 27 días en suelo Calera y San Esteban respectivamente.

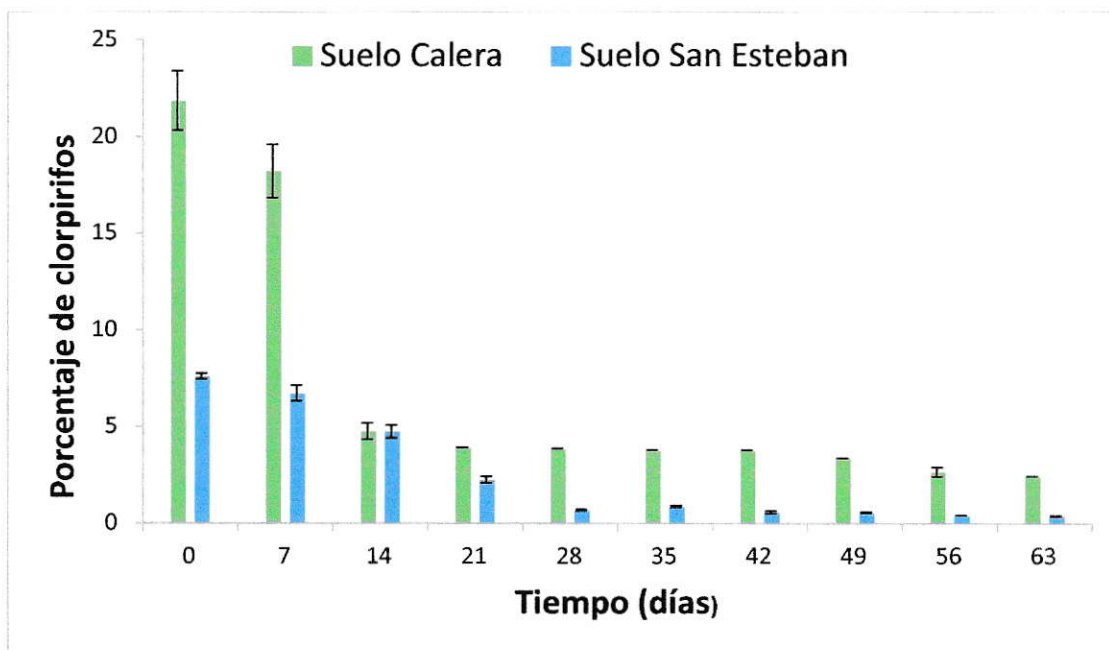


Figura 21. Comportamiento de persistencia de clorpirifos entre los dos suelos.

En las figuras 22 y 23 se muestran los gráficos correspondientes para el suelo Calera y suelo San Esteban con hexano como solvente de extracción.

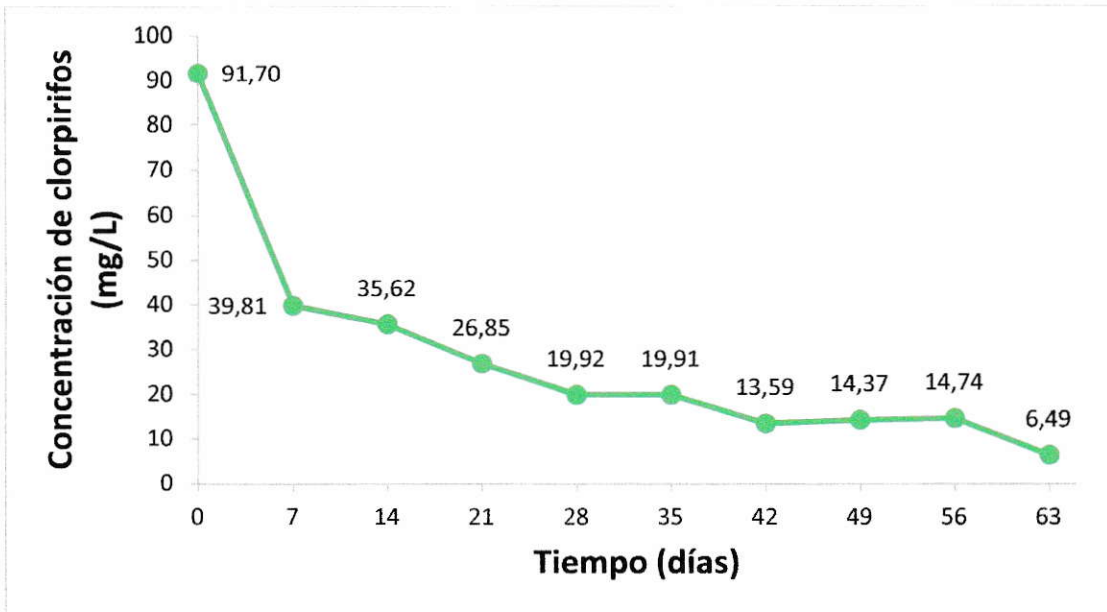


Figura 22. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con hexano como extractante en suelo Calera.

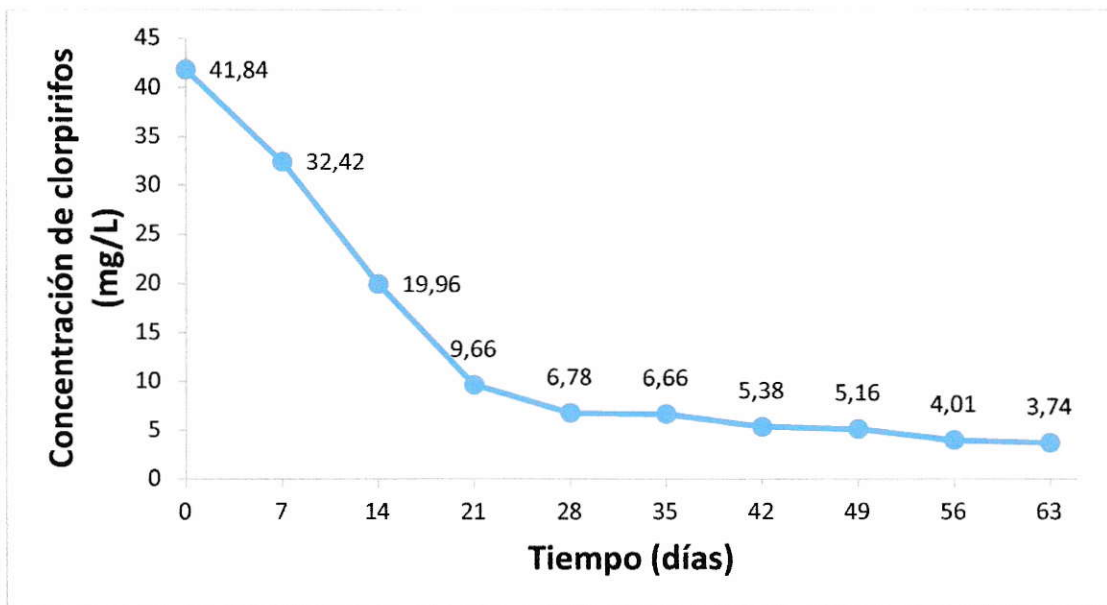


Figura 23. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo con hexano como extractante en suelo San Esteban.

Para ambos suelos, se observa una etapa de disipación rápida (7 días suelo Calera y 14 días suelo San Esteban) aproximadamente la mitad del tiempo determinado con acetónitrilo.

En la figura 24 se observa el mismo comportamiento mostrado con acetónitrilo como extractante, aunque los porcentajes del plaguicida en ambos suelos a los 63 días son levemente mayores. Los DS 75 son de 43 y 36 días en suelo Calera y San Esteban respectivamente.

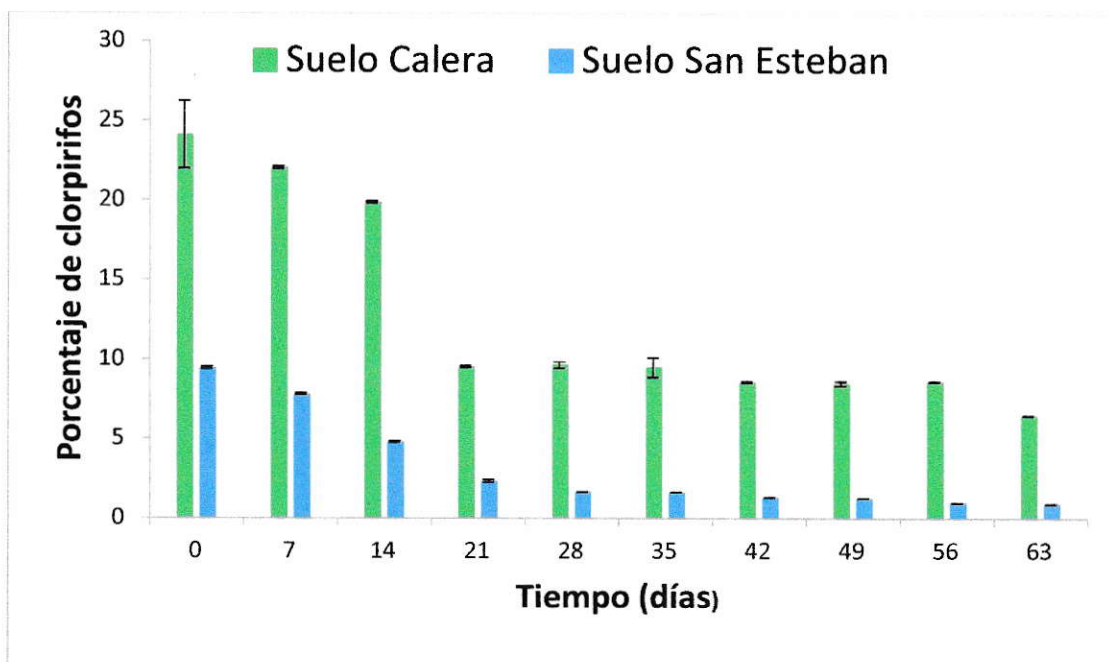


Figura 24. Comportamiento de persistencia de clorpirifos entre ambos suelos.

En las figuras anteriores se ve que el suelo San Esteban es el que libera menor cantidad del plaguicida, lo que implica que la disipación es mayor que en el suelo Calera, que muestra mayores concentraciones del plaguicida en equilibrio.

La disipación de clorpirifos en este estudio se debería tanto a la degradación como a la adsorción de este en el suelo. Las vías de degradación de clorpirifos en el suelo más significativas pueden ser tanto bióticas como abióticas. Dentro de los factores abióticos el más relevante es la hidrólisis, catalizada por el contenido de humedad del suelo y el pH (Camarda, 2005).

La hidrólisis como principal vía de degradación de clorpirifos puede ser química o enzimática, para el caso de la hidrólisis enzimática la enzima fosfatasa es responsable de la formación del 3,5,6-tricloropiridinol (TCP) (Giesy y col., 1999).

En el caso de la hidrólisis química se puede considerar que clorpirifos posee tres enlaces tipo éster en los que puede ocurrir ruptura hidrolítica: 2 enlaces éster alquilo terciarios y un enlace éster fosfato. En una hidrólisis alcalina (considerando el pH alcalino de los suelos) ocurre un ataque nucleofílico del ión hidroxilo al átomo de fósforo provocando la pérdida de un grupo alcohol (Smith y col. 1978).

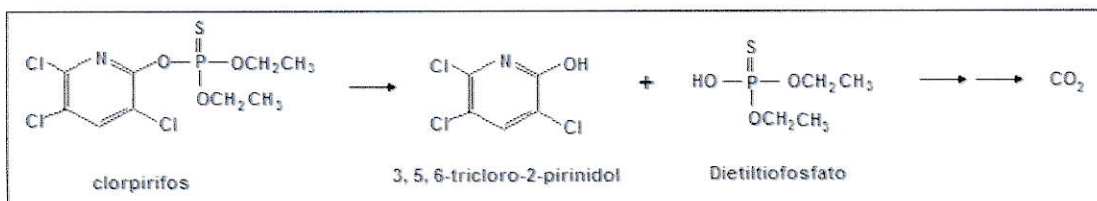


Figura 25. Hidrólisis alcalina de clorpirifos.

Según la estructura del plaguicida clorpirifos, que presenta un enlace P=S (tiofosfato), algunos autores concluyen que los organofosforados de este tipo son adsorbidos fuertemente por la materia orgánica del suelo. Esta adsorción es especialmente controlada por los ácidos fúlvicos, a través de residuos ligando y de preferencia tiene lugar en plaguicidas apolares, no iónicos y sin carga como clorpirifos (Sanchez y col. 1991 citado en Camarda, 2005).

Si consideramos la caracterización hecha a los suelos anteriormente, se puede indicar que la cantidad de arcilla no es determinante en este caso, ya que la diferencia entre los dos suelos no es significativa, por lo tanto el factor que debería tener mayor relevancia es la materia orgánica presente en cada suelo.

Al comparar los contenidos de materia orgánica de cada suelo se observa que el suelo que produce una mayor disipación del plaguicida es el que tiene menor cantidad de materia orgánica, lo que hace pensar que debe haber otro factor que determinara el proceso de disipación (tanto la adsorción del plaguicida como su degradación).

El estudio realizado por Van Emmerik *et. al.* en el año 2007 muestra que el tipo de arcillas tendría un rol importante en la cantidad de compuesto adsorbido, al comparar suelos con montmorillonita, caolinita y gibsita, y realizar análisis antes y después de adicionar ácidos húmicos al suelo observó que el suelo con montmorillonita presenta una mayor adsorción de clorpirifos que los otros antes de la adición de ácidos húmicos, y menor adsorción después de la adición (Van Emmerik y col, 2007).

Como el estudio realizado a los suelos no contempló la caracterización de las arcillas no hay datos que permitan decir claramente cuál es el tipo de arcilla que tiene cada uno, pero por lo informado por Van Emmerik se podría indicar que el suelo Calera posee arcillas expandibles (como es la montmorrillonita o la vermiculita) que haría que la mayor cantidad de materia orgánica tenga el efecto contrario en la adsorción del plaguicida, es decir menor adsorción, esto debido a que las moléculas de ácidos húmicos son capaces de bloquear el paso del plaguicida a los poros internos que posee la partícula de arcilla.

La disminución del plaguicida que se observa en todas las figuras (19, 20, 22 y 23) coincide con lo presentado en la literatura acerca del comportamiento de los plaguicidas, en la que se describe su desaparición del suelo de acuerdo con la ley cinética de primer orden.

Según Navarro (1992) los modelos propuestos para estudiar la desaparición de los plaguicidas en los suelos, se basan en considerar una sola variable; la concentración. Estos modelos establecen una relación de dependencia de la velocidad de degradación con la concentración existente del plaguicida en un determinado tiempo.

Al considerar como factor limitante solo la concentración del plaguicida, la reacción de degradación es de primer orden (Camarda, 2005).

Donde:

$$[A] = [A]_0 e^{-kt}$$

De esta ecuación se obtiene la constante de velocidad "k", que luego se utiliza para obtener el valor del tiempo de vida media (cálculos en anexo B):

$$T_{1/2} = (\ln 2)/k$$

Tabla 13. Valores de tiempo de vida media de clorpirifos.

Suelo	$t_{1/2}$ acetonitrilo	$t_{1/2}$ hexano
Calera	23 días	22 días
San Esteban	14 días	17 días

Se puede observar que para el suelo Calera el tiempo de vida media no varía mayormente con el cambio de extractante, y para el suelo San Esteban hay una variación siendo levemente mayor con hexano. Esto se puede explicar suponiendo que el hexano interactúa de alguna manera con el suelo San Esteban de modo que libere mayor cantidad de clorpirifos, y presumiendo que esta interacción no se da con el suelo Calera.

Tabla 14. Valores de tiempo de disipación al 75% de clorpirifos.

DS 75	Acetonitrilo (días)	Hexano (días)
Suelo Calera	46,2	43,3
Suelo San Esteban	27,2	35,5

Además con los datos obtenidos también se puede tener una idea de la movilidad del plaguicida en los suelos, en el anexo B se encuentran los cálculos para obtener el índice de GUS.

El índice de GUS, determina la posibilidad de lixiviación o difusión del plaguicida en el suelo hacia las aguas subterráneas, en la que si $GUS > 2,8$, los plaguicidas son lixiviables; si $GUS < 1,8$, plaguicidas no lixiviables, y tienen lixiviación intermedia, los compuestos que tengan GUS entre 1,8 y 2,8.

Tabla 15. Valores de índice de GUS para clorpirifos.

Suelo	GUS acetónitrilo	GUS hexano	Interpretación
Calera	0,89	1,51	No lixiviable
San Esteban	0,25	0,89	No lixiviable

Entonces se podría indicar que en el suelo Calera y San Esteban el plaguicida Clorpirifos no es un peligro para la napa freática ya que según el índice de GUS no lixiviaría. Estos resultados están de acuerdo con el elevado poder adsorbente de ambos suelos hacia el plaguicida.

En la figura 26 se muestra un gráfico comparativo del efecto que tiene el cambio de extractante en la cantidad de clorpirifos en equilibrio.

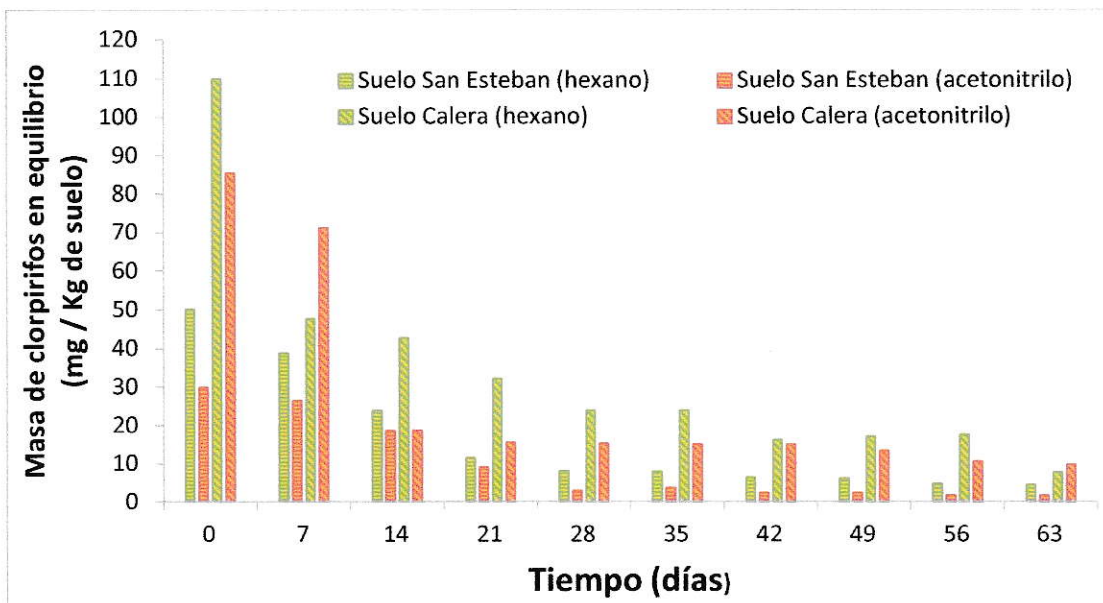


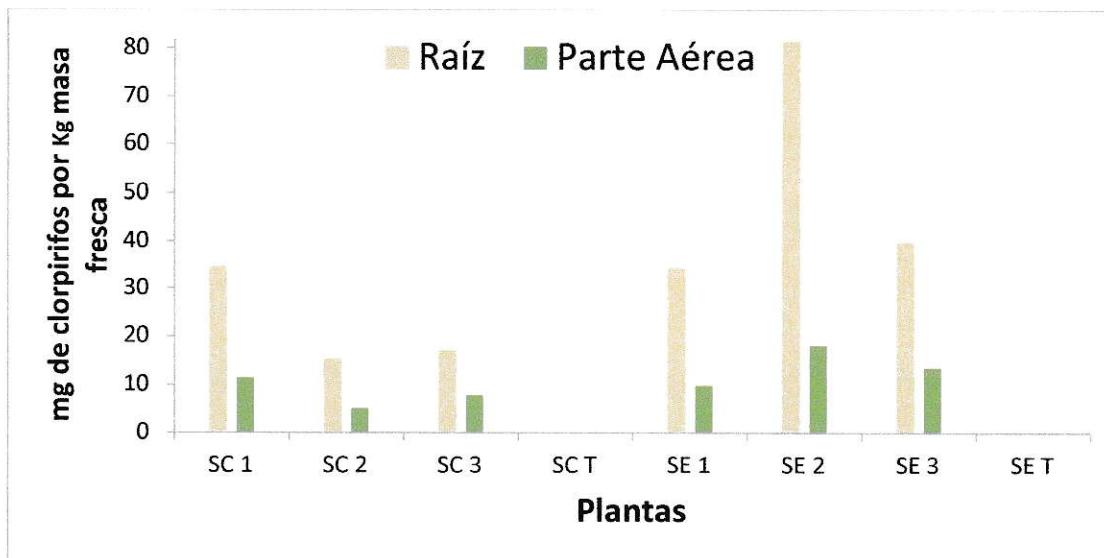
Figura 26. Comparación de persistencia de clorpirifos en los dos suelos con los dos extractantes.

El efecto se ve más claramente en el suelo Calera donde la masa de clorpirifos en equilibrio es mayor cuando se realiza la extracción con hexano. Sin embargo la mayor diferencia se observa cuando la concentración del compuesto extraído es más alta (tiempo cero).

3.4 Estudio de biodisponibilidad de clorpirifos en suelos utilizando plantas de trigo (*Triticum aestivum itálica cv Quellen*).

Plantas de trigo de 41 días de edad fueron cortadas, separando parte aérea y raíz, maceradas y posteriormente sometidas a procesos extractivos. El suelo aledaño a las raíces también fue sometido a procesos extractivos. La concentración de clorpirifos en las tres matrices naturales fue cuantificado.

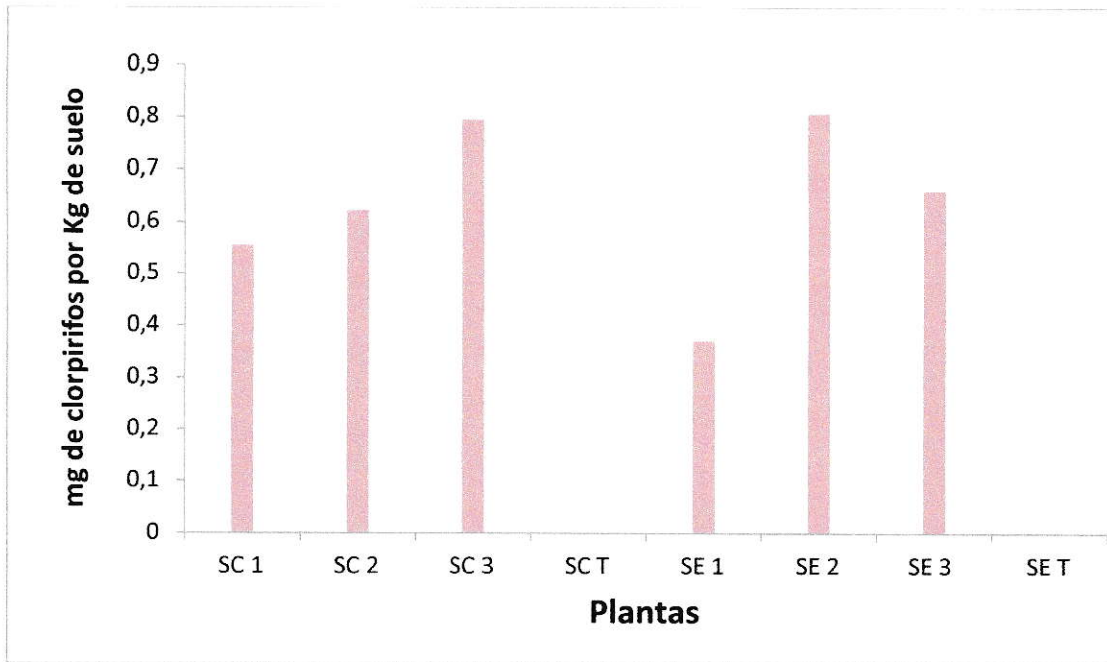
El plaguicida clorpirifos está presente en las tres matrices estudiadas, lo que indica que el plaguicida clorpirifos se encontró biodisponible para las plantas de trigo.



SC: Suelo Calera; SE: Suelo San Esteban; 1, 2, 3: replicas en maceteros distintos; T: testigos

Figura 27. Masa de clorpirifos absorbida por las plantas con acetoneitrilo como extractante.

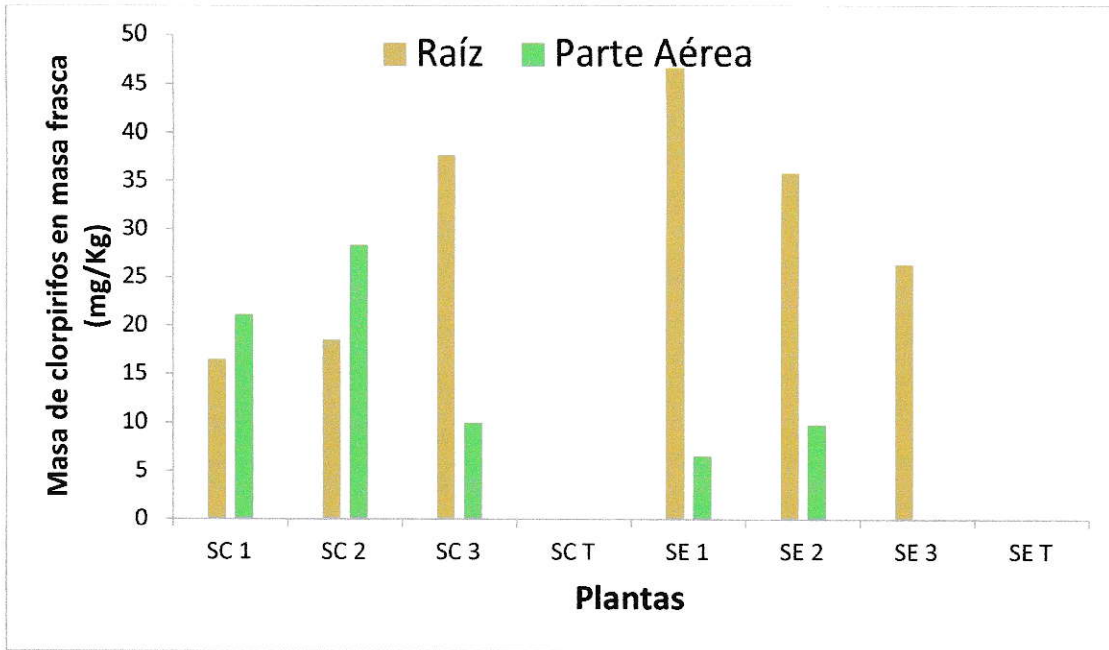
En la figura 27 se observa que al extraer con acetoneitrilo la matriz que presenta mayor cantidad de clorpirifos es la raíz. Además se ve que las plantas cultivadas en suelo San Esteban absorben mayor cantidad del plaguicida.



SC: Suelo Calera; SE: Suelo San Esteban; 1, 2, 3: replicas en maceteros distintos; T: testigos

Figura 28. Masa de clorpirifos en suelo aledaño a la raíz con acetónitrilo como extractante.

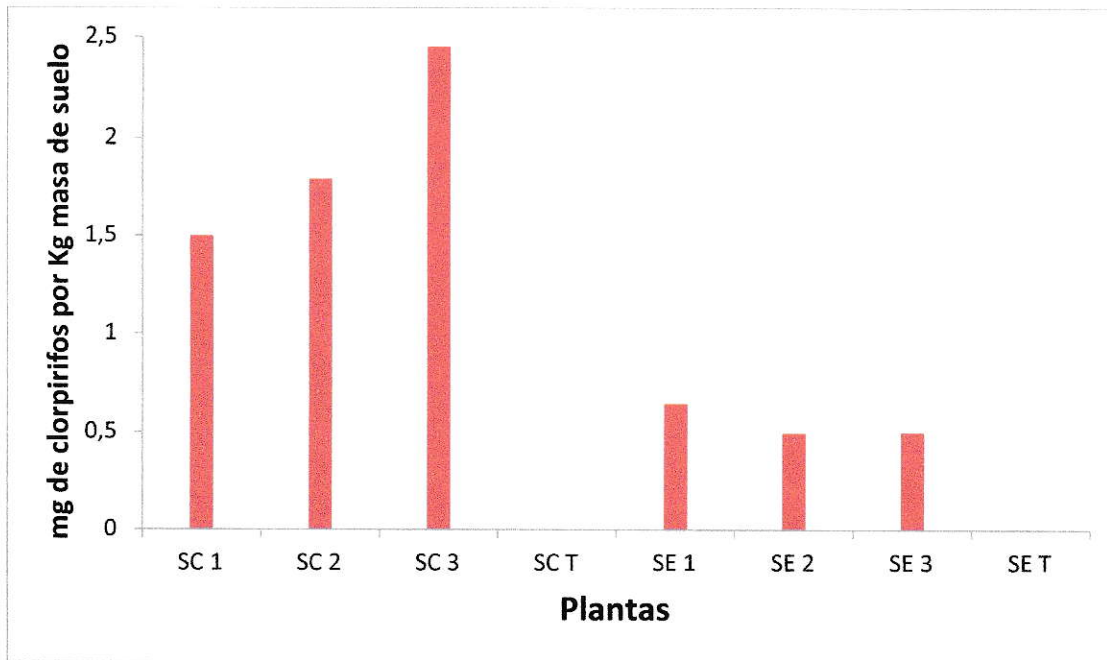
En relación a la cantidad de clorpirifos en la fracción de suelo aledaño a las raíces (figura 28) no se aprecia una tendencia clara, lo que sí se puede apreciar es que la masa es menor que la que se tendría si no se hubiera realizado el cultivo de trigo ($12,3 \text{ mgL}^{-1}$ y $2,8 \text{ mgL}^{-1}$ para el suelo Calera y San Esteban respectivamente). Esto podría deberse a la absorción del plaguicida por las plantas.



SC: Suelo Calera; SE: Suelo San Esteban; 1, 2, 3: replicas en maceteros distintos; T: testigos

Figura 29. Masa de clorpirifos absorbido por raíz y parte aérea de las plantas con hexano como extractante.

La figura 29 corresponde a la extracción realizada con hexano. Esta muestra que las raíces de las plantas cultivadas en el suelo San Esteban absorbieron más plaguicida que las del suelo Calera, y la parte aérea de las cultivadas en el suelo Calera presentan mayor cantidad de clorpirifos que las del suelo San Esteban.



SC: Suelo Calera; SE: Suelo San Esteban; 1, 2, 3: réplicas en maceteros distintos; T: testigos

Figura 30. Masa de clorpirifos en suelo aledaño a la raíz con hexano como extractante.

La tendencia que se observa en la figura 30 es similar a lo apreciado en el estudio de persistencia del insecticida, donde de la masa de clorpirifos en equilibrio es mayor para el suelo Calera que para el suelo San Esteban.

Para simplificar y hacer más claro el análisis de la cantidad de clorpirifos absorbida por cada parte de la planta (raíz y parte aérea) y lo extraído del suelo aledaño a las raíces se calculó el promedio de las réplicas de cada suelo y su desviación estándar como se muestra en la figura 31.

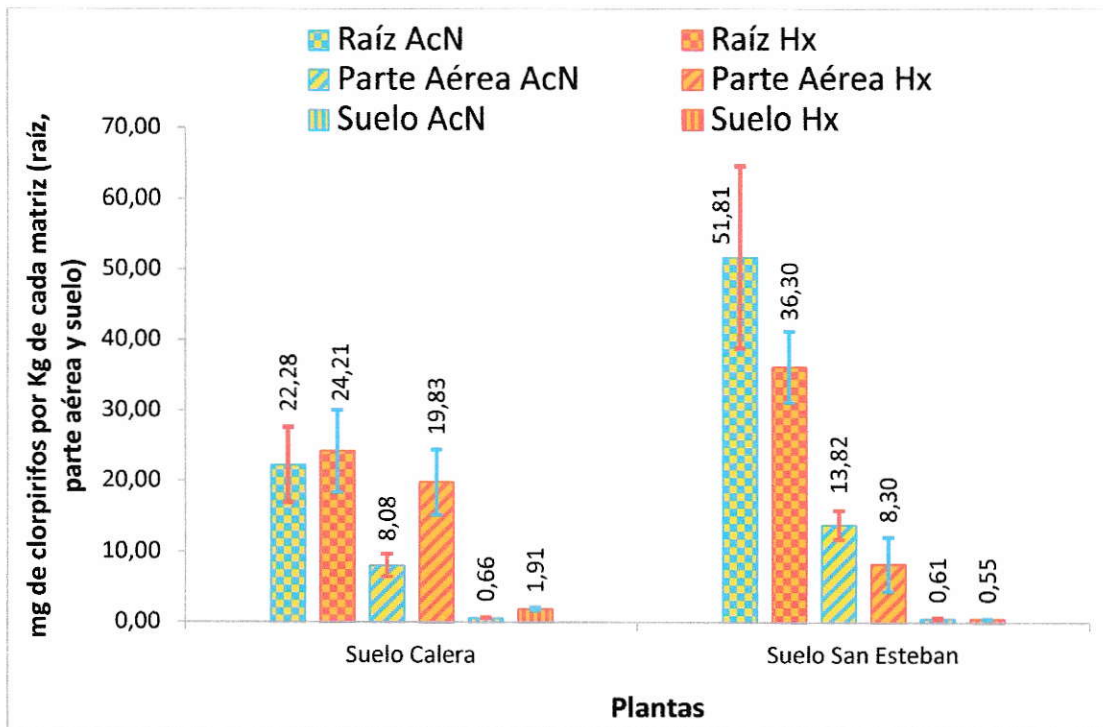
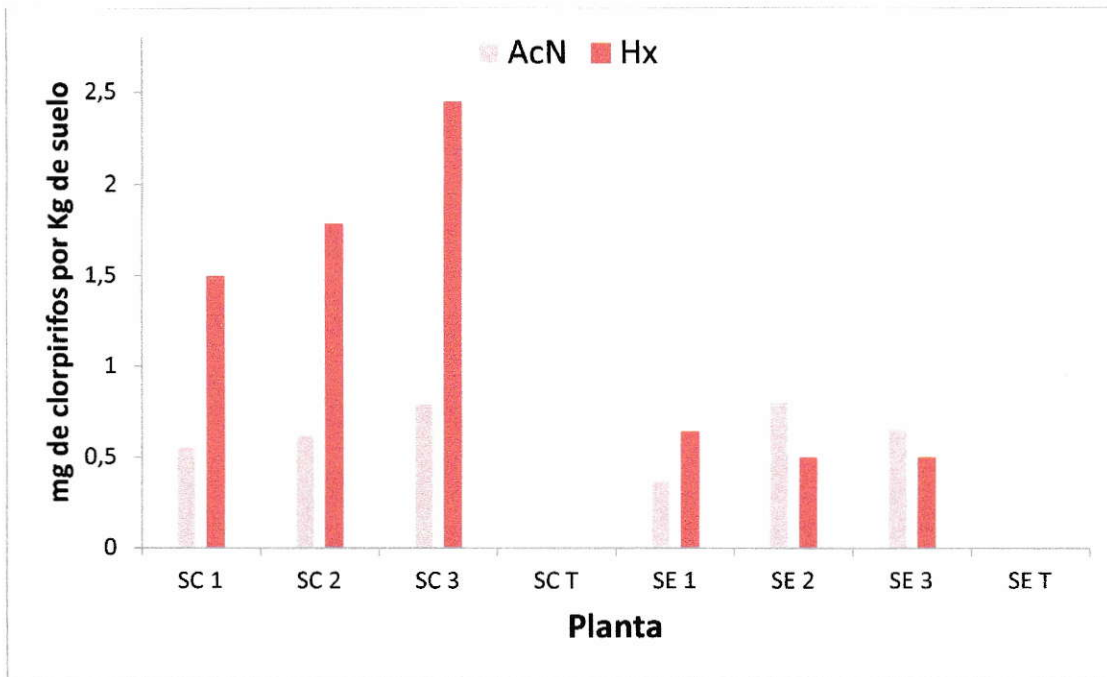


Figura 31. Comparación de clorpirifos absorbido por las raíces, parte aérea de las plantas y el suelo, extraído con hexano y acetonitrilo.

Al comparar las matrices estudiadas raíz y parte aérea, con los solventes extractantes utilizados (Figura 31) no se observa una tendencia clara sobre que solvente fue más eficiente en la extracción del plaguicida al contrario del estudio de la persistencia donde hexano fue el mejor extractante que el acetonitrilo. Esto nos sugiere que la matriz, es decir el conjunto de compuestos presentes en la raíz o parte aérea respectivamente, podrían determinar la interacción que tendría el compuesto con el solvente extractante.



SC: Suelo Calera; SE: Suelo San Esteban; 1, 2, 3: replicas en maceteros distintos; T: testigos

Figura 32. Comparación de masa de clorpirifos en el suelo extraído con hexano y acetónitrilo

En la matriz suelo aledaño a las raíces se aprecia que en el suelo Calera el solvente hexano es mejor extractante que el acetónitrilo, pero en el suelo San Esteban la diferencia no es evidente.

De la figura 31 se entiende que la cantidad de clorpirifos que se encuentra en equilibrio en cada suelo no determina de la cantidad de clorpirifos absorbido por la planta ya que son las plantas cultivadas en el suelo San Esteban (menor cantidad de clorpirifos en solución) las que absorben mayor cantidad del plaguicida.

3.5 Análisis de la interacción de clorpirifos con el suelo.

En general los mecanismos relacionados con la retención de compuestos orgánicos en el suelo son: intercambio iónico, enlace por puente de Hidrógeno, enlace catiónico, cambio de ligando, protonación, fuerzas de London-van der Waals, enlace covalente, retención física, interacciones hidrofóbicas.

Estos mecanismos dependen de la naturaleza química del plaguicida, propiedades de la materia orgánica, y de las condiciones del medio (pH, fuerza iónica, potencial redox, contenido en agua). De acuerdo a las propiedades de clorpirifos se pueden descartar algunos de los mecanismos antes mencionados como: intercambio iónico, enlace catiónico y protonación debido a que es una molécula no ionizable, por otro lado los mecanismos que podrían estar relacionados con la retención de clorpirifos a los suelo en estudio son:

El enlace por puentes de Hidrógeno que es una interacción fuerte dipolo-dipolo, producida por la atracción electrostática entre un núcleo de H electropositivo y pares de electrones expuestos en átomos electronegativos (F, O, S, Cl) (Calvelo, 2008). Como serían los átomos de oxígeno del enlace éster fosfato y los de los enlaces éster alquil, el azufre y los átomos de cloro de clorpirifos con los H de la materia orgánica del suelo.

Las fuerzas de London-van der Waals que son, en su conjunto, fuerzas que actúan a corta distancia, enlaces resultantes de fuerzas de dispersión debido a interacciones dipolo inducido-dipolo inducido. Si bien la fuerza de estas interacciones es débil, son aditivas, aumentando con el área de contacto y pueden ser especialmente importantes

en la sorción de materiales de gran masa molar, ya que esto implica que muchos grupos moleculares puedan presentar este tipo de fuerzas (Calvelo, 2008). La molécula de clorpirifos al entrar en contacto con algún dipolo, como es el agua, forma un dipolo inducido lo que hace posible esta interacción.

Las interacciones hidrofóbicas que se tratan de un reparto de plaguicidas no polares fuera de la fase acuosa polar sobre superficies hidrofóbicas en el suelo (fundamentalmente materia orgánica, pero también superficies minerales con enlaces – Si-O-Si-). La interacción es relativamente débil (Calvelo, 2008). Clorpirifos es un plaguicida hidrofóbico si se considera su Kow y solubilidad en el agua, por lo que este tipo de interacción es posible.

La retención física donde los plaguicidas pueden quedar inmovilizados (“atrapados”) mediante una acumulación del compuesto en la matriz del suelo, debido a una penetración profunda en nanoporos. En este proceso es muy importante el tiempo que el plaguicida permanece en el suelo, lo que afecta a su biodisponibilidad (Alexander, 2000 citado en Calvelo 2008).

Para evaluar la capacidad de un compuesto para ser retenido se utiliza el coeficiente de reparto entre la fase líquida y la fase sólida, Kd (coeficiente de distribución), parámetro variable en función de las propiedades del suelo utilizado. Este coeficiente puede ser normalizado en función del contenido de carbono orgánico del suelo: $Koc = Kd / foc$, siendo foc la fracción orgánica del suelo. Cuando el valor de Koc es alto indica su afinidad por la materia orgánica del suelo (Calvelo, 2008). Este sería el caso de clorpirifos con un Koc de 3,9.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que el proceso de persistencia del insecticida clorpirifos que depende de las características físicas y químicas del suelo, y de las propiedades fisicoquímicas del plaguicida como parte de la dinámica de un plaguicida en el suelo determina la biodisponibilidad de este, pero no su magnitud.

La caracterización física y química de los suelos Calera y San Esteban muestran que el suelo Calera, posee un porcentaje levemente mayor de arcilla y materia orgánica, que el suelo San Esteban. También muestra que ambos suelos son moderadamente alcalinos, siendo el suelo Calera más alcalino. Lo que indica que el suelo Calera es el suelo que tiene mayor tendencia a adsorber el plaguicida en estudio. Por otro lado dado que el estudio de persistencia de clorpirifos muestra que la concentración en equilibrio de este es mayor para el suelo Calera, se puede decir que hay otros factores que determinan la adsorción de un plaguicida al suelo, como podría ser el tipo de arcilla presente.

El método analítico utilizado en la determinación de clorpirifos resultó ser sensible en el rango de concentraciones usadas para el estudio de persistencia de clorpirifos en los suelos, con límites de detección y cuantificación de 0,98 y 1 mg L⁻¹ respectivamente para el compuesto comercial, pero no lo suficiente para el estudio de biodisponibilidad,

debiéndose hacer una pre concentración de los extractos para ser determinados. Por otro lado el modelo lineal para la curva de calibración, se ajusta correctamente a los datos pues al graficarlos se obtuvo un coeficiente de correlación cercano a uno. La precisión del método evaluada con el coeficiente de variación es buena con valores menores al 10%.

El plaguicida clorpirifos persiste hasta los 63 días (tiempo límite de este estudio) en los dos suelos analizados. Dado que el tiempo de vida medio en el suelo Calera fue mayor que en el suelo San Esteban se puede concluir que el suelo San Esteban tiene las condiciones para que el plaguicida se disipe más rápidamente. La concentración de clorpirifos a tiempo cero es menor en el suelo San Esteban lo que indica mayor interacción con el plaguicida, se adsorbe más. La dinámica de disipación del plaguicida fue descrita con una cinética de primer orden. Por lo tanto este comportamiento del plaguicida en ambos suelos permitió que estuviera biodisponible para las plántulas de trigo ya que todas las matrices (raíz, parte aérea y suelo aledaño a la raíz) analizadas absorbieron el plaguicida.

De la comparación de los solventes extractantes se puede concluir que para la matriz suelo el hexano es el que presenta una mayor eficiencia debido a que extrae mayor cantidad del plaguicida, este hecho es consistente pensando que es un solvente más apolar que el acetonitrilo, lo que implica una mayor interacción con el compuesto en estudio y competencia con la materia orgánica del suelo. No se puede hacer la misma

afirmación para las dos matrices restantes, raíz y parte aérea ya que los resultados no muestran una tendencia clara en este sentido.

Los resultados del ensayo para determinar la biodisponibilidad de clorpirifos muestran que se produce absorción del plaguicida por la planta. La comparación de la cantidad de clorpirifos en cada matriz, en este ensayo, muestra mayor cantidad del plaguicida en la raíz que en la parte aérea, por este motivo se puede decir que la absorción de clorpirifos por la planta es principalmente a través de adsorción-retención por la raíz y debido a su hidrofobicidad el compuesto pasa minoritariamente a la parte aérea.

Con los valores obtenidos de tiempo de vida media del plaguicida en ambos suelos es posible concluir que en las condiciones de este estudio clorpirifos no es persistente, lo que disminuye los riesgos por acumulación del plaguicida en los suelos, además considerando los resultados de índice de GUS menores a 1,8 para ambos suelos se puede decir que clorpirifos no lixivia a napas freáticas en este tipo de suelos, lo que disminuye el riesgo de contaminación del agua a través de esta vía.

Finalmente a la luz de los resultados de este estudio se puede decir que la aplicación de clorpirifos en suelos con las características del suelo Calera y San Esteban no reviste mayor riesgo ambiental para la napa freática, ni peligro en el sentido de acumulación en el sistema. Sin embargo el hecho de haber obtenido resultados positivos en el estudio de biodisponibilidad muestra que existe riesgo de que este

compuesto nocivo, para muchos seres vivos incluidos los "no objetivo" como seres humanos, sea incorporado a la cadena trófica y así generar daños en la población.

REFERENCIAS

- Brack W., Bandow N., Schawab K., Schulze T., Streck G. 2009. Bioavailability in effect directed analysis of organic toxicants in sediments. Trends in Analytical Chemistry.
- Calvelo F. 2008. Estudio del comportamiento del hexaclorociclohexano en el sistema suelo-planta para su aplicación en técnicas de fitocorrección. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Biología, Universidad de Santiago de Compostela.
- Camarda, G. 2005. Determinación de la vida media del plaguicida clorpirifos (14C) en un suelo agrícola de la I región mediante el uso de técnicas isotópicas. Seminario de Título, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Cheminova, 2002. En línea <http://www.cheminova.com.mx/es/insecticidas/cyren/>.
- Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. 2003. Contaminación de Suelos por Compuestos Orgánicos. Informe Final.
- Cox L., Velvarde P., Fernández M. C., Hermosín M. C. y Cornejo J. 2003. Cambios en la adsorción/biodisponibilidad de dos fungicidas con el tiempo de residencia en el suelo. Estudios de la Zona No Saturada del Suelo Vol. VI.

- Cuadro de series de suelos de la v región [en línea] http://www.agronomia.uchile.cl/centros/sap/contenido/proyecto%20fia/suelo/cuadro_vr_b.pdf.
- Ehelers, Luthy R., 2003 Contaminant bioavailability in soil and sediment. Environmental science and technology, 37, (15) 295A-302A.
- Ferrer A. 2003. Intoxicación por plaguicidas. ANALES Sis San Navarra 2003; 26 (Supl 1) 155-171. Unidad de Toxicología Clínica Hospital Clínico Universitario Zaragoza.
- Fuenzalida, T. 2011. Propuesta de monitoreo en una potencial contaminación de plaguicidas en fuentes de agua para el consumo humano del sector altoandino del Valle del Elqui, IV Región. Seminario de título, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Gobierno de Chile [en línea] http://www.cl.all-biz.info/regions/?fuseaction=adm_oda.showSection&rgn_id=1&sc_id=4.
- Honorato P., Ricardo I. 2000. Manual de Edafología. 4ª Edición. Ediciones Universidad Católica de Chile.
- Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Aptdo 1052, 41080-Sevilla.

- Juárez Badillo, Rico Rodríguez. 2005. Mecánica de suelos, Tomo I, 2ª Edición, Limusa-Wiley [en línea] <http://books.google.com/books?id=3OPOaDHQC8wC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q=&f=false>.
- Madrigal Monarrez Ismael. 2004. Retención de plaguicidas en suelos de dispositivos amortiguadores: barreras de hierba y zonas arboladas: papel de las materias orgánicas. Tesis Presentada para obtener el título de Doctor del Institut Agronomique Paris-Grignon Universidad autónoma del estado de Morelos.
- Madrigal Monárrez Ismael, Pierre Benoit, Enrique Barriuso, Benoît Réal, Alain Dutertre, Michel Moquet, María Trejo Hernández y Laura Ortiz Hernández. 2008. Caracterización de la sorción y desorción de herbicidas en suelos con diferentes tipos de ocupación. revista ingeniería e investigación VOL. 28 No. 3, diciembre de 2008 (96-104).
- Márquez Girón Sara María, Mosquera Ballesteros Roberto, Herrera Torres Mángela, Monedero Cristian. 2010. Estudio de la absorción y distribución del clorpirifos en plantas de pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex chiov) cultivadas hidropónicamente. Grupo de Investigación GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia Rev. Colom. Cienc. Pecu. v 23 n2 Medellín abr/jul 2010 [en línea] <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/154.htm>.

- Morales Vallecilla Carlos, Rodríguez Osorio Nélida, Restrepo Betancur Luis Fernando, López Córdoba Carlos. 2010. Relación entre residuos de clorpirifos en leche y sangre de vacas Holstein y niveles séricos de estradiol y tiroxina. REDVET Revista electrónica de Veterinaria, Vol. 11, Núm. 1, 2010, pp 1-22
- Pesticide Properties DataBase (PPDB).
- Pierre Rancis, Betancourt Pedro 2008 Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla en la depresión de Quíbor, Venezuela *Revista ingeniería e investigación VOL 28 No 3, DICIEMBRE DE 2008 (96-104)*.
- Ramírez J A y Lacasaña M 2001 Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición Instituto Nacional de Salud Pública Dirección de Ciencias Ambientales Cuernavaca Morelos México Trabajo realizado durante el programa de doctorado en Ciencias de la Salud y de la Vida Universidad Pompeu Fabra Barcelona Arch Prev Riesgos Labor 2001; 4(2):67-75.
- Semple K, Doick K, Jones K, Burauel P, Craven A, Harms H, 2004 Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated *Environmental science and technology*, 38 (12), 228A-231A.
- Smelt C 2010 Biodisponibilidad de nonifenol en trigo y su predicción mediante método biomimético con solventes presurizados y determinación por

cromatografía gaseosa acoplada a detector de masa Seminario de Título
Facultad de Ciencias Universidad de Chile.

- Smith, j.h; Mabey, wr; Bohonos, n; Holt, br; Lee, ss; Chou, tw; Bomberger, dc; Mill, t1978 Environmental pathways of selected chemicals in freshwater systems: part II Laboratory studies Us Environmental protection agency, athens, ga, epa-600/7-78.
- Van Emmerik T, Angove M, Johnson B, Wells J, 2007 Sorption of chlorpyrifos to selected minerals and the effect of humic acid Journal of agricultural and food chemistry, 55, 7527-7533.
- Viñuela, Enedina Características generales de los plaguicidas principios para el establecimiento de los LMR de plaguicidas según la reunión conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (jmpr) Consultora Internacional de la FAO [en línea] <http://www.rlc.fao.org/es/inocuidad/codex/pdf/plagui.pdf>.

VI ANEXOS

ANEXO A

Figuras y gráficos

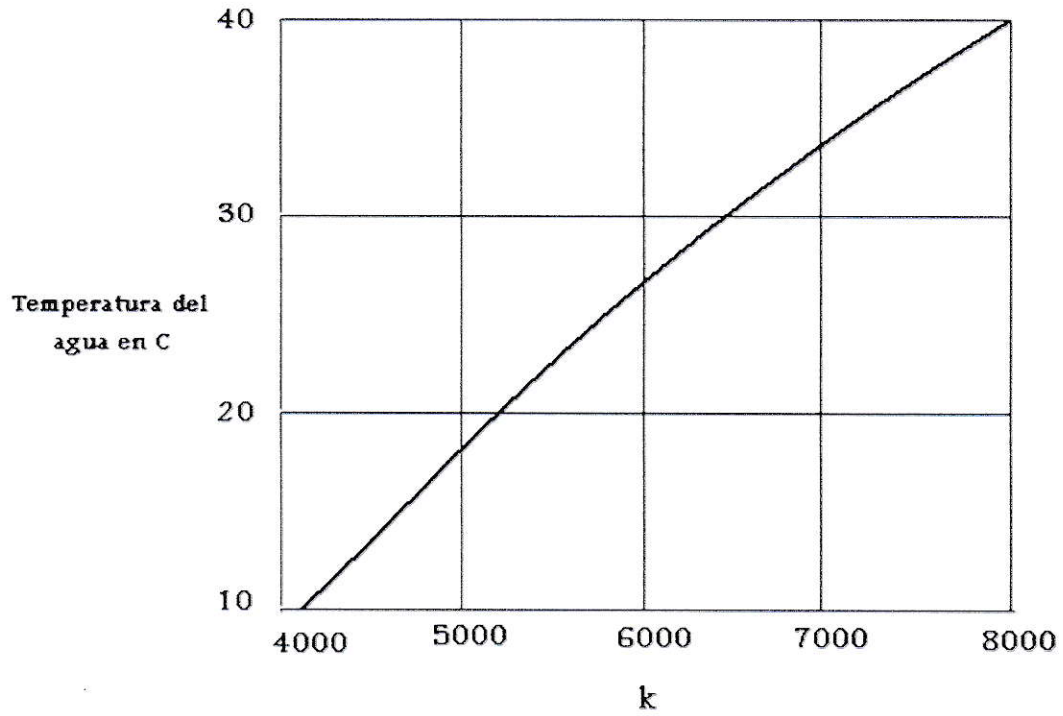


Figura 33: Gráfico temperatura de la suspensión vs. "k".

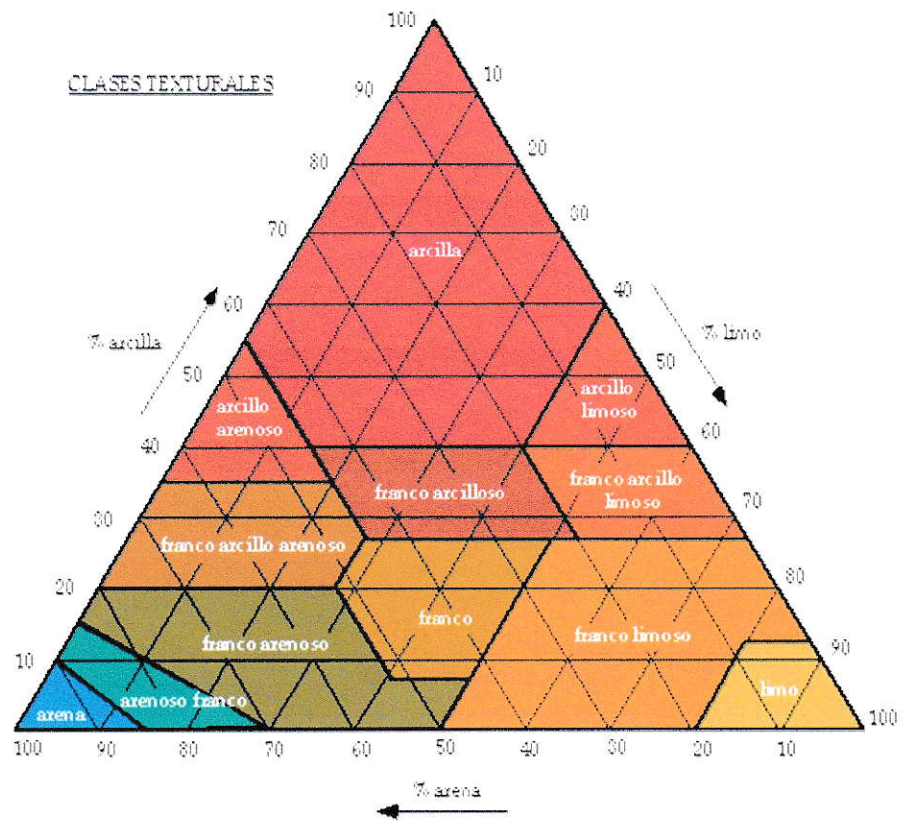


Figura 34. Triángulo de Clasificación Textural de Suelos (USDA)

ANEXO B

Cálculos

I Caracterización de los suelos:

Tabla 16. Datos para la obtención de la textura para los suelos

	Suelo Calera		Suelo San Esteban	
	Muestra de 0,002 mm (seca a la estufa)	Muestra de 0,05 mm (seca a la estufa)	Muestra de 0,002 mm (seca a la estufa)	Muestra de 0,05 mm (seca a la estufa)
Masa vaso solo [g]	32,4474	33,6517	33,4071	33,3020
Masa vaso + muestra seca a 105°C [g]	32,7742	34,6867	33,6796	34, 6327
Masa muestra sola [g]	0,3268	1,035	0,2725	1,3307
*40	13,072	41,1	10,9	53,228
-1	12,072	40,4	9,9	52,228
Masa final [g]	12,072	40,4	9,9	52,228

Ejemplo de cálculo para obtener la textura de los suelos:

$$\text{Masa Rectificada} = 100g * \frac{47,4g}{50g} = 94,8g$$

$$\% (\text{Limo} + \text{Arcilla}) = \frac{40,4g}{94,8g} * 100 = 42,6 \%$$

$$\% \text{Arcilla} = \frac{12,072g}{94,8g} * 100 = 12,73 \%$$

$$\% \text{Limo} = 42,6\% - 12,73 \% = 29,87 \%$$

$$\% \text{Arena} = 100\% - 42,6 \% = 57,4 \%$$

Luego de obtener los porcentajes correspondientes, usando el triángulo de clasificación textural (USDA), se determina la clase de textura del suelo Calera.

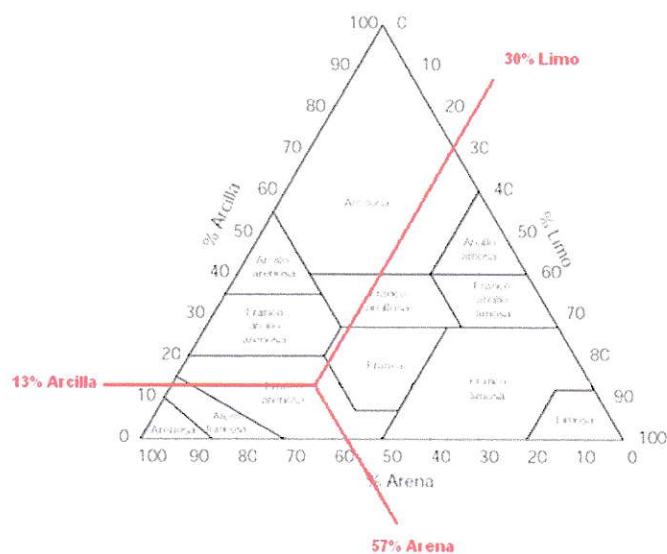
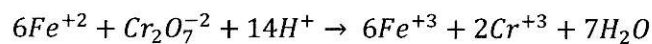


Figura 36. Ejemplo de obtención de la textura a través del triángulo de Clasificación Textural de Suelos (USDA)

Por lo tanto, la Clase textural para suelo Calera es **Franco Arenosa**.

II Determinación de Materia Orgánica y % Carbono Orgánico

Con la titulación del blanco se determina la concentración del sulfato ferroso utilizado, mediante la ecuación obtenida de la siguiente reacción:



$$[FeSO_4] * V_{FeSO_4 (Blanco)} = 6 * [K_2Cr_2O_7] * V_{K_2Cr_2O_7}$$

De la ecuación, el único valor que no es conocido es el volumen de sulfato ferroso al cual se produce el viraje. Este se puede determinar mediante la gráfica de la primera derivada de los valores de potencial eléctrico que se ven en la tabla 16.

Tabla 17. Potencial eléctrico y volumen gastado en el blanco

Volumen (ml)	Potencial (mV)	Volumen (ml)	Potencial (mV)
0	971	10	982
1,1	972	11	980
2	983	12	980
3	987	13	980
4	988	14	536
5	982	15	464
6	982	16	447
7	981	17	436
8	982	18	428
9	980	19	421

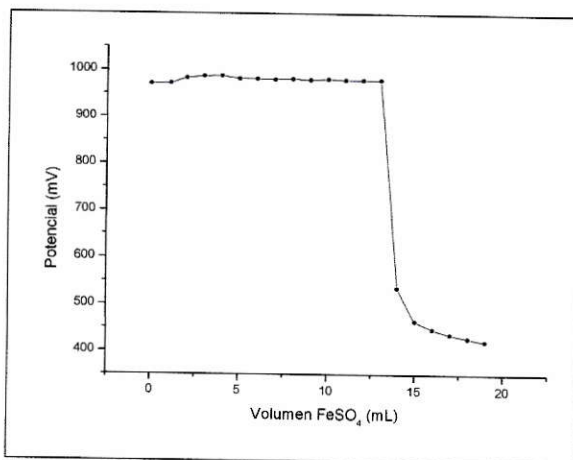


Figura 36 Curva de potencial vs. Volumen gastado en el blanco

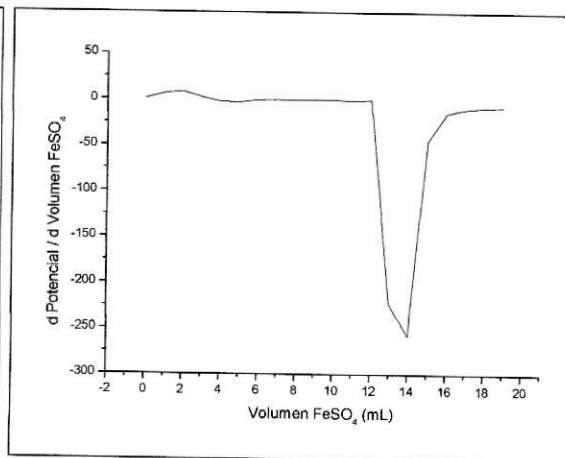


Figura 37: Primera derivada gráfica Potencial vs. Volumen para el Blanco

Con este dato podemos hacer el cálculo:

$$[FeSO_4] = \frac{6 * 0,1667 M * 10ml}{13,5 ml} = 0,7408 M$$

Como ya tenemos la concentración del FeSO_4 , al titular las muestras de suelo Calera y suelo San Esteban, podemos determinar la cantidad de materia orgánica con la ecuación 8 y la cantidad de Materia Orgánica se calcula mediante la ecuación 9.

Ejemplo de cálculo para Suelo Calera:

$$\% C = \frac{13,5 - 5,8}{1} * 0,7408 * 0,39 * 1,0549 \quad \% C = 2,26$$

$$MO (\%) = 1,724 * 2,26 \quad \mathbf{MO (\%) = 3,89624}$$

III Determinación del Factor de Humedad de los suelos

Tabla 18: Datos para % humedad y factor de corrección (fh) para suelo Calera y San Esteban.

Suelo	Masa del vaso solo [g]	Masa del vaso + suelo seco aire [g]	Masa del vaso + suelo seco a 105°C [g]	Masa de suelo seco al aire [g]	Masa del suelo seco a 105°C [g]
Calera	51,0	101,0	98,4	50,0	47,4
San Esteban	67,0	117,0	116,0	50	49

El porcentaje de humedad se expresa mediante la ecuación 10 y el factor de corrección por humedad (fh) se calcula con la ecuación 11.

Ejemplo de cálculo para Suelo Calera:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{101,0 - 98,4}{98,4 - 51,0} * 100 = \mathbf{5,49}$$

$$fh = \frac{100 + 5,49}{100} = \mathbf{1,0549}$$

IV Validación del método cromatográfico

Tabla 19. Diluciones de compuesto comercial y estándar

Concentración deseada (mg/L)	Alícuota de clorpirifos 100 mg/L (µL)	Alícuota de Acetonitrilo (µL)
80	800	200
60	600	400
40	400	600
20	200	800
Concentración deseada (mg/L)	Alícuota de clorpirifos 10 mg/L (µL)	Alícuota de Acetonitrilo (µL)
10	100	900
8	800	200
6	600	400
4	400	600
2	200	800
1	100	900
Concentración deseada (mg/L)	Alícuota de clorpirifos 1 mg/L (µL)	Alícuota de Acetonitrilo (µL)
1	100	900
0,8	800	200
0,6	600	400
0,4	400	600
0,2	200	800

Límite de detección y cuantificación

Para obtener los límites de detección y cuantificación se deben realizar dos curvas. Una con todos los puntos la que llamaremos curva total y otra que se realiza con las desviaciones estándar de los datos de la zona baja de la curva versus la concentración a la que llamaremos curva ds. Con las ecuaciones 13 y 14 y los datos de la siguiente tabla podemos realizar los cálculos.

Tabla 20. Datos de área y desviación estándar de validación del método en curva total.

ppm	área	Promedio área	Desviación estándar				
0,2	20163	22059,66	1766,128	6	589043	904060	74449,23
0,2	22359			6	681041		
0,2	23657			8	859205		
0,4	36372	38265	2704,910	8	989999	1014463	43983,71
0,4	41363			8	862976		
0,4	37060			10	980879		
0,6	53626	57948	12723,84	10	998261	2205720	95940,90
0,6	62270			20	2,2E+06		
0,8	78676			20	2,1E+06		
0,8	68345	75285,66	6011,326	20	2,2E+06	4038103	356491,49
0,8	78836			40	3,7E+06		
1	92132			40	4,4E+06		
1	95461	95334,33	3140,916	40	3,9E+06	6729490	484794,63
1	98410			60	7,2E+06		
2	156508			60	6,5E+06		
2	159153	168161,3	17942,33	60	6,3E+06	8996320	285510,01
2	188823			80	9,0E+06		
4	345018			80	8,6E+06		
4	332233	348240,	17838,13	80	9,2E+06	11871400	0
4	367470			100	1,1E+07		
6	773384			100	1,1E+07		
		681156	92170,553	100	1,1E+07		

Tabla 21. Datos de área y desviación estándar para curva ds.

ppm	área	ds
0,2	20163	
0,2	22359	1766,12835
0,2	23657	
0,4	36372	
0,4	41363	2704,91016
0,4	37060	
0,6	53626	6112,23102
0,6	62270	

0,8	78676	
0,8	68345	6011,326
0,8	78836	
1	92132	
1	95461	3140,91616
1	98410	
2	156508	
2	159153	17942,3342
2	188823	

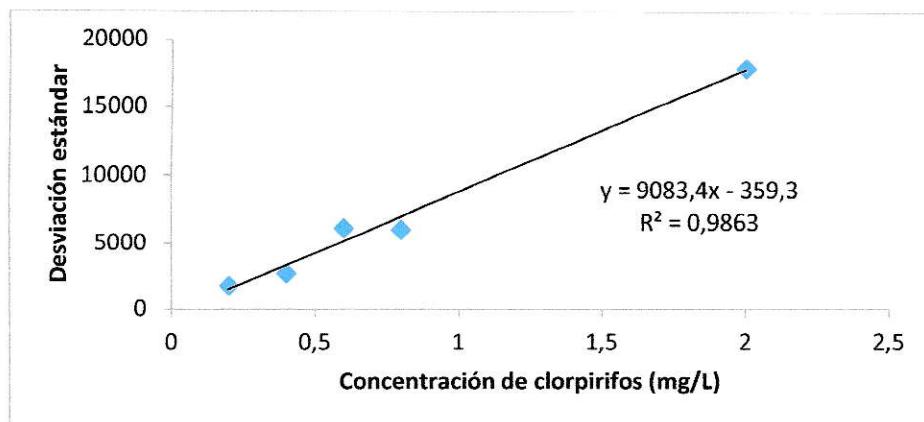


Figura 38. Gráfico de desviación estándar versus concentración

Ecuación de la recta de curva total

$$y = 118768,34 x - 114922,82$$

$$R^2 = 0,9959$$

Ecuación de la recta de curva ds

$$y = 9083,4 x - 359,3$$

$$R^2 = 0,9863$$

$$LOD = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} = \frac{114922,82 + (3 \times 359,3)}{118768,34} = 0,98$$

$$LOQ = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} = \frac{114922,82 + (10 \times 359,3)}{118768,34} = 0,99 \approx 1$$

V Estudio de persistencia

Ecuación de la recta:

$$x = \frac{2849990 + 114992,82}{118768,34} = 24,9 \frac{mg}{L}$$

Masa en volumen de inyección:

$$x = \frac{24,9 mg * 0,02mL}{1000mL} = 5 * 10^{-4} mg$$

Masa en los 15 mL de extracto:

$$x = \frac{5 * 10 - 4 \text{ mg} * 15 \text{ mL}}{0,02 \text{ mL}} = 0,37 \text{ mg}$$

Porcentaje de clorpirifos en equilibrio:

$$\frac{24,9 \text{ mg/L} * 100}{333,3 \text{ mg/L}} = 7,5 \text{ mg/L}$$

Donde 333,3 mg/L es la concentración inicial agregada a los suelos.

$$\frac{5 \text{ mL} * 1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = 5 \text{ mg}$$

$$\frac{5 \text{ mg}}{0,015 \text{ L}} = 333,3 \text{ mg/L}$$

Tabla 22. Datos de áreas de señal y concentraciones calculadas para estudio de persistencia con extractante acetonitrilo.

Muestra acetonitrilo	tiempo (días)	Área promedio	Concentración en equilibrio de Clorpirifos (mg/L)
Suelo San Esteban con 5 mL de Clorpirifos	0	2849990	24,96
	7	2507193	22,08
	14	1740623	15,62
	21	785596	7,58
	28	176375	2,45
	35	245518	3,04
	42	130131	2,06
	49	128219	2,05
	56	63283	1,50
	63	53262	1,42
Suelo Calera con 5 mL de Clorpirifos	0	8340880	71,20
	7	6935019	59,36
	14	1748690	15,69
	21	1426939	12,98
	28	1404573	12,79
	35	1377575	12,57

	42	1377780	12,57
	49	1222054	11,26
	56	946058	8,93
	63	853948	8,16

Tabla 23. Datos de áreas de peak y concentraciones calculadas para estudio de persistencia con extractante hexano.

Muestra hexano	tiempo (días)	Área promedio	Concentración en equilibrio de Clorpirifos (mg/L)
Suelo San Esteban con 5 mL de Clorpirifos	0	1441360	41,84
	7	1168610	32,42
	14	675158	19,96
	21	267627	9,67
	28	153620	6,79
	35	148843	6,66
	42	98148	5,38
	49	89456	5,16
	56	43632	4,01
	63	32936	3,74
Suelo Calera con 5 mL de Clorpirifos	0	3515548	91,71
	7	1461205	39,81
	14	1295308	35,62
	21	948088	26,85
	28	673674	19,92
	35	673399	19,91
	42	423147	13,59
	49	453845	14,37
	56	468657	14,74
	63	142084	6,49

De los gráficos realizados con los datos de las tablas anteriores y aplicando un modelo exponencial obtenemos las siguientes ecuaciones:

Para extracción con acetonitrilo:

Suelo Calera: $[\text{Clorpirifos}]_t = 42,116 \exp(-0,03 t)$

Suelo San Esteban: $[\text{Clorpirifos}]_t = 22,746 \exp(-0,051 t)$

Para extracción con hexano:

Suelo Calera: $[\text{Clorpirifos}]_t = 60,803 \exp(-0,032 t)$

Suelo San Esteban: $[\text{Clorpirifos}]_t = 31,708 \exp(-0,039 t)$

Cálculo de tiempo de vida media:

Suelo Calera hexano $T_{1/2} = (\ln 2) / 0,032$

$T_{1/2} = 22$ días

Cálculo de DS 75:

Suelo Calera hexano $DS_{75} = (\ln 4) / 0,032$

$DS_{75} = 43,3$ días

Índice de GUS

$$GUS = [\log t_{1/2}] * [4 - \log Koc] \quad /15/$$

Dónde:

$t_{1/2}$ = tiempo de vida media (días) para Clorpirifos.

Koc = constante, que se obtiene de:

$$Koc = \frac{Kd * 100}{\%CO}$$

Dónde:

Kd = constante adsorción $kd = \frac{X}{Ce}$

X = concentración adsorbida de plaguicida

Ce = concentración en el equilibrio, encontrada por el HPLC.

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los cálculos para obtener el índice de GUS:

Tabla 24. Valores de parámetros para obtener índice de GUS.

Suelo/Extractante	Kd prom.	%CO	Koc	Log Koc	t 1/2	Log t 1/2
Suelo Calera AcN	23,4	2,41	969,8	3,0	23	1,4
Suelo San Esteban AcN	110,6	1,82	6079,1	3,8	14	1,2
Suelo Calera Hx	17,9	2,41	742,3	2,9	22	1,3
Suelo San Esteban Hx	45,7	1,82	2513,2	3,4	17	1,2

Cálculo índice de GUS para extracción con acetonitrilo:

$$\text{Suelo Calera: } GUS = [\log 23] * [4 - \log 969,8]$$

$$GUS = [1,4] * [4 - 3] = 0,89$$

$$GUS = 0,89$$

VI Estudio de biodisponibilidad

Tabla 25. Masa de raíz y áreas de peak para extracción con hexano.

Maceteros	Área R1	Masa R1	Área R2	Masa R2	Área R3	Masa R3
P1	225266	0,5284	23581	0,6675	48373	1,2696
P2	294722	0,9265	58564	0,9495	197000	0,6601
P3	1205676	0,7139	48953	0,7351	38408	0,9419
P4	0	1,1408	0	0,7054	0	0,7243
P5	110784	0,2770	38683	0,4394	462429	0,3605
P6	126258	0,2812	28168	0,2669	145163	0,3525
P7	278059	0,6527	36286	0,5426	150151	0,3864
P8	0	0,1828	0	0,2077	0	0,2570

Tabla 26. Masa de parte aérea y áreas de peak para extracción con hexano.

Maceteros	Área A1	Masa A1	Área A2	Masa A2	Área A3	Masa A3
P1	72893	0,2762	16562	0,2282	-	-
P2	2984	0,2585	238674	0,2884	-	-
P3	59307	0,5670	155320	0,9439	-	-
P4	0	0,4968	0	0,5118	0	0,5723
P5	11279	0,1411	0	0,1544	0	0,1837
P6	9683	0,2136	0	0,1800	-	-
P7	0	0,2269	0	0,2254	0	0,2809
P8	0	0,1276	0	0,2025	0	0,2059

Tabla 27. Masa de suelo y áreas de peak para extracción con hexano.

Maceteros	Área S1	Masa S1
P1	329877	5
P2	416753	5
P3	612678	5
P4	0	5
P5	76194	5
P6	32675	5
P7	33566	5
P8	0	5

Tabla 28. Masa de raíz y áreas de peak para extracción con acetonitrilo.

Maceteros	Área R1	Masa R1	Área R2	Masa R2	Área R3	Masa R3
P1	250550	0,5491	34546	0,6404	496923	0,9194
P2	32784	0,8088	308026	0,7615	45630	0,6601
P3	39963	0,7219	296619	0,7152	48896	0,8175
P4	0	0,2928	0	0,5318	0	0,5806
P5	388016	0,4012	58132	0,5500	26108	0,3662
P6	159029	0,2201	268708	0,2196	290903	0,4107
P7	134569	0,3236	33495	0,3995	250681	0,4465
P8	0	0,2477	0	0,2998	0	0,2923

Tabla 29. Masa de parte aérea y áreas de peak para extracción con acetonitrilo.

Maceteros	Área A1	Masa A1	Área A2	Masa A2	Área A3	Masa A3
P1	47845	0,1706	93376	0,2155	-	-
P2	8341	0,2585	4692	0,2570	-	-
P3	2473	0,3398	101978	0,3542	-	-
P4	0	0,5307	0	0,4943	-	-
P5	959	0,1357	4172	0,1457	-	-
P6	1363	0,1883	4691	0,1782	-	-
P7	908	0,1776	29265	0,2398	2553	0,
P8	0	0,1829	0	0,2121	-	-

Tabla 30. Masa de suelo y áreas de peak para extracción con acetonitrilo.

Maceteros	Área S1	Masa S1
P1	254085	10
P2	254085	10
P3	356149	10
P4	0	10
P5	105455	10
P6	363631	10
P7	276816	10
P8	0	10

Cálculos:

Para obtener la concentración de cada inyección se utilizó la ecuación de la curva de calibración de la etapa de validación del método cromatográfico. Luego se realizaron los siguientes cálculos para obtener la masa de clorpirifos en los 15 mL de extracto.

Ecuación de la recta:

$$x = \frac{250550 + 114992,82}{118768,34} = 3,08 \frac{mg}{L}$$

Masa en volumen de inyección:

$$x = \frac{3,08 \text{ mg} * 0,02 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 6,16 * 10^{-5} \text{ mg}$$

Masa en 2 mL (es la masa en los 15 mL de extracto):

$$x = \frac{6,16 * 10^{-5} \text{ mg} * 2 \text{ mL}}{0,02 \text{ mL}} = 6,16 * 10^{-3} \text{ mg}$$

Masa de clorpirifos en masa fresca de matriz:

$$\frac{6,16 * 10^{-3} \text{ mg}}{0,0005491 \text{ Kg}} = 11,2 \text{ mg/Kg}$$

ANEXO C
Cromatogramas

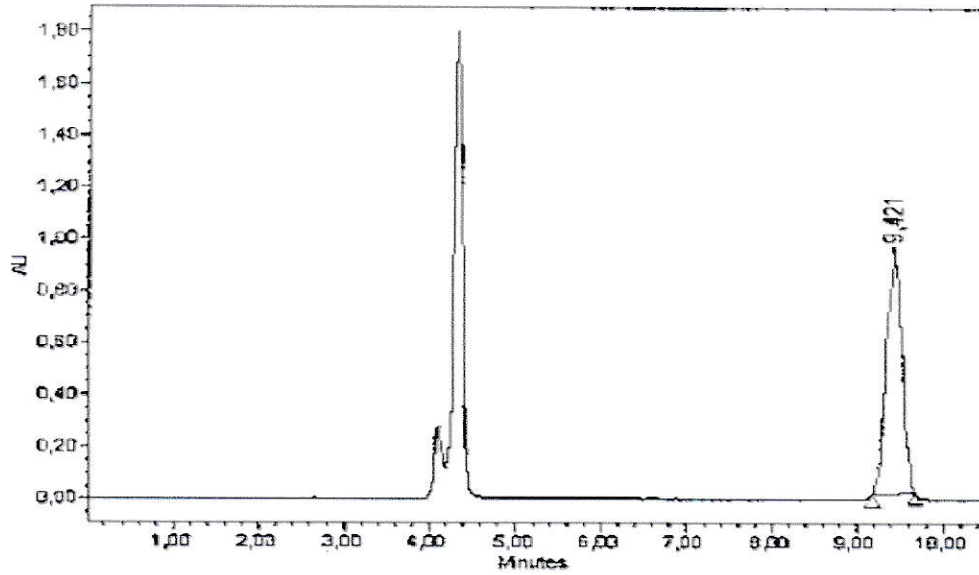


Figura 39. Cromatograma clorpirifos comercial.

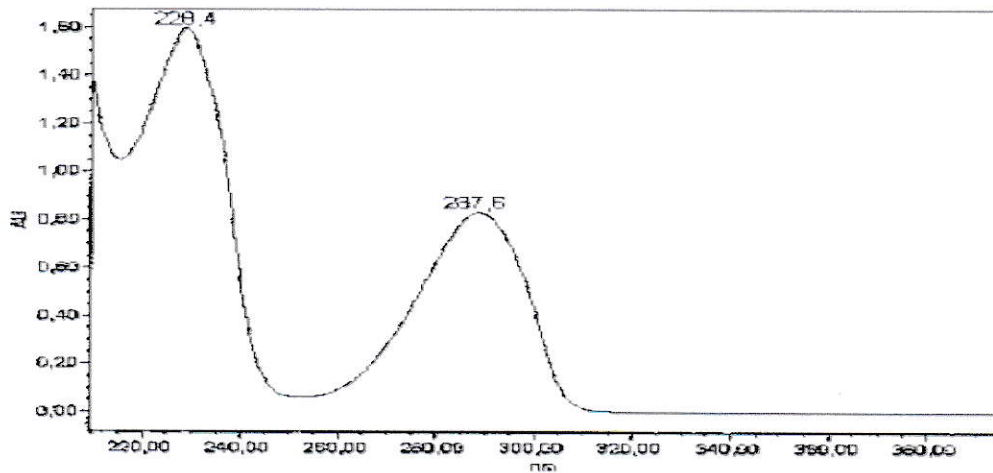


Figura 40. Espectro de absorción clorpirifos comercial.

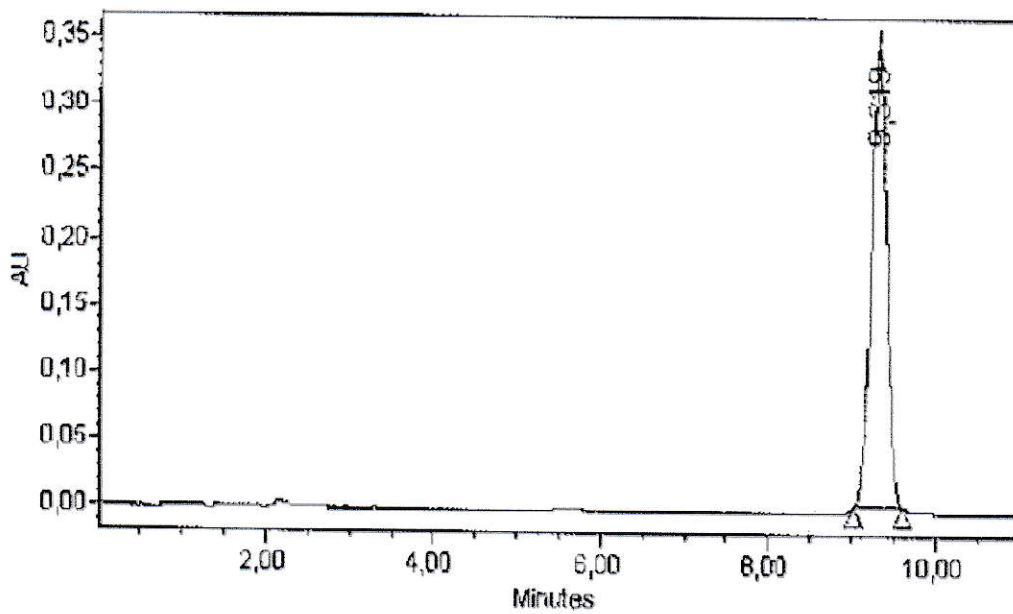


Figura 41. Cromatograma clorpirifos estándar.

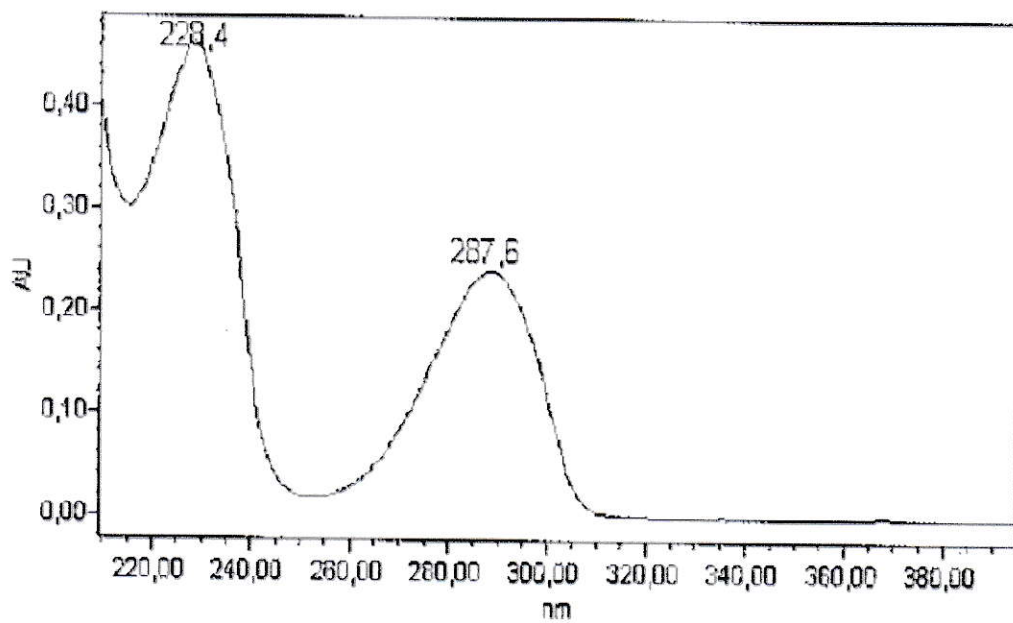


Figura 42. Espectro de absorción de clorpirifos estándar.