

UCh-FC
Q. Ambiental
M 941c
C. 1



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE PREGRADO

**“COMPORTAMIENTO EN SUELOS AGRÍCOLAS DE
ALCALOIDES INDÓLICOS, DE ORIGEN NATURAL, CON
PROPIEDADES HERBICIDAS”**

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

QUÍMICO AMBIENTAL

GIGLIOLA SIMONEI MUÑOZ PONCE

Director del Seminario de título:

M. Cs. Héctor R. Bravo V.

Co- Director del Seminario de título:

M. Cs. Sylvia V. Copaja C.

Agosto 2015
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 Srta.

GIGLIOLA SIMONEI MUÑOZ PONCE

**“COMPORTAMIENTO EN SUELOS AGRÍCOLAS DE ALCALOIDES
INDÓLICOS, DE ORIGEN NATURAL, CON PROPIEDADES
HERBICIDAS”**

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

M Cs. Héctor R. Bravo V.
Director Seminario de Título

M Cs. Sylvia V. Copaja C.
Co - Director Seminario de Título

Dra. Loreto Ascar
Presidente

Dra. Marcia Cazanga
Corrector

Se muestran cuatro firmas manuscritas en azul sobre líneas horizontales. A la derecha de las firmas se encuentra un sello circular de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, con el texto "FACULTAD DE CIENCIAS", "BIBLIOTECA CENTRAL" y "U DE CHILE".

Santiago de Chile, 2015



Gigliola nace un 30 de Abril de 1987, en Santiago. Sus estudios los realiza en el Liceo Indira Gandhi, La Florida, donde siempre destacó por su excelencia académica no solo entre sus profesores sino también entre sus compañeros. Es en la enseñanza media donde muestra su gusto por la ciencia y es su profesora jefa, María Teresa Soto, la que la motiva a dedicarse a la ciencia y la investigación, en particular, la Química.

Ingresa a la Universidad de Chile, el 2006, a estudiar *Licenciatura en Ciencias* mención Química, carrera de la cual egresa el 2012. Durante esta carrera, nace la necesidad de aplicar sus conocimientos en Química a la problemática ambiental actual e ingresa a la carrera de *Química Ambiental*, el año 2013.

Su paso por la Universidad de Chile le permite relacionarse con grandes personas que hasta el día de hoy siguen formando parte de su vida. Recibe una excelente formación académica lo que la hace sentir preparada para desarrollarse en el mundo laboral. Tiene el mejor recuerdo de sus profesores de carrera y de toda persona que permitió que ella llegara a lograr sus metas.

Dedicatoria

“Dedicado a mis dos grandes hombres Aldo y Agustín, a mis Padres Carlos y Alejandra y mis hermanos, Katherine, Tamara y Carlos...gracias por comprender mi amor por la ciencia, el conocimiento y la investigación”

“Quien no haya experimentado la irresistible atracción de la ciencia, no podrá
comprender su tiranía”

Frankenstein. Mary Shelley

Agradecimientos

Con mucho amor, agradezco a la profesora Sylvia Copaja y al profesor Héctor Bravo por compartir sus amplios conocimientos y valores conmigo. Son unas excelentes personas y para mi han sido un gran apoyo. Me es muy grato ser parte de su vida diaria en el laboratorio, *Mil Gracias!*

A mis amigas, Vesna y Lidia por entregarme la confianza de que somos secas y que todo lo podemos, por su apoyo incondicional aun estando lejos.

A mi familia, que siempre ha estado presente cuando lo he necesitado.

A mi Agustín, por entender que la mamá cuando no está con él, está en la universidad.

Y, a ti, Aldo, que con tu infinita paciencia y admiración, haz permitido que yo siga en mi camino del conocimiento y el aprendizaje.

A todos ustedes, *Mil Gracias!*

El apoyo financiero del departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Programa de apoyo a la Investigación.

INDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|------------|
| Índice de Tablas..... | ix |
| Índice de Figuras..... | x |
| Resumen..... | xii |
| Abstract..... | xiv |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 Antecedentes Generales..... | 1 |
| 1.2 Antecedentes Específicos..... | 2 |
| 1.2.1 Pesticidas..... | 2 |
| 1.2.2 Herbicidas..... | 2 |
| 1.2.3 Factores medioambientales que afectan la actividad de los herbicidas..... | 4 |
| 1.2.4 Manejo Integrado de Malezas..... | 4 |
| 1.2.5 Alelopatía..... | 5 |
| 1.2.5.1 Factores que afectan la alelopatía..... | 7 |
| 1.3 Dinámica del herbicida en el suelo..... | 7 |
| 1.4 Persistencia..... | 9 |
| 1.5 Procesos de acumulación: Adsorción – Desorción..... | 12 |
| 1.5.1 Parámetros de adsorción K_d y K_{oc} | 14 |
| 1.6 Modelos de adsorción..... | 16 |
| 1.6.1 Modelo Cinético de Elovich..... | 17 |
| 1.6.2 Isoterma de Langmuir..... | 19 |
| 1.6.3 Isoterma de Freundlich..... | 19 |
| 1.7 Biodisponibilidad..... | 20 |
| 1.8 Alcaloides Indólicos con propiedades alelopáticas..... | 21 |
| 1.9 Suelos de interés agrícola..... | 23 |
| 1.10 Hipótesis..... | 25 |
| 1.11 Objetivo general..... | 25 |
| 1.12 Objetivos específicos..... | 25 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 26 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1 Muestras de suelos..... | 26 |
| 2.1.1 Suelo Rancagua..... | 26 |
| 2.1.2 Suelo Alhué..... | 27 |
| 2.2 Caracterización fisicoquímica de los suelos en estudio..... | 29 |
| 2.2.1 Determinación del pH y Conductividad Eléctrica..... | 30 |
| 2.2.2 Textura..... | 30 |
| 2.2.3 Humedad y factor humedad..... | 32 |
| 2.2.4 Determinación de carbono orgánico fácilmente oxidable. Método de Walkey y Black..... | 32 |
| 2.2.5 Determinación de carbono orgánico total. Método de calcinación..... | 32 |
| 2.3 Determinación del tiempo de equilibrio en suelo Rancagua y Alhué..... | 33 |
| 2.3.1 Preparación de solución de compuestos en estudio..... | 33 |
| 2.3.2 Estudio del tiempo de equilibrio..... | 33 |
| 2.4 Determinación de las curvas de adsorción en los suelos en estudio..... | 34 |
| 2.4.1 Preparación de soluciones..... | 34 |
| 2.4.2 Estudio de adsorción de Gramina e Indol..... | 34 |
| 2.5 Determinación de la desorción en ambos suelos..... | 35 |
| 2.6 Persistencia..... | 36 |
| 2.7 Actividad fitotóxica de Gramina e Indol en suelo Alhué..... | 37 |
| 2.7.1 Actividad fitotóxica de Gramina sobre avena (<i>A. sativa</i>)..... | 37 |
| 2.7.2 Actividad fitotóxica de Gramina sobre ballica (<i>L.rigidium</i>)..... | 37 |
| 2.7.3 Actividad fitotóxica de Indol sobre avena (<i>A. sativa</i>) y ballica (<i>L. rigidium</i>)..... | 38 |
| 2.8 Análisis químico..... | 38 |
| 2.9 Estándar de compuestos en estudio..... | 40 |
| III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 41 |
| 3.1 Caracterización fisicoquímica de los suelos estudiados..... | 41 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2 Análisis químico: Uso de la técnica analítica HPLC..... | 43 |
| 3.2.1 Identificación de los compuestos..... | 43 |
| 3.2.2 Validación del método analítico para la determinación de Gramina e Indol..... | 47 |
| 3.2.2.1 Intervalo lineal..... | 47 |
| 3.2.2.2 Sensibilidad..... | 47 |
| 3.2.2.3 Precisión..... | 47 |
| 3.2.2.4 Exactitud..... | 48 |
| 3.2.2.5 Límites de Detección y Cuantificación..... | 49 |
| 3.3 Determinación del tiempo de equilibrio..... | 49 |
| 3.3.1 Aplicación del modelo cinético de Elovich..... | 51 |
| 3.4 Isotermas de adsorción..... | 54 |
| 3.4.1 Parámetros K_d y K_{oc} | 55 |
| 3.4.2 Modelo de Langmuir..... | 57 |
| 3.4.3 Modelo de Freundlich..... | 59 |
| 3.5 Estudio de desorción..... | 61 |
| 3.6 Persistencia..... | 62 |
| 3.6.1 Tiempo de vida media ($t_{1/2}$) e Índice de Gus..... | 63 |
| 3.7 Actividad fitotóxica de Gramina e Indol en suelo Alhué: Ensayo de germinación de Avena (<i>A. sativa</i>) y Ballica (<i>L. rigidium</i>)..... | 65 |
| IV. CONCLUSIONES..... | 67 |
| V. REFERENCIAS..... | 69 |
| ANEXOS | |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Rango de valores para el parámetro Koc..... | 16 |
| Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas de Indol y Gramina..... | 23 |
| Tabla 3 Características de los suelos en estudio..... | 29 |
| Tabla 4 Metodología y equipamiento utilizado para la caracterización físico-química de los Suelos..... | 30 |
| Tabla 5 Valores de pH, C.E, MO y CO total para suelo Rancagua y Alhué..... | 41 |
| Tabla 6 Textura para suelo Rancagua y Alhué..... | 42 |
| Tabla 7 Ecuación de la recta para Gramina e Indol..... | 47 |
| Tabla 8 Precisión para Gramina e Indol..... | 48 |
| Tabla 9 Exactitud para Gramina e Indol..... | 48 |
| Tabla 10 Límites de Detección y Cuantificación..... | 49 |
| Tabla 11 Valores obtenidos luego de aplicar el modelo cinético de Elovich. Parámetros obtenidos: R ² y ARE (Average relative Error). Suelo Rancagua y Alhué..... | 52 |
| Tabla 12 Valores de Kd y Koc para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué. Los valores son un promedio de dos mediciones..... | 55 |
| Tabla 13 Parámetros de Freundlich, para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué..... | 60 |
| Tabla 14 Estudio de desorción en suelo Rancagua y Alhué, para Gramina e Indol..... | 61 |
| Tabla 15 Valores del Índice de Gus y t _{1/2} para Indol en suelo Rancagua y Alhué..... | 64 |
| Tabla 16 porcentaje de inhibición (% I) de la germinación de semillas de avena y Ballica cultivadas en suelo Alhué regado con solución acuosa de Gramina e Indol..... | 66 |

RESUMEN

En este seminario de título se estudió el comportamiento en dos suelos agrícolas, suelo Rancagua y Alhué, del alcaloide indólico de origen natural, Gramina y el derivado orgánico Indol, ambos con propiedades herbicidas. Se caracterizó el suelo mediante sus propiedades fisicoquímicas y se optimizó el método analítico para la cuantificación de Gramina e Indol por Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector de Arreglo de Diodos (HPLC-PDA). Se estudió la cinética (tiempo de contacto) y mediante experimentos en Batch, las isothermas de adsorción/desorción así como la persistencia, de ambos compuestos en ambos suelos. Los resultados obtenidos se analizaron en términos del coeficiente de reparto suelo/solución (K_d), el parámetro K_{oc} que considera el porcentaje de carbono orgánico presente en el suelo, porcentaje (%) de desorción, tiempo de vida media ($t_{1/2}$) e Índice de Gus.

El tiempo de contacto obtenido fue de 24 h. Los resultados muestran que, en general, en ambos suelos, Gramina presentó mayor concentración adsorbida en sólido que en solución (K_d : Rancagua: 169; Alhué: 20,98), mientras que Indol presentó esta misma tendencia, en suelo Rancagua, pero con valores menores, mientras que en Alhué la situación es contraria (K_d : Rancagua: 6,88; Alhué: 0,58). Respecto de K_{oc} , la adsorción de Gramina, en ambos suelos se consideró de moderada a fuerte (K_{oc} : Rancagua: 6597; Alhué: 1676), mientras que Indol, fue moderada en suelo Rancagua (K_{oc} : 270) y débil en suelo Alhué (K_{oc} : 47,04). Gramina, mostró un porcentaje de desorción en suelo Alhué de 0,69%, acorde con los valores de K_d y K_{oc} , que son menores para este suelo, en comparación al suelo Rancagua, con un porcentaje no detectado de desorción, concordante con los valores de K_d y K_{oc} que corroboran éste comportamiento. Para

Indol, en suelo Rancagua, el porcentaje de desorción fue de 0,12%, su valor Kd (6,88) y Koc (270), sugiere que la retención de Indol por el suelo Rancagua tendría un bajo porcentaje de desorción. Mientras que, en suelo Alhué, presentó un porcentaje de desorción de 10,64%, esto concuerda con el valor de kd (0,58) y Koc (47,04), que indicaría que Indol no es totalmente retenido por este suelo, pues se encuentra mayormente en solución y no adsorbido.

El estudio de persistencia arrojó un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) para Indol en suelo Rancagua de 9,42 h y en suelo Alhué de 6,74 h. Los valores obtenidos para el índice de Gus clasificaron a Indol, en ambos suelos, como No Lixiviable (Rancagua: 1,53; Alhué: 1,93). Estos calculos se aplicaron solo a Indol pues Gramina no se detectó en solución.

Conociendo ya la dinámica de los compuestos en ambos suelos estudiados, surgió la necesidad de relacionar los resultados obtenidos con su conocido comportamiento fitotóxico frente a cereales competitivos y malezas. Por esto, en este seminario se realizó una evaluación preliminar de la germinación de semillas de Avena (*A. sativa*) y Ballica (*L. rigidium*), cultivadas en suelo Alhué, irrigado con soluciones de Gramina e Indol, para los cuales se determinó el porcentaje (%) de inhibición de la germinación de ambas semillas.

El estudio preliminar de germinación mostró que ambos compuestos inhibieron la germinación de Avena y Ballica a la concentración utilizada y mantuvieron la diferencia de actividad toxica observada anteriormente en soluciones acuosas. Esto sugiere que el suelo con textura franco arenoso (suelo Alhué) no modificaría significativamente la actividad fitotóxica de Gramina e Indol.

ABSTRACT

In this seminar was studied the behavior, in two agricultural soils, Rancagua and Alhué, two natural origin indole alkaloids, Gramine and the derivative Indol, with herbicidal properties. The soils were characterized by their physicochemical properties and the analytical method was optimized for the quantification of Gramine and Indole for High Resolution Liquid Chromatography with Diode Array Detector (HPLC-PDA). The kinetic (contact time) was studied and through Batch experiments, the isotherms of adsorption / desorption of these alkaloids in both soils and its persistence were measured. The results were analyzed in terms of the partition coefficient soil / solution (K_d), the K_{oc} parameter considering the percentage of organic carbon in the soil, percentage (%) desorption half-life ($t_{1/2}$) and Gus index and percentage (%) of inhibition of germination.

The contact time was 24 h. The results show that, in general, in both soils Gramina showed greater concentration adsorbed on solid than solution (K_d : Rancagua: 169; Alhué: 20,98), whereas the same trend was observed with Indol but their values are lower indicating that indole is less adsorbed in both soils (K_d : Rancagua: 6.88; Alhué 0.58). K_{oc} , adsorption of Gramina, in both soils was considered from moderate to strong (K_{oc} : Rancagua: 6597; Alhué: 1676), while Indol, presented a moderate adsorption in Rancagua (K_{oc} : 270) and weak adsorption in Alhué (K_{oc} : 47, 04).

Gramina, showed a 0, 69% desorption in Alhué which is consistent with K_d and K_{oc} , that are lower for this soil, in comparison to Rancagua soil where desorption was not detected in agreement with K_d and K_{oc} values corroborating that Gramina is tightly held in the soil. For Indole in Rancagua soil, the desorption percentage was 0, 12%. Its

Kd (6, 88) and Koc (270) values, suggest that the retention of Indol in Rancagua soil would have a low desorption percentage, while in Alhué soil indol desorption was 10, 64%. This is consistent with the value of kd (0, 58) and Koc (47, 04), indicating that indole is not fully retained by the soil, because it is mostly found in solution and not adsorbed.

The persistence study showed a half-life ($t_{1/2}$) for indole in Rancagua soil of 9, 42 h and 6, 74 h in Alhué soil. The values obtained for the index of Gus classified indole, in both soils, as non-leachable (Rancagua 1, 53; Alhué: 1, 93). These calculations were applied only to Indole because Gramina not was detected in solution.

Knowing the dynamics of both compounds in the soils studied, it became necessary to relate the results obtained with the known phytotoxic behavior to competitive cereals and weeds. Therefore, in this seminar a preliminary assessment of the germination of these two species, Avena (*A. sativa*) and Ballica (*H. vulgare*), Alhué soil grown and irrigated with solutions Gramina and indole was performed.

The preliminary study of germination showed that both compounds inhibited the germination of oats and seeds at the concentration used and maintained the previously observed difference in toxic activity.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes Generales

La agricultura moderna se ha podido optimizar y con ello obtener elevados rendimientos agrícolas, gracias a factores, tales como, la introducción de variedades más productivas, mejor manejo de los suelos y uso de fertilizantes, plaguicidas y tecnología agrícola.

La producción de un cultivo agrícola puede ser afectada por la interferencia de múltiples organismos como: hongos, insectos, malezas, etc., los cuales son controlados a través de compuestos químicos sintéticos o naturales denominados: Plaguicidas o Pesticidas. (Porta Casanellas J., 2003).

Desde 1950, el uso de pesticidas sintéticos ha aumentado sistemáticamente, y casi todos los pesticidas actuales son 10 veces más tóxicos que los utilizados en aquella época (Figuroa T., 2011). Por esto, la tendencia actual es un uso más racional de los pesticidas sintéticos. Esto incluye, por ejemplo, la incorporación de plaguicidas naturales, el manejo integrado de malezas, cero labranzas, control biológico, feromonas, entre otros, con el objeto de disminuir factores de contaminación medioambiental y obtener productos menos contaminados. Sin embargo, estas alternativas siguen siendo limitadas, a pesar de su considerable potencial y de su falta de toxicidad hacia el entorno (Barber R., 1999).

1.2 Antecedentes Específicos

1.2.1 Pesticidas

Los pesticidas son sustancias químicas, naturales o sintéticas, que pueden eliminar directamente a organismos no deseados o bien controlarlos interfiriendo en su desarrollo y proceso reproductivo (Baird C, 2011).

Se pueden clasificar según: organismo que controlan, modo de acción, formulación comercial, composición química y toxicidad. Si el organismo que controlan son malezas, la clasificación corresponde al tipo herbicidas.

1.2.2 Herbicidas

Son productos químicos que puestos en contacto con las plantas, le producen la muerte, inhiben la germinación o evitan su crecimiento o desarrollo normal y producen deformaciones. Se clasifican según su finalidad en:

- ✚ Total: es aquel que destruye toda la vegetación sobre la que se aplica. Puede ser selectivo si se aplica en dosis menores.
- ✚ Selectivo: Son aquellos que en condiciones normales destruyen las malezas y no el cultivo.

Por su modo de acción:

- ✚ Residuales: Son aquellos que permanecen en el suelo, el tiempo suficiente como para ir eliminando las malezas en el momento de su germinación; estos productos no son tóxicos para la planta cultivada o se descomponen en productos no tóxicos antes de que nazca ésta. Se aplican después de la siembra del cultivo y antes de su germinación.

- ✚ De Contacto: Aquellos que eliminan las plantas sobre las que caen, pero su acción toxica es de muy poca duración y se descomponen rápidamente en sustancias no fitotóxicas o se evaporan. En este tipo de herbicidas hay que tener en cuenta el factor humedad, ya que solamente quema las partes húmedas.
- ✚ Sistémicos: Penetran en el interior de la planta, mezclándose con la savia y repartiéndose por toda ella. Actúan por translocación.

Según el momento de aplicación:

- ✚ Pre siembra o pre plantación: Son los que se aplican después de la preparación del suelo, pero antes de la siembra o plantación.
- ✚ Pre emergencia: Son los productos que se aplican después de la siembra de la planta cultivada.
- ✚ Post emergencia: Son aquellos que se aplican después del nacimiento de las malezas y de la planta cultivada.

La forma de actuar de los herbicidas puede ser por vía radicular o vía foliar. Los que se absorben por vía foliar deben atravesar la cutícula o entrar por los estomas. Los que penetran por las raíces lo hacen disueltos conjuntamente con las sustancias nutritivas del suelo.

Una vez que ha penetrado en el interior del vegetal, puede ejercer su acción alrededor de su zona de penetración o moverse a lo largo de la planta si es de translocación. En este caso, el herbicida produce su acción toxica en donde se almacena o a lo largo de su trayecto.

1.2.3 Factores medioambientales que afectan la actividad de los herbicidas

La efectividad puede variar según numerosos factores, entre ellos características del suelo (acidez, textura, contenido de materia orgánica), naturaleza del herbicida, (volatilización, pKa, pKb, solubilidad), condiciones ambientales (temperatura, pluviometría, vientos), entre otros.

La mayoría de ellos, una vez aplicados, sufren procesos de degradación química y/o biológica, que conducen a la formación de nuevos productos, en ocasiones más móviles, persistentes y/o más tóxicos que los compuestos originales (Fuenzalida T. 2011). Por esto, el uso excesivo de herbicidas sintéticos en la agricultura se ha convertido en un problema medioambiental, con consecuencias en la flora y fauna de los ecosistemas y la salud humana.

El control de las malezas puede llegar a necesitar, una gran dosis de herbicida sintético y, si la planta expresa alguna resistencia, será necesario desarrollar nuevos herbicidas o aumentar la dosis de los ya utilizados, lo cual conduce no solamente a un mayor costo económico sino un mayor daño al ecosistema.

1.2.4 Manejo Integrado de Malezas

El Manejo Integrado de Malezas (MIM) es definido como un sistema de manejo sostenible de malezas que combina varias estrategias de control con el fin de reducir el impacto de las malezas a un nivel económicamente aceptable (Informe FAO, 1997). El concepto de manejo integrado de malezas es conocido desde hace tiempo, sin embargo, no ha sido debidamente considerado. La principal razón es que los herbicidas sintéticos han sido generalmente muy efectivos para controlar las malezas sin dañar los cultivos. Las malezas generalmente compiten con los cultivos por agua, luz, espacio y nutrientes.

Estos recursos son obtenidos en un cierto “espacio biológico”. La competencia entre las malezas y el cultivo es variable y depende de la capacidad de las plantas para ocupar este espacio.

1.2.5 Alelopatía

Molisch utilizó por primera vez el término ALELOPATÍA, para definir el efecto beneficioso o perjudicial generado por acción de un químico liberado por una planta sobre otra cercana (Crovetto, 1984; Díaz et al., 1985). En un fenómeno alelopático existe una planta dadora, la cual libera el principio activo, y otra receptora, que los incorpora. Estos compuestos se conocen como aleloquímicos y son los que podrían actuar como inhibidores del crecimiento de la planta receptora o incluso sobre ellas mismas (auto toxicidad). Estas sustancias químicas usualmente son metabolitos secundarios, es decir, no son utilizados por las plantas en su metabolismo normal o principal, y están presentes en prácticamente todos los tejidos de las plantas: hojas, tallos, raíces, rizomas, flores, frutos y semillas (Batish y col., 2001; Copaja y col., 2006; Díaz, 1991; Overland, 1996; Bravo y col., 2013).

Los fenómenos alelopáticos en la agricultura se pueden estudiar desde las plantas vivas o desde el material descompuesto (rastrojo). Cuando los metabolitos son liberados al entorno, por cualesquiera de éstas dos posibilidades, influyen en la germinación, crecimiento y desarrollo de plantas vecinas ya sea positiva o negativamente. Desde las plantas vivas, son principalmente, exudados al medio por las raíces o son liberados de los productos de descomposición de los desechos (rastros) de cultivos. A nivel de campo, los síntomas relacionados con estos procesos son la reducción de la germinación,

menor vigor de la plántula, radículas con escaso desarrollo, muerte de plántulas o cambio de color de las hojas (Silva P., 2003).

En los últimos años, la investigación en interacciones alelopáticas entre plantas ha sido focalizada principalmente en cultivos agrícolas como una opción estratégica en el desarrollo del manejo integrado de malezas, para disminuir efectos ambientales y costos de producción.

En cereales de alta importancia agrícola como: maíz, trigo, cebada, centeno, arroz, sorgo, avena, se han caracterizado una variedad de estructuras con propiedades alelopáticas como: cumarinas, alcaloides, flavonoides, ácidos hidroxámicos y derivados fenólicos (Olofsdotter., 2001). Los aleloquímicos liberados por plantas tienen efectos positivos cuando inhiben el desarrollo de malezas competitivas y efecto negativo, cuando inhiben el desarrollo de plantas con importancia agrícola o cuando una maleza inhibe el desarrollo de un cereal. La alelopatía puede surgir desde uno o la combinación de estos aleloquímicos.

Desde el punto de vista agronómico es conocido el efecto alelopático entre malezas y cereales competitivos. Se ha observado que rastrojos con alto potencial alelopático producen mayor cantidad de aleloquímicos con alta persistencia en el tiempo (Roth y col., 2000). Así por ejemplo, rastrojos de trigo, cebada, avena, centeno, sorgo, arroz son efectivos supresores de malezas, especialmente de hoja ancha. Pero también se ha observado, efectos inhibitorios en los rendimientos ente cultivares atribuibles a efectos alelopáticos (Silva H., y col. 2006; Bravo H. R., y col. 2010).

La interacción de aleloquímicos con las semillas y raíces de plántulas en el suelo depende de la tasa de liberación del compuesto alelopático desde los rastrojos, de la

acción de microorganismos, de la fijación del aleloquímico por parte del suelo y su tasa de lixiviación (Blum y col., 1987), lo cual influye en la biodisponibilidad de estos compuestos para acceder en las plantas y tener su efecto como herbicida.

1.2.5.1 Factores que afectan la alelopatía

Dentro de los factores que afectan al fenómeno alelopático se conocen factores bióticos y abióticos. Éstos modifican la producción de los metabolitos secundarios y su posterior liberación al ecosistema. Estos factores también pueden descomponer los aleloquímicos y generar productos bio-activos que también pueden formar parte del fenómeno alelopático.

Otros factores que influyen en este fenómeno son: las especies involucradas, las propiedades fisicoquímicas del suelo y la estructura molecular del aleloquímico que determinan su estabilidad química, movilidad, persistencia, concentración liberada, dosis fitotóxica, etc.

1.3 Dinámica del herbicida en el suelo

La presencia de estos herbicidas en el suelo puede producir una alteración de las propiedades y características de éste, pudiendo llegar a ser un contaminante. Entre éstas es importante considerar la movilidad a través del suelo, llegando de esta manera, a las napas freáticas, contaminar aguas superficiales, por escorrentía. Al estar disponibles en las aguas, es muy probable la contaminación de la flora y fauna circundante. Por volatilización de ellos o de sus productos de degradación pueden llegar a la atmósfera y sufrir procesos de foto degradación. En el suelo, los herbicidas, sufren procesos de acumulación, transporte y degradación y/o transformación total o parcial, siendo este último el que conduce a la formación de nuevos productos que, en ocasiones, como se

indicó anteriormente, pueden ser más móviles, persistentes y tóxicos que los compuestos originales. Análogamente, los aleloquímicos al comportarse como los plaguicidas sintéticos, también podrían sufrir procesos similares.

Cuando los aleloquímicos son liberados al medio ambiente, la dinámica en el suelo ocurre de acuerdo a diferentes procesos:

- ✚ Transformación: degradación fotoquímica, química y/o biológica
- ✚ Acumulación: absorción, adsorción-desorción, persistencia
- ✚ Difusión: escorrentía, volatilización, lixiviación

Un compuesto en el suelo puede sufrir uno o más de estos procesos, así, puede ser adsorbido por el suelo y permanecer en él por un tiempo prolongado. Durante este tiempo puede ser desorbido y por lo tanto quedar expuesto a degradación química y/o biológica (Figura 1). Sin embargo, se debe tomar en cuenta las características propias del plaguicida como: estructura química, carácter ácido base, hidrofilia o lipofilia, volatilidad, entre otras, pues su movilidad en el suelo se ve fuertemente influenciada por ellas (Sánchez M. J y Sánchez Camasano M., 1984).

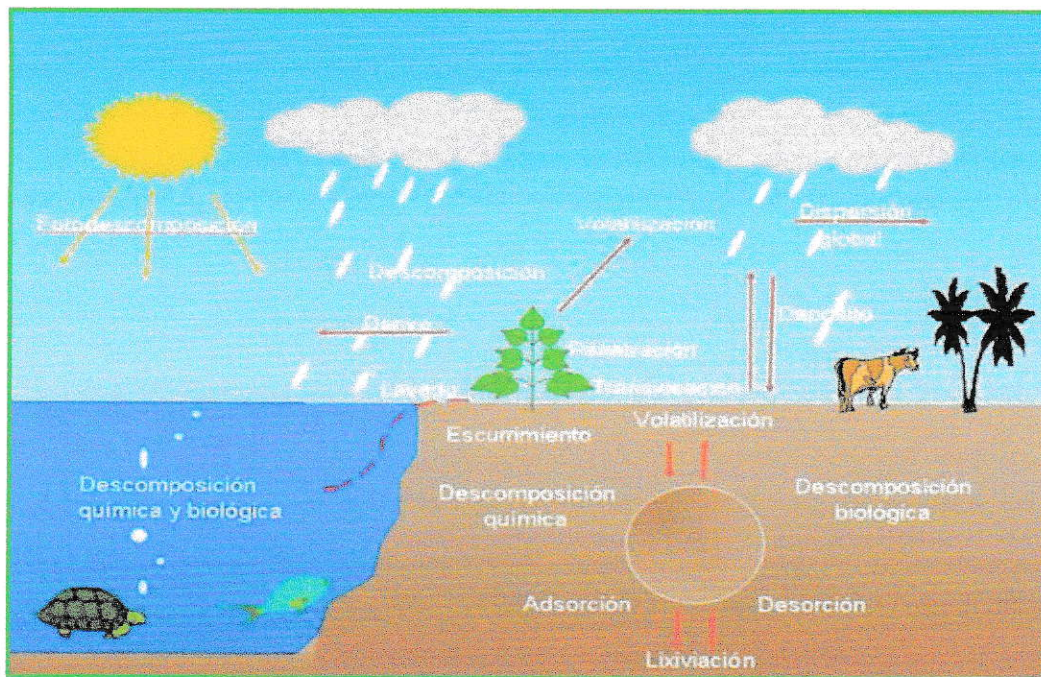


Figura 1 Posibles procesos de transporte y transformación de un plaguicida en el suelo.

1.4 Persistencia

El término persistencia es un término que engloba todos los procesos por los que se puede producir una disminución de la concentración de un plaguicida en la matriz o matrices en las que se encuentre. Como en el medio ambiente todos los procesos se producen al mismo tiempo, el estudio individual de cada uno de ellos se hace muy complejo. La desaparición de un plaguicida en el suelo ocurre en tres fases, tal como se observa en la Figura 2 : fase de latencia, fase de disipación y fase de persistencia. La primera fase es muy breve, y se mantiene una alta concentración, cercana a la inicial, del plaguicida. En la segunda fase ocurre una disipación donde el plaguicida desaparece rápidamente y la tercera fase ocurre disipación lentamente.

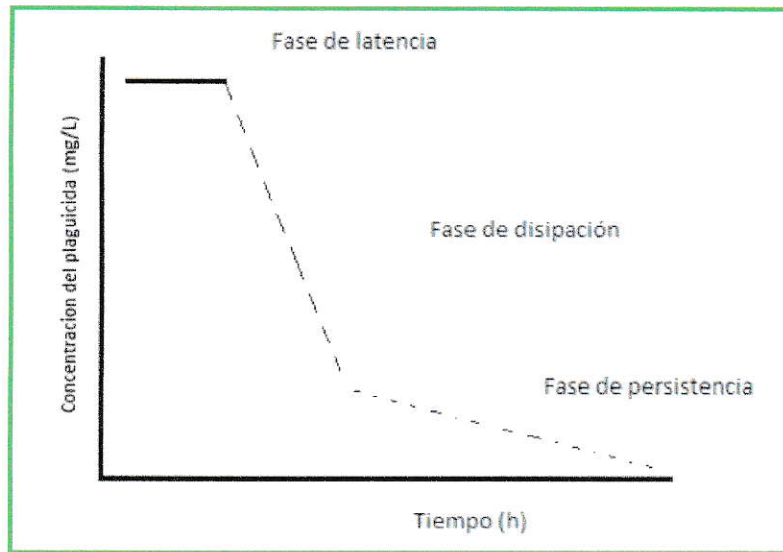


Figura 2 Etapas de disminución o disipación de un plaguicida en el suelo.

El término más frecuentemente utilizado para caracterizar la persistencia de un plaguicida en la matriz donde se encuentra es el denominado tiempo de vida media, que se designa por $t_{1/2}$ y es el tiempo necesario para la disipación de la mitad de la cantidad de plaguicida inicialmente presente en la matriz.

La metodología comúnmente utilizada para el cálculo de vidas medias se basa en la determinación de la cantidad inicial de plaguicida depositada en la matriz a estudiar después de la aplicación, y en la realización de muestreos a diferentes intervalos de tiempo, a lo largo de los cuales se observa la desaparición de los compuestos. Se han descrito cinéticas de desaparición de diferentes órdenes siendo la de primer orden, la cual se aplica a la desaparición del plaguicida en la etapa lenta (tercera fase), (ecuación 1) la más utilizada para la determinación de las vidas medias de los plaguicidas:

$$C_e = C_o e^{-kt} \quad \text{ec. 1}$$

Siendo C_e la concentración en el equilibrio alcanzada a tiempo t , C_o la concentración inicial o concentración añadida y K es la constante de desaparición, la cual puede ser calculada al linealizar la ecuación 1 y realizar un análisis de regresión lineal de $\ln C_e$ frente al tiempo de incubación (ec. 2).

$$\ln C_e = \ln C_o - kt \quad \text{ec. 2}$$

Para encontrar la vida media, se calcula según la ecuación 3:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{ec. 3}$$

La persistencia de un compuesto en el suelo dependerá tanto de las propiedades físicas y químicas del suelo como de la naturaleza del compuesto, además de las condiciones ambientales. La persistencia es un proceso que también puede afectar el efecto alelopático de un metabolito secundario.

Además de la persistencia de un compuesto en el suelo para que éste quede biodisponible para la planta se debe determinar la capacidad de adsorción ejercida por el suelo, ya que en el estado adsorbido prácticamente la molécula está inactiva. Este proceso dependerá tanto de las propiedades del suelo como del agroquímico (Copaja y col., 2014).

Un indicador de la movilidad de estos compuestos de una matriz a otra, es el índice de GUS.

El índice GUS (Groundwater Ubiquity Score), es un indicador de contaminación potencial basado en una aproximación empírica que se define como:

$$GUS = (4 - \log Koc) (\log t_{1/2}) \quad \text{ec. 4}$$

Donde Koc corresponde a la constante de adsorción.

Este índice permite clasificar a los plaguicidas en lixiviables ($GUS > 2,8$), no lixiviables ($GUS < 1,8$) y de transición ($1,8 < GUS < 2,8$). (Costa C., y col. 1998).

1.5 Procesos de acumulación: Adsorción – desorción

El fenómeno de adsorción se da de forma natural en sistemas físicos, biológicos y químicos. Es un proceso de separación en el que se transfieren ciertos componentes de una fase líquida (adsorbato) a una superficie sólida (adsorbente), por afinidad de las moléculas o iones del fluido con dicha superficie (González, J., 2013).

Mediante el proceso de adsorción física o química, las especies pueden adsorberse en varias capas consecutivas de una forma rápida y reversible, dependiendo tanto de las características físicas y químicas, tanto del adsorbente como del adsorbato.

Estudios de adsorción / desorción son utilizados para generar información esencial sobre la movilidad del químico y su distribución en el ecosistema. Puede ser usado en la predicción o estimación, por ejemplo, de la disponibilidad de un químico para degradación, transformación y absorción por el organismo; lixiviación a través del perfil del suelo; volatilidad desde el suelo; escorrentía de las superficies terrestres a través de agua freática (OCDE, 2000).

Los parámetros que se cree son más importantes para la adsorción son: contenido de carbono orgánico, contenido de arcilla y pH, entre otros.

Existen dos tipos de adsorción:

- ✚ Adsorción física ó fisorción: Se lleva a cabo por consecuencia de las fuerzas electrostáticas entre las moléculas o iones del adsorbente y el adsorbato.
- ✚ Adsorción química ó quimisorción: Es el resultado de la interacción química entre el sólido y la sustancia adsorbida; en este caso, el adsorbato y la superficie



están sujetos a fuerzas de valencia del mismo tipo que las que operan en la formación de los enlaces de los compuestos químicos (enlaces químicos o covalentes), estas interacciones son fuertes pero de corto rango. Es altamente específica, produciéndose sólo entre parejas determinadas de adsorbato y adsorbente.

La adsorción es un proceso físico-químico en que intervienen diversas etapas, difusión externa, difusión interna, fijación superficial y transferencia de materia en el sistema, por lo tanto para cada sistema metal-adsorbente se establecen equilibrios determinados y la velocidad de adsorción dependerá fundamentalmente de la naturaleza de estas relaciones (Fiol N, 2001).

El fenómeno de adsorción generalmente se describe mediante curvas denominadas isotermas de adsorción que representan la cantidad de compuesto adsorbido por gramo de suelo en función de la concentración en el equilibrio del adsorbato a una temperatura constante (Rodríguez R. y col. 2011). El proceso de adsorción de los solutos puede ser favorable o no, descrito de manera general en la Figura 3.

La adsorción depende de una interacción favorable (“afinidad”) entre una sustancia (el adsorbato) y una superficie (el adsorbente). Por ejemplo, cuando una molécula, de un gas, se adsorbe sobre la superficie de un sólido, se produce una disminución en los grados de libertad de los cuales la molécula dispone por lo que se reduce la entropía. Si el proceso de adsorción ha de ser favorable, el cambio de entalpía tiene que ser negativo. Por esta razón, todos los procesos de adsorción son exotérmicos. Cuando la isoterma es lineal, no cambia la superficie de adsorción, mientras que, cuando es no favorable esa “afinidad” no se observa.

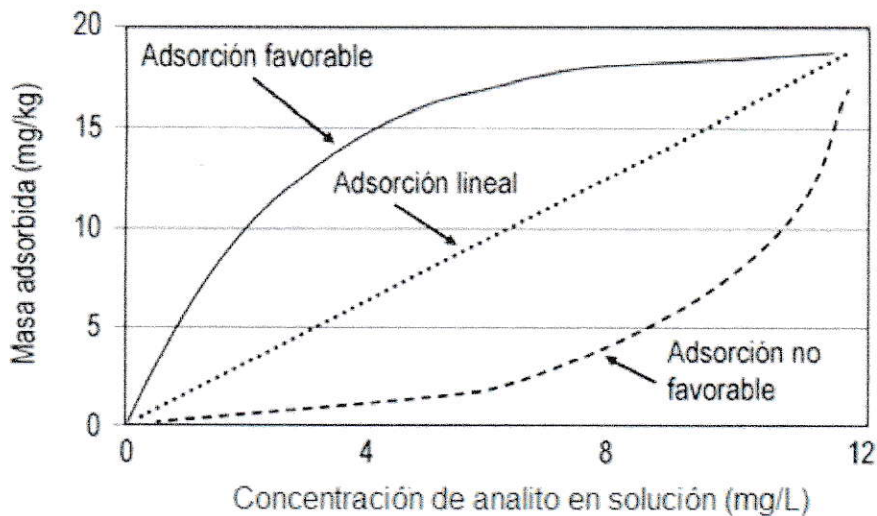


Figura 3 Tipos generales de isoterma de adsorción.

1.5.1 Parámetros de adsorción K_d y K_{oc}

El proceso de adsorción se puede representar mediante la siguiente ecuación (ec.5). La especie $\equiv\text{SOH}$ representa la cantidad de sitios de adsorción de la superficie del sólido no ocupados; R es la cantidad en la solución del ión que es sorbido; y $\equiv\text{SOHR}$ es la cantidad de sitios ocupados por el ión sorbido en la superficie del sólido.



Generalmente, la adsorción se define por el coeficiente de distribución de las concentraciones: (ec.6):

$$K_d = \frac{C_s}{C_e} \quad \text{ec.6}$$

Donde C_s es la concentración analítica del ión sorbido en la fase sólida y C_e es la concentración analítica del adsorbato en la solución. K_d es el coeficiente de distribución, el cual relaciona la cantidad de compuesto adsorbido con el que se encuentra en

equilibrio. El concepto de K_d define un modelo de adsorción lineal, e implica que se cumplen las condiciones siguientes:

- ✚ Existe una infinita oferta de sitios de adsorción en la superficie de los sólidos ($\equiv\text{SOH} \gg \equiv\text{SOHR}$).
- ✚ Todas las superficies del adsorbente tienen igual afinidad para las diferentes especies químicas del adsorbato.

Al mismo tiempo ignora los efectos químicos en la solución, la formación de complejos y la fuerte dependencia del pH. Este es un caso particular de adsorción en el que hay una relación constante entre la cantidad de soluto fijado sobre el sólido y la concentración de la solución. Este valor no es constante y varía considerablemente en función de las propiedades del suelo estudiado (Beltrán, J., y col, 1995). Por esto, una forma de normalizar los valores de dicho coeficiente, es en base al contenido de materia orgánica del suelo, para obtener una constante de adsorción K_{oc} , aplicable a todo tipo de suelo. Se obtiene según la (ec.7):

$$K_{oc} = \frac{K_d \cdot 100}{\% \text{ CO}} \quad \text{ec.7}$$

Este parámetro fisicoquímico es una medida de la tendencia de un compuesto orgánico para ser adsorbido (retenido) por un suelo o sedimento. % CO es el porcentaje de carbono orgánico en el suelo.

Los valores de K_{oc} más comunes van desde 1 a 10.000.000 (Tabla 1).

Tabla 1 Rango de valores para el parámetro Koc.

| ADSORCIÓN DEL PLAGUICIDA AL SUELO | | VALORES DEL COEFICIENTE | |
|-----------------------------------|--|-------------------------|--|
| Muy débil | El plaguicida puede ser volátil | Menor a 10 | Koc BAJO <ul style="list-style-type: none"> • El plaguicida puede distribuirse en cuerpos de agua o aire • El plaguicida puede no ser fijado a la materia orgánica del suelo • La vía de exposición al plaguicida puede ser la inhalatoria |
| Débil | | 10 a 100 | |
| Moderada | | 100 a 1000 | |
| De moderada a fuerte | El plaguicida puede ser soluble en grasa | 1000 a 10,000 | Koc ALTO <ul style="list-style-type: none"> • El plaguicida se puede fijar en suelo, sedimento, biota y materia orgánica • El plaguicida puede moverse en aguas superficiales • La vía de exposición al plaguicida puede ser por la cadena alimenticia |
| Fuerte | | 10,000 a 100,000 | |
| Muy fuerte | | Mayores a 100,000 | |

(INECC, 2011).

1.6 Modelos de adsorción

En las separaciones sólido-líquido, cuando un adsorbato (analito en solución) se pone en contacto con un adsorbente, se establece un equilibrio denominado adsorción, entre la cantidad adsorbida de analito por el sólido con el analito que quedó en solución (Kumar y Sivanesan, 2007). Los parámetros fisicoquímicos junto con los supuestos termodinámicos, dan una idea del mecanismo de adsorción, de las propiedades de la superficie, así como el grado de afinidad de los adsorbentes. Así, se han desarrollado una

gran variedad de modelos que dan cuenta del proceso: Langmuir, Freundlich, Brunauer-Emmett-Teller, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich, Temkin, Toth, Koble-Corrigan, Khan, Colina, Flory Huggins y Radke-Prausnitz, (González. J., 2013). Sin embargo, no todos estos modelos son aplicables a todos los procesos de adsorción. Estos se han formulado en función de tres criterios fundamentales, que incluyen la consideración cinética (estado dinámico de equilibrio), la termodinámica y el potencial teórico (transmite la idea principal en la generación de la curva característica) (González. J., 2013).

Para poder estudiar el proceso de adsorción, así como también la cinética que conlleva, es necesario aplicar algunos modelos fisicoquímicos que responden y describen lo que sucede con el adsorbato en el suelo. Los modelos de interés son tres: Elovich que es un modelo cinético de adsorción, Langmuir, y Freundlich que describen el proceso de adsorción. Como paso previo al estudio de los modelos de adsorción, se debe determinar el tiempo necesario de contacto entre adsorbato y adsorbente, denominado tiempo de equilibrio.

1.6.1 Modelo Cinético de Elovich

La cinética del proceso de adsorción permite determinar la cantidad de adsorbato que se recupera en un tiempo establecido. El Modelo de Elovich de aplicación general en procesos de quimisorción, supone que los sitios activos del adsorbente son heterogéneos, y por ello, exhiben diferentes energías de activación, basándose en un mecanismo de reacción de segundo orden para un proceso de reacción heterogénea, a través de la (ec.8):

$$r = \frac{dC_s}{dt} = a e^{-bC_s(t)} \quad \text{ec. 8}$$

Donde, donde r es la velocidad de adsorción, C_s es la cantidad de adsorbato adsorbido, t es el tiempo [h], a es la velocidad de adsorción inicial y b es la constante de desorción. Tanto a como b son factores que dependen de la temperatura, pues incluyen la energía de activación y la probabilidad de adherencia de las moléculas. Aplicando las condiciones de borde, cuando el adsorbato está en fase líquida, para $t = 0$ cuando $C_s = 0$ y $t = t$ cuando $C_s = C_s$, e integrando la ec.8 se obtiene la forma simplificada:

$$C_s = \frac{1}{b} \ln(ab) + \frac{1}{b} \ln(t) \quad \text{ec.9}$$

Que relaciona la cantidad total del soluto en el tiempo t (C_s) en función del logaritmo Neperiano del tiempo t ($\ln(t)$).

Este será el ajuste matemático que se dará a los datos experimentales y con ello la representación logarítmica, del cual se analizará dos parámetros: R^2 , dicho término indica el porcentaje de variabilidad de los datos obtenidos a partir del modelo frente a la concentración hallada de manera experimental. Un valor de $R^2 > 0,8$ indicará un buen ajuste. El segundo parámetro es un ARE: Average Relative Error, correspondiente al error cometido por el modelo, que diferencia entre los valores experimentales y los valores teóricos obtenidos a partir del modelo, si este valor es menor a 0,1 (10%) se podría considerar aceptable el uso del modelo de Elovich para describir la cinética de adsorción (Isern Roselló, 2011).

1.6.2 Isoterma de Langmuir

Este modelo se basa en las interacciones adsorbente – adsorbato y no tiene en cuenta las agrupaciones moleculares ni las variaciones de energía de la interacción con el adsorbente.

El modelo de Langmuir se basa en consideraciones fundamentales de una superficie homogénea y una adsorción limitada a una monocapa. La energía de adsorción es constante, la superficie es homogénea y la afinidad de cada lugar de interacción por las moléculas de soluto es la misma. No se tiene en cuenta las interacciones entre las moléculas adsorbidas, y este modelo está dado por la ecuación siguiente:

$$\frac{C_e}{C_s} = \frac{1}{bxm} + \frac{C_e}{xm}$$

ec.10

Donde C_s es la cantidad de metal adsorbida por unidad de masa de adsorbente, C_e es la concentración en solución en equilibrio, X_m es la capacidad de adsorción y b es una constante relacionada con la energía de enlace entre el adsorbente y el adsorbato (Dada. A O, 2012).

1.6.3 Isoterma de Freundlich

Es la primera relación que describe la adsorción no ideal, reversible y no se limita a la formación de monocapa. Este modelo empírico tiene una distribución no uniforme de adsorción de calor y presenta afinidad heterogénea sobre la superficie. En la actualidad, la isoterma de Freundlich se aplica ampliamente en sistemas heterogéneos, especialmente en compuestos orgánicos o especies altamente interactivas sobre carbón

activado y tamices moleculares, además de describir muy bien los procesos en sistemas sólido-líquido. Se expresa linealmente por la ecuación siguiente:

$$\text{Log } C_s = \frac{1}{n_f} \text{Log } C_e + \text{Log } K_f \quad \text{ec.11}$$

Donde C_s es el cociente entre la masa de adsorbato/masa de adsorbente, C_e es la concentración del adsorbato en disolución, K_f es un factor de capacidad que se relaciona con la capacidad de adsorción y n_f es un parámetro de linealidad de la isoterma, un indicador de heterogeneidad de los sitios activos (Dada, A O. 2012).

1.7 Biodisponibilidad

Los procesos de adsorción – desorción de compuestos en los suelos así como su persistencia determinan su biodisponibilidad y su posterior degradación. Es así como las sustancias adsorbidas deben desorberse hacia la solución del suelo para poder estar biodisponibles para las plantas y microorganismos del suelo (Vergara, R., 2011).

La norma ISO 11074 (2005) define biodisponibilidad como el grado en el cual los compuestos químicos presentes en el suelo (o sedimentos), pueden ser adsorbidos 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 sólo

cuando ésta coincide en tiempo y espacio con el organismo, está biodisponible (Cox L. y col., 2003).

1.8 Alcaloides Indólicos con propiedades alelopáticas

Como fue mencionado anteriormente, la alelopatía sería una alternativa para el control de plagas agrícolas. El buen manejo de este proceso permitiría disminuir el uso de herbicidas sintéticos y con ello reducir los efectos contaminantes de los residuos en el ecoagrosistema. El conocimiento de la dinámica del aleloquímico en el suelo cuando es liberado por las plantas dadoras puede ser fundamental para entender mejor el fenómeno alelopático.

Alcaloides indólicos simples de origen natural están presentes en distintas especies de cereales como trigo, centeno, cebada, avena. Particularmente abundantes se encuentran en cebada (Corcuera, L. 1984). Por esto, la alelopatía mostrada por este cereal hacia malezas y otros cereales competitivos, se le atribuye en parte, a la presencia de estos alcaloides. La estructura base de estos compuestos es el indol, sustituido por grupos alquil nitrogenados, en la posición 3 del anillo heterocíclico y en las posiciones 5 y 6 del anillo aromático (Figura 4).

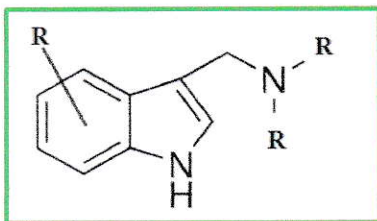


Figura 4 Estructura general de alcaloides Indólicos naturales.

(Sainsbury M., 2001)

Gramina (3- N, N- dimetil aminometil Indol), es el principal alcaloide indólico presente en cebada (Figura 5). Tiene un amplio rango de actividades biológicas conocidas, entre ellas, muestra actividad fitotóxica contra malezas y cereales competitivos (Bravo H. R., y col, 2010).

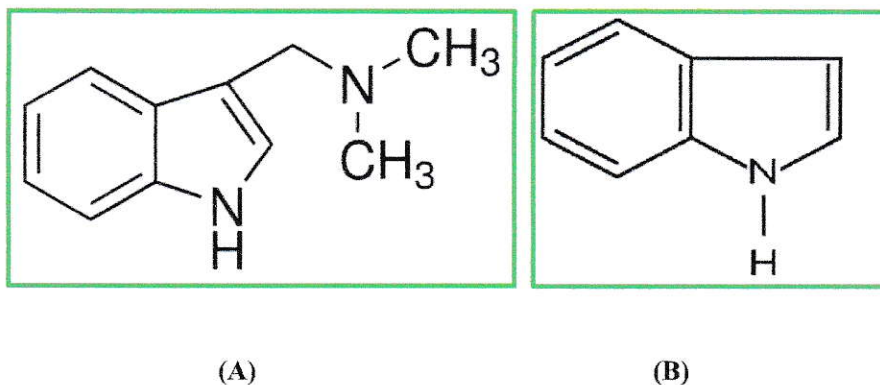


Figura 5 Estructura de Gramina (A) presente en cebada, e Indol (B).

Cuando el aleloquímico es liberado al suelo puede sufrir degradación por efectos bióticos y abióticos. La degradación de los alcaloides indólicos en condiciones de campo no ha sido estudiada. Sin embargo, es razonable esperar que la degradación de estos compuestos genere residuos indólicos.

Por lo tanto, para contribuir al entendimiento de los fenómenos alelopáticos de los alcaloides Indólicos naturales, se realizó un estudio de la dinámica en suelos chilenos agrícolas de Gramina, como estructura representativa de los compuestos naturales presentes en cereales e Indol (Figura 5) como una estructura modelo de los posibles productos de degradación. En la Tabla 2 se mencionan algunas propiedades fisicoquímicas de estos compuestos.

Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas de Indol y Gramina.

| Compuesto | Indol | Gramina |
|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| Punto de fusión (°C) | 52 | 132-134 °C (lit.) |
| Punto de ebullición (°C) | 254 | Sin información |
| Presión de vapor (hPa) | 0,016 | Sin información |
| Densidad (20 °C, g/cm ³) | 1,22 | Sin información |
| Solubilidad | 3,560 (en H ₂ O, 25°C, g/L) | 17,424 g/L (en DMSO y MeOH) |
| pH (H ₂ O, 20°C, 1000 g/L) | 5,9 | Sin información |
| Kow | 2,14 | 1,45 |
| Acidez (pKa) | 16,2 21,0 en DMSO | Sin información |
| Basicidad (pKb) | 17,6 | Sin información |

1.9 Suelos de interés agrícola

El concepto de suelo agrícola es aquel que se utiliza en el ámbito de la productividad para hacer referencia a un determinado tipo de suelo que es apto para todo tipo de cultivos y plantaciones, es decir, para la producción de cultivos aptos para la alimentación humana o animal. Además de ser un suelo fértil, debe contener, una importante cantidad de humus (o materia orgánica del suelo, aprox. 5%), macro nutrientes primarios (NPK), macro nutrientes secundarios (Ca, Mg, S, entre otros) y oligoelementos o micronutrientes (B, Cu, Cl, Fe, Mn, Mo, Zn).

Otras características que también deben ser controlados para considerar un suelo apto para la agricultura son, pH, textura, estructura, potencial redox, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico (CIC). Estos parámetros contribuirán a que aquellos cultivos se desarrollen mejor y su productividad sea importante.

Los nutrientes pueden ser reforzados y agregados de manera artificial a través de fertilizantes y/o diversos tipos de abonos, además será necesaria la aplicación de

pesticidas en las zonas que más lo necesitan, con el fin de mejorar la calidad fitosanitaria de los productos que se cosechan.

En este trabajo se considerará dos suelos agrícolas chilenos, suelo Rancagua y suelo Alhué. Ambos suelos se encuentran en la VI Región del Libertador Bernardo O'Higgins, provincia del Cachapoal. En ambos casos, son suelo de uso agrícola pertenecientes a dos series clasificadas, serie RANCAGUA y serie ALHUÉ.

1.10 Hipótesis

La dinámica y propiedades fitotóxicas de los Alcaloides Indólicos naturales y sus productos de descomposición, dependen de las características físicas y químicas del suelo.

1.11 Objetivo General

Estudiar la dinámica (adsorción – desorción, persistencia) y su efecto en la actividad fitotóxica contra malezas y cereales de Gramina e Indol, en suelos agrícolas chilenos.

1.12 Objetivos específicos

- Seleccionar y caracterizar los suelos a estudiar, determinar: pH, CE, textura, contenido de materia orgánica, C orgánico total.
- Optimizar el método analítico por HPLC para cuantificar Gramina e Indol.
- Determinar el tiempo de contacto y aplicar el modelo cinético de Elovich, para luego estudiar el proceso de adsorción- desorción de Gramina e Indol en los dos suelos agrícolas seleccionados.
- Analizar los resultados de adsorción a través de modelos matemáticos de Langmuir y Freundlich para luego relacionar la adsorción – desorción de Gramina e Indol con las propiedades físicas y químicas de los dos suelos seleccionados.
- Determinar la persistencia y el índice de Gus de Gramina e Indol en los suelos seleccionados.
- Evaluar la actividad fitotóxica sobre la maleza Ballica (*Lolium rigidum*) y el cereal Avena (*Avena sativa*) de Gramina e Indol en suelo Alhué.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestras de Suelo

En este trabajo se utilizó dos suelos provenientes de zonas agrícolas de una misma región de Chile:

- ✦ VI Región del General Libertador Bernardo O'Higgins

Serie Alhué: 16 Km. al norte de Las Cabras, Provincia del Cachapoal

Serie Rancagua: Rancagua, 6.221,8 Km. de Lat. UTM y 338,4 Km. de Long UTM.

2.1.1 Suelo Rancagua

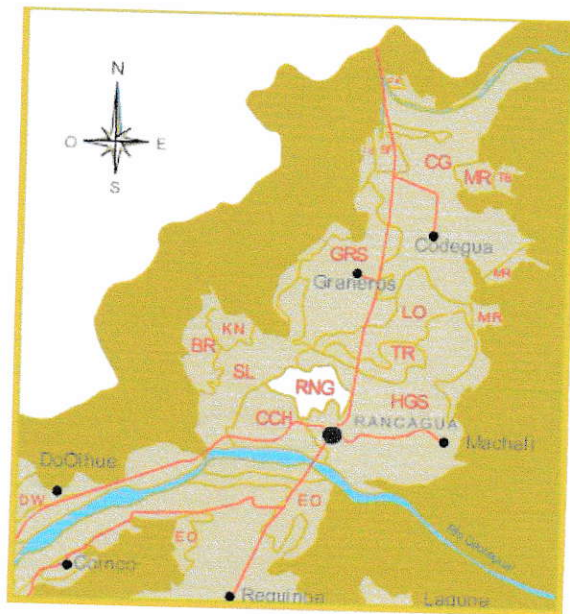


Figura 6 Mapa físico de suelo serie Rancagua (RNG), comuna de Rancagua. La muestra de suelo se obtuvo desde el Fundo “El Almendral”, a 5 Km. al noroeste de Rancagua por camino a Las Coloradas, Provincia de O'Higgins (Figura 6). La muestra

fue tomada de una calicata de 1m por 1 m de área superficial, con profundidad entre 0 – 20 cm, sacando previamente el mantillo.

El suelo Rancagua pertenece a la SERIE RANCAGUA. Este suelo es miembro de la Familia Franco limosa, mixta, térmica de los Fluventic haploxerolls (Mollisol). Son suelos de origen aluvial, profundos, que se presentan en una topografía plana en una posición central y marginal dentro del gran abanico aluvial que se extiende por ambos márgenes del río Cachapoal. Respecto de su mineralogía, el suelo Rancagua se compone principalmente de Vermiculita (VE5), Esmectita (ES3) y Caolinita (CA3), lo que le permite al suelo un buen drenaje (CIREN, 2002).

2.1.2 Suelo Alhué



Figura 7 Mapa físico de suelo serie Alhué (AHE), comuna de Alhué.

La muestra de suelo se obtuvo desde el sector El Manzano a 16 Km al norte de Las Cabras a un costado de la ruta conocida como la carretera de la Fruta (CH66), la cual

pasa por la Comuna de Las Cabras, provincia del Cachapoal, VI Región del Libertador Bernardo O'Higgins (Figura 7, Figura 8). El suelo Alhué pertenece a la SERIE ALHUÉ y se extiende desde la provincia de Santiago hasta O'Higgins. La Comisión General de Riego, en un estudio realizado el año 1981 (Estudio de Suelos del Proyecto Maipo), realiza una descripción de la SERIE ALHUÉ, clasificándolo como un suelo franco arenoso fino, miembro de la familia, "Ashy, thermic, Xeric Durandepts". Este suelo se ha formado a partir de cenizas volcánicas re depositadas por agua de tipo pumicítico. Respecto de su mineralogía, el suelo Alhué se compone principalmente de haloisita, cuya cantidad aumenta a menor tamaño de partículas, y una mezcla de montmorillonita y vermiculita, que confiere a este suelo una baja densidad real.



Figura 8 Suelo Alhué.

En la Tabla 3 se resumen algunas características para cada suelo.

Tabla 3 Características de los suelos en estudio

| Propiedades | Suelo Rancagua | Suelo Alhué |
|-------------------------------|---|---|
| Serie | Rancagua RU 324 Ir | Alhué AH 522/rte IV - VI |
| Ubicación / Área | Fundo "El Almendral" a 5 Km. Al Noroeste de Rancagua, Provincia de O'Higgins. | 16 Km al Norte de Las Cabras, en el pueblo El Manzano. |
| Geomorfología / Topografía | 1E c/a 8. Suelo de posición baja, plano depositacional. | 5E g8. Suelo de posición intermedia, plano depositacional, ondulado a quebrado. |
| Material de Origen | Sedimentos aluviales | Cenizas volcánicas de origen pumicítico. |
| Pluviometría | Alrededor de 500 mm | De 700 a 1000 mm. |
| Drenaje | Externo e Interno, medio | Externo: rápido; Interno: bueno |
| Erosión | Libre | De manto, moderada. |

(Instituto de Investigación de Recursos Naturales, 1964).

2.2 Caracterización fisicoquímica de los suelos en estudio.

Para la caracterización del suelo en estudio, se consideró parámetros fisicoquímicos que son relevantes en la dinámica de las moléculas orgánicas en el suelo. Los parámetros considerados son: pH, Conductividad eléctrica, materia orgánica, carbono total, factor humedad y textura.

Los suelos en estudio fueron secados a temperatura ambiente en bandejas de plástico y luego tamizados con tamiz < 2 μ m. (Humboldt Mfg. USA Standard Sieve) Se almacenaron en frascos plásticos de 1 Kg. hasta su posterior análisis.

La metodología correspondiente para determinar los parámetros mencionados se muestra en la siguiente tabla (Sadzawka A. y col, 2006).

Tabla 4 Metodología y equipamiento utilizado para la caracterización físico-química de los Suelos.

| Parámetro | Metodología | Equipos |
|-------------------------|--|--|
| pH | Electrodo combinado de vidrio-calomelano. | Kit multiparamétrico portátil HANNA, modelo Multi340i. |
| Conductividad Eléctrica | Célula conductivímetro. | |
| Materia Orgánica | Procedimiento de Walkley y Black: Digestión con Dicromato ácido, titulación con Sulfato ferroso. | Potenciométrico HANNA, modelo HI 111. |
| Factor de Humedad | Pérdida de masa a $105^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ | Estufa Electro Termostatic, modelo DHG-9147A. |
| Textura | Método de la pipeta: Velocidad de sedimentación. Ley de Stock. | |
| Carbono Orgánico Total | Método de Calcinación. | Mufla Barnstead International FB 1300. |

2.2.1 Determinación del pH y Conductividad Eléctrica.

Se masó 10 g de suelo en una balanza analítica (SHIMADZU AUX220) con una exactitud de $\pm 0,001$ g. y se depositó en un frasco de polietileno. Se le adicionó 25 mL de agua desionizada grado miliQ y se agitó por 2 h a 100 rpm, en un agitador orbital (Agitador Already Enterprise Inc, modelo DSR-2800A). Transcurrido este tiempo, se midió el pH y la CE utilizando un equipo multiparamétrico (HANNA multi340i), sumergiendo completamente el electrodo, específico para cada parámetro, en el sobrenadante hasta la estabilización de la lectura. El ensayo se realizó por duplicado.

2.2.2 Textura

La textura del suelo se determinó por el método de la pipeta, aplicando la Ley de Stock. Se masó 100 g de Suelo correspondiente a la fracción $< 2\text{mm}$ y se traspasó a un frasco

redondo en conjunto con 100 mL de agua destilada. Se agitó manualmente hasta formar una suspensión. Se le adicionó 30 mL de solución de oxalato de sodio saturado (Merck p.a) y se traspasó a una probeta de 1000 mL (Figura 9). Se completó el volumen con agua destilada. Se midió la temperatura de la solución con un termómetro digital y se estimó la constante de velocidad (K) y su velocidad de sedimentación (Cálculos correspondientes en anexo 1)

Posteriormente, se invierte la probeta tres veces y se coloca sobre una superficie plana. Se tomó alícuotas de 25 mL (a los tiempos obtenidos utilizando la ecuación de velocidad, a una profundidad de 10 y 3 cm.), las cuales fueron depositadas en vasos de precipitados masados previamente y llevando a sequedad a 105°C por 24 h. La primera alícuota correspondió a una mezcla de limo y arcilla y la segunda a arcilla. La cantidad de arena se estimó por diferencia.

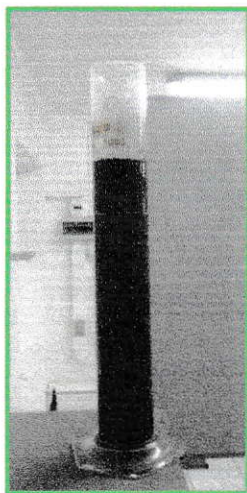


Figura 9 Velocidad de Sedimentación. Método de la pipeta.

2.2.3 Humedad y factor humedad.

Se masó 50 g de suelo en una balanza analítica (Shimadzu AUX 220) y se depositó en un vaso de precipitados previamente tarado. Se secó en estufa (Electro Termosthathic, modelo DHG-9147A) a 105°C durante 24 h., hasta masa constante (anexo 2).

2.2.4 Determinación de Carbono Orgánico fácilmente oxidable. Método de Walkey y Black.

Se masó 0,5 g de suelo en balanza analítica (Shimadzu AUX220) y se traspasó a un erlenmeyer de 250 mL. Se le adicionó 10 mL de solución de dicromato de potasio (Merck p.a) 0,1667 M, más 20 mL de ácido sulfúrico (95%-97% Merck p.a) concentrado y se dejó reposar por 30 min. Posteriormente, se agregó 10 mL de ácido fosfórico (Merck p.a) concentrado y 180 mL de agua desionizada grado Mili-Q. La solución resultante se tituló con solución de sulfato de hierro (II) (Merck p.a) 1M y su potencial redox se determinó potenciométricamente, con un electrodo de platino (HANNA HI 111) a medida que transcurría la titulación. El ensayo se realizó por duplicado (anexo 3).

2.2.5 Determinación de Carbono Orgánico Total. Método de Calcinación.

En crisoles de porcelana previamente secos a estufa (Electro Termosthathic, modelo DHG-9147A) a 105 °C se le adicionó 1 g de suelo también previamente seco, a masa constante. Se introdujo cada crisol en la mufla (Barnstead International FB 1300) y se calentó a 550°C hasta masa constante (Figura 10). El contenido de Carbono Orgánico se obtiene por diferencia en masa (anexo 4).



Figura 10 Método de Calcinación (Muffla).

2.3 Determinación del tiempo de equilibrio en suelo Rancagua y Alhué.

2.3.1 Preparación de Soluciones de compuestos en estudio.

Se utilizó soluciones de Gramina (Aldrich, 99%) e Indol (Merck), de una concentración de 1000 mgL^{-1} en Metanol (Merck, grado HPLC), para el estudio del tiempo de equilibrio.

2.3.2 Estudio del tiempo de equilibrio.

Se masó $1 \pm 0,001\text{g}$ de cada suelo en frascos de polietileno, se les adiciona 10 mL de solución de Gramina o Indol y se agitó a 100 rpm con un agitador orbital (Already Enterprise Inc. Modelo DSR- 2800A) (Figura 11) a diferentes horas (3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 48, 72, 96, 1 semana). Cada ensayo se realizó por duplicado.

Luego de la agitación, se traspasó todo el contenido del frasco a tubos de centrifuga de 15 mL, los cuales se centrifugaron (centrifuga Boeco Germany modelo U-320) a 3500 rpm por 30 min. El sobrenadante se filtró con filtros PVDF de $0,22 \mu\text{m}$ de poro y se guardó refrigerado para su posterior análisis por HPLC.

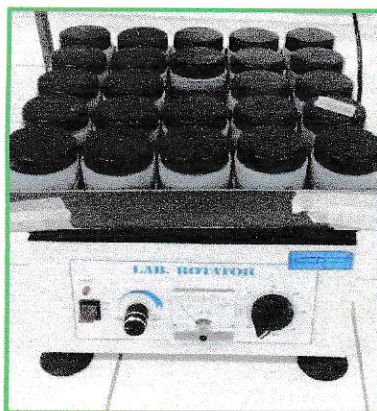


Figura 11 Agitación de muestras incubadas.

2.4 Determinación de las Curvas de Adsorción en los suelos en estudio.

2.4.1 Preparación de Soluciones.

Se utilizó las soluciones preparadas para determinar el tiempo de equilibrio. Además, como solución equilibrante, necesaria para mantener la fuerza iónica de la solución, se preparó una solución de CaCl_2 (Merck p.a), 0,01M (0,7351 g de CaCl_2 en 500 mL de agua desionizada grado miliQ).

2.4.2 Estudio de la Adsorción de Gramina e Indol.

Se procedió a preparar un set de 11 frascos de polietileno, a los cuales se les adicionó 1 g de suelo, 10 mL de solución de CaCl_2 0,01M y cero de Gramina (o Indol) rotulado como frasco 1, hasta 0 mL de CaCl_2 0,01M y 10 mL de Gramina (o Indol), rotulado como frasco 11 (Figura 12). Se agitó a 100 rpm con un agitador orbital, durante el tiempo de equilibrio determinado con anterioridad.

Luego de la agitación, se traspasó todo el sobrenadante a tubos de centrifuga de 15 mL, los cuales se centrifugaron a 3500 rpm por 30 min. Transcurrido el tiempo, el

sobrenadante se filtra con filtros PVDF de 0,22 μm de poro y se guarda refrigerado para su posterior análisis por HPLC.

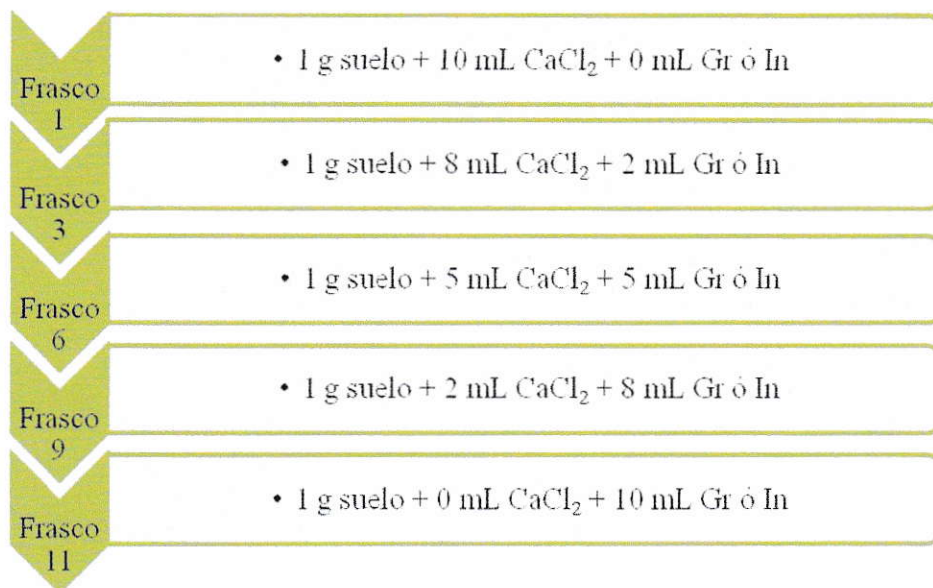


Figura 12 Esquema: Ejemplo del estudio de adsorción de Gramina (Gr) e Indol (In).

2.5 Determinación de la desorción en ambos suelos.

La desorción se suele medir después de la adsorción por medio de lavados del suelo con la solución equilibrante. El suelo húmedo residual en los tubos de centrifuga se secó a temperatura ambiente durante un día, luego se masó y trasvasijó en los mismos frascos utilizados para la adsorción, se agregó 6 mL de la solución de Cloruro de Calcio 0,01 M y se dejó agitar durante una hora. Posterior a ello se centrifugó durante 30 minutos a 3500 r.p.m, luego se descartó el sólido sedimentable y se recogió el sobrenadante por medio de una jeringa y fué filtrado en una membrana de PDVF de 0,22 μm de poro (esto se repitió tres veces.), el sobrenadante obtenido fué llevado a un volumen final de 20 mL. Se guardó refrigerado hasta el análisis por HPLC.

2.6 Persistencia

Los estudios de persistencia de un pesticida consisten en determinar la concentración de éste en función del tiempo transcurrido. Para ello, se preparan 72 vasos plásticos separados en dos grupos (Gr e In) de acuerdo al tiempo de persistencia a estudiar: 0-3-6-9-14-18-24-48-72-96 horas, una y dos semanas (en duplicado). A todos se les adiciona 5 g de suelo, 2,5 mL de Gramina o Indol cuya concentración fue de 1000 mg L⁻¹. También se preparó un vaso control por cada tiempo, al cual se le agregó 2,5 mL de agua destilada (Figura 13).

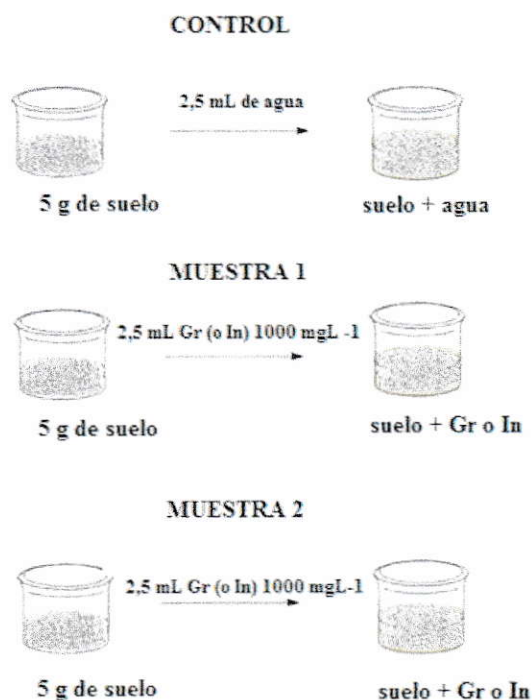


Figura 13 Preparación de vasos para el estudio de la persistencia de Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué.

Las muestras se dejan durante los tiempos respectivos, en condiciones de temperatura y humedad constante y se riegan con agua desionizada. Una vez terminado el tiempo de

cada ensayo, se extrae cuantitativamente el suelo de los vasos hacia frascos cuadrados, utilizando 5 mL de MeOH. Los frascos se tapan y se agitan a 100 rpm durante media hora. Se traspasa todo el contenido a tubos de centrifuga de 15 mL, se centrifugan a 3000 rpm por 15 min. Posteriormente el sobrenadante se extrae con una jeringa de 5 mL y se traspasa a un tubo nuevo de centrífuga de 15 mL utilizando un filtro de 0,22 μm . Este protocolo se repite 3 veces hasta un volumen final de 15 mL. Finalmente se guarda el tubo para su análisis posterior.

2.7 Actividad fitotóxica de Gramina e Indol en suelo Alhué.

2.7.1 Actividad fitotóxica de Gramina sobre Avena (*A. sativa*)

Se preparó 5 placas que contenían 35 g de suelo Alhué cada una. En cada placa se sembraron 20 semillas de avena. Cada placa fue irrigada una vez con 20 mL de solución acuosa de Gramina de 100 mgL^{-1} . 5 Placas controles fueron regadas con agua destilada. Las placas fueron ubicadas en una cámara de cultivo a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, la humedad relativa fue 50-65% con fotoperiodo luz: oscuridad 10:14 h por seis días. Los porcentajes de inhibición fueron determinados respecto de los controles.

2.7.2 Actividad fitotóxica de Gramina sobre Ballica (*Lolium rigidum*)

El efecto toxico de Gramina sobre la germinación de semillas de la maleza Ballica sembradas en suelo Alhué fue evaluada en las mismas condiciones experimentales utilizadas para Gramina sobre avena.

2.7.3 Actividad fitotóxica de Indol sobre avena (*A. sativa*) y Ballica (*Lolium rigidium*) en suelo Alhué.

La toxicidad de Indol en la germinación de semillas de avena y Ballica sembradas en el suelo Alhué fue evaluada en las mismas condiciones experimentales utilizadas para evaluar la toxicidad de Gramina.

2.8 Análisis Químico

La determinación de Gramina e Indol, se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-PDA). Para esto, se debió preparar con anterioridad lo siguiente:

a) Fase Móvil: Agua Ácida / Metanol

- **Agua ácida:** Se agregó 50 μL de ácido orto- fosfórico (85% Merck) a 1L de Agua desionizada (pH 3) y se almacenó en botella ámbar (Solvente B).
- **Metanol:** se utilizó metanol para HPLC (99,97% J.T Baker) almacenado en botella ámbar (Solvente A).

b) Soluciones Estándar

A partir de estándar de Gramina 99% (Aldrich) e Indol (Merck), se preparó una curva de calibración del siguiente modo:

- Se masó 10 mg de cada estándar por separado.
- Se disolvió en metanol y se llevó a un volumen final de 10 mL. Esta solución se consideró como solución stock ($1 \mu\text{g}\mu\text{L}^{-1}$).
- Se midió una alícuota de la solución stock con ayuda de una micropipeta de 100 – 1000 μL .

- Se llevó a un volumen final de 1000 μL aforando con Metanol.
- Se almacenó en tubos eppendorf hasta el momento de la inyección.

Una vez preparada la fase móvil y las soluciones estándar, se programó el equipo utilizando el software Empower Pro, con las siguientes condiciones:

c) Condiciones Experimentales

- Fase móvil: 60/40 metanol (solvente A) / agua ácida (Solvente B).
- Volumen de inyección: 20 μL .
- Flujo Fase móvil: 1 mLmin^{-1} .
- Tiempo de análisis: 5 min.
- Detección: $\lambda = 270 \text{ nm}$.
- Columna: Atlantis $\text{\textcircled{R}}$ dC18 5, 0 μm (Waters).
- Detector: Arreglo de Fotodiodo, PDA (Waters 2996).
- Bomba: Binaria (Waters 1525).
- Desgasificador: Waters in- Line Degasser AF.

Una vez programado el equipo, se procedió a realizar las inyecciones correspondientes a las soluciones estándar de la curva de calibración y luego las muestras.

Las señales se identificaron por comparación de los tiempos de retención (t_R) y espectros UV, con las soluciones estándar.

2.9 Estándar de compuestos en estudio.

Utilizando las soluciones estándar para ambos compuestos, cuya concentración fue de 0,1 y 1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$, se preparó diferentes concentraciones del estándar, clasificándolas como zona baja (0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) y zona alta (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$). Las muestras se inyectaron por triplicado y en diferentes días.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización fisicoquímica de los suelos estudiados.

En la siguiente tabla se muestran los valores de pH, Conductividad eléctrica (CE), Materia Orgánica (MO) y Carbono Orgánico Total (COT) para ambos suelos.

Tabla 5 Valores de pH, C.E, MO y CO total para suelo Rancagua y Alhué.

| Suelo | pH | CE [dS m ⁻¹] | MO (%) | CO total (%) |
|----------|-------------|-----------------------------|-----------|-----------------|
| Rancagua | 5,80 ± 0,01 | 0,26 ± 0,01 | 4,4± 0,1 | 5,9± 0,2 |
| Alhué | 6,90 ± 0,10 | 0,17 ± 0,01 | 2,1± 0,2 | 6,0± 0,3 |

En la tabla 5 se observa que el suelo Rancagua, mostró un pH “medianamente ácido”, mientras que, en suelo Alhué, se clasifica como “neutro” (Ríoja Molina A. 2002).

Generalmente, no será posible el cultivo o la re-vegetación en las bandas extremas del intervalo de pH de los suelos, esto es, inferiores a 4,5 y superiores a 10. Cada planta adquiere mayor vigor y productividad dentro de un cierto rango de valores de pH, lo que no significa que no pueda ser cultivada en dicho rango, dado que presenta una cierta capacidad de adaptación. Por ejemplo, Avena (*Avena sativa*) tiene un intervalo óptimo entre 5,5 – 7,0, tolerando entre 4,0 – 7,5, con rendimiento satisfactorio. Cebada (*Hordeum vulgare*) tiene un intervalo óptimo entre 5,5 – 7,0, tolerando entre 4,0 – 8,8, con rendimiento satisfactorio (Porta Casanellas, J y col, 2003). Por lo tanto, los valores de pH de los suelos Rancagua y Alhué están en el rango satisfactorio para el cultivo de cereales.

Los valores de CE clasifican a ambos suelos como “no salinos”, adecuados para un desarrollo de cultivos “normal” (Pérez P., 2014) (Ríoja Molina A. 2002).

Los valores de MO y CO total corresponden a un promedio de dos muestras realizadas (anexos 1 y 2). El porcentaje obtenido de carbono orgánico (MO) fácilmente oxidable en suelo Rancagua se considera de nivel “medio”, mientras que Alhué se encuentra en el otro extremo de la clasificación, de nivel “bajo” (Pérez P., 2014).

Para Carbono orgánico total, los valores en ambos suelos son mayores al %MO y muy similares entre ellos.

La textura se asignó por medio del uso del triángulo textural del suelo (anexo 3). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6 Textura para suelo Rancagua y Alhué.

| Suelo | Arena[%] | Limo[%] | Arcilla[%] | Textura USDA |
|-----------------|----------|---------|------------|----------------|
| Rancagua | 17,4 | 74,8 | 7,8 | Franco limoso |
| Alhué | 60,2 | 29,2 | 10,6 | Franco arenoso |

De la tabla se observa que los suelos presentan una gran diferencia porcentual para arena y limo, pero un porcentaje algo similar de arcilla y, según el estudio Agrológico para la VI Región (CIREN, 2002), el tipo de arcilla predominante en suelo Rancagua es la Vermiculita, mientras que en suelo Alhué es la Haloisita, ambas del tipo filosilicatos.

Esta similitud en los porcentajes de arcilla obtenidos, indicaría que la arcilla podría no ser determinante en el comportamiento de ambos compuestos en los suelos utilizados puesto que el porcentaje de materia orgánica es mayor por lo que el proceso de adsorción-desorción se vería más influenciado por la materia orgánica presente que por la fracción mineral.

3.2 Análisis Químico: Uso de la técnica analítica HPLC.

3.2.1 Identificación de los compuestos.

La cromatografía es una técnica que permite separar e identificar compuestos en una muestra. La identificación por tiempo de retención (t_R) no es segura en un 100%, por lo tanto, para obtener mayor seguridad es necesario comparar no solo los t_R de un estándar con la muestra sino también sus espectros UV.

En la figura 14 se muestra el cromatograma y espectro UV para una solución estándar de Gramina. En las condiciones descritas el cromatograma muestra un tiempo de retención de 1,302 min y el espectro UV una $\lambda_{max} = 268,9$ nm.

En la figura 15 se muestra el cromatograma y espectro UV para la Gramina extraída desde el suelo Alhué. Como se observa, los valores del tiempo de retención ($t_R = 1,323$ min) y $\lambda_{max} = 268,9$ nm, fueron muy similares. Esto sugiere que Gramina no sufrió cambios químicos al ser expuesta a suelo Alhué y que la señal observada corresponde a este compuesto. Con suelo Rancagua se obtuvo un resultado similar.

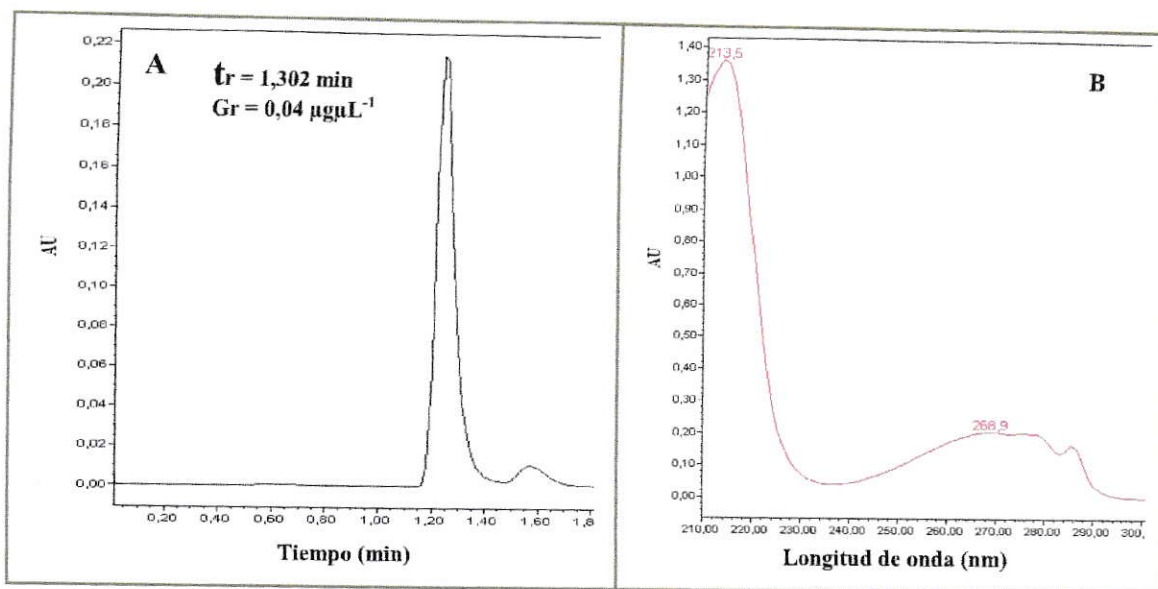


Figura 14 A) Cromatograma estándar de Gramina. B) Espectro UV de Gramina. (Condiciones de análisis: $\lambda_{MAX} = 270\text{nm}$; MeOH /Agua ácida = 60/40; Flujo: 1mL min^{-1}).

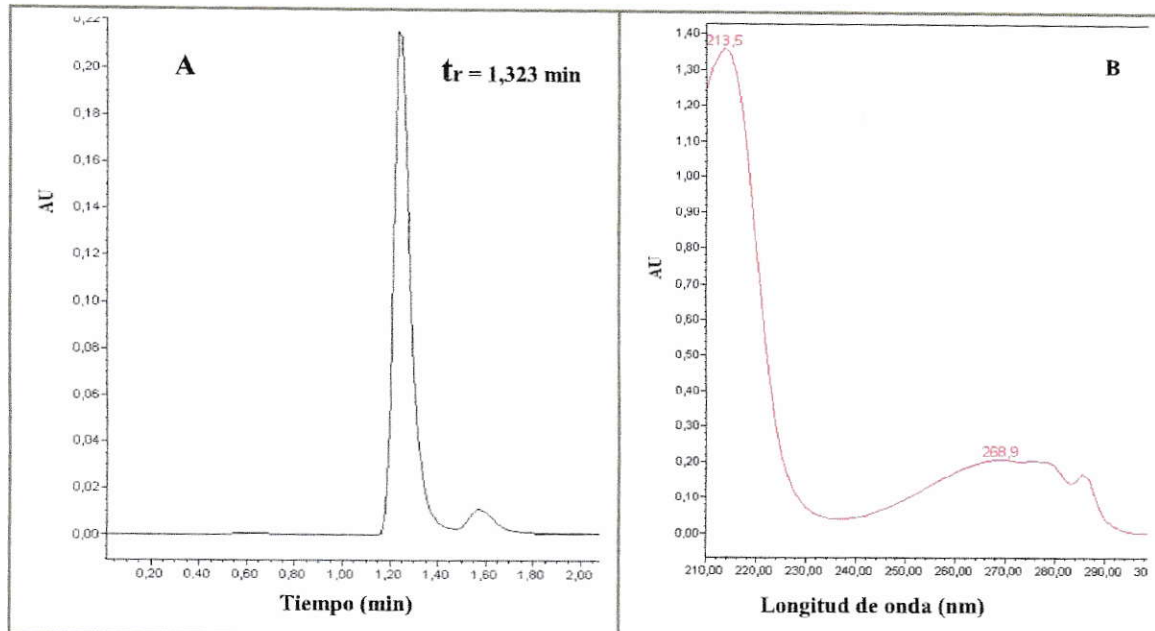


Figura 15 A) Cromatograma muestra de Gramina en suelo Alhué. B) Espectro UV muestra de Gramina en Suelo Alhué.

(Condiciones de análisis: $\lambda_{MAX}: 268,9 \text{ nm}$; MeOH /Agua ácida: 60/40; Flujo: 1mL min^{-1}).

En la figura 16 se muestra el cromatograma y espectro UV para una solución estándar de Indol. En las condiciones descritas el cromatograma muestra un tiempo de retención de 4,55 min y el espectro UV una $\lambda_{\text{max}} = 270,1$ nm.

En la figura 17 se muestra el cromatograma y espectro UV para Indol extraído desde el suelo Alhué. Como se observa, los valores del tiempo de retención ($t_R = 4,55$ min) y $\lambda_{\text{max}} = 270,1$ nm, fueron similares. Por lo tanto, Indol al igual que Gramina no sufriría cambios químicos al ser expuesto a suelo Alhué y la señal cromatográfica observada corresponde al compuesto. Con suelo Rancagua se observó un resultado similar.

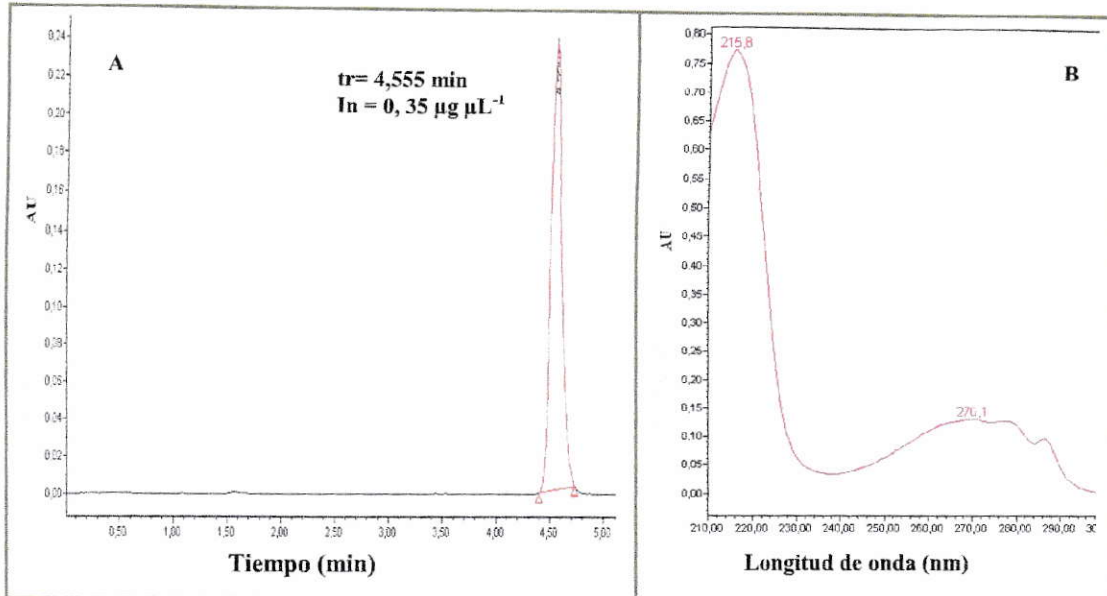


Figura 16 A) Cromatograma estándar de Indol. **B)** Espectro UV de estándar de Indol (Condiciones de análisis: λ_{MAX} : 270nm; MeOH /Agua ácida = 60/40; Flujo: 1mL min^{-1}).

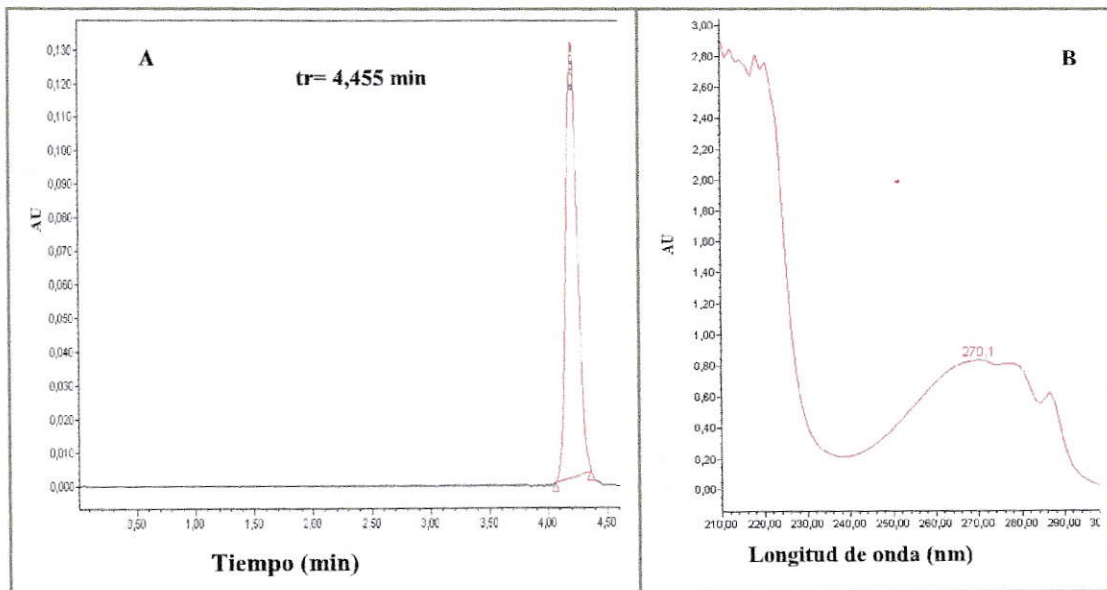


Figura 17 A) Cromatograma muestra de Indol en suelo Rancagua. **B)** Espectro UV muestra de Indol en suelo Rancagua. (Condiciones de análisis: λ_{MAX} : 270nm; MeOH /Agua ácida = 60/40; Flujo: 1mL min^{-1}).

3.2.2 Validación del método analítico para determinación de Gramina e Indol.

Para realizar la validación de métodos cromatográficos se consideraron las figuras de mérito descritas a continuación:

3.2.2.1 Intervalo Lineal

Se realizó una curva de calibración para cada compuesto utilizando cada estándar de éstos preparados en metanol, el procedimiento se describe en el Anexo 5. Los parámetros derivados de las ecuaciones correspondientes a cada curva se muestran en la siguiente tabla (Tabla 7).

Tabla 7 Ecuación de la recta para Gramina e Indol.

| Analito | Pendiente | Intercepto | R ² |
|----------------|--------------------|------------|----------------|
| Gramina | $2,36 \times 10^6$ | 279275 | 0,99 |
| Indol | $7,57 \times 10^5$ | 14444 | 0,99 |

En la Tabla 7 se observa que los valores para R² son cercanos a la unidad, indicando que el intervalo para el método es lineal, para concentraciones que fluctúan entre 0,02 y 0,1 ug uL⁻¹ (capítulo 2. Pág. 40), siendo la zona baja la utilizada para cuantificar Gramina y la zona alta para cuantificar Indol.

3.2.2.2 Sensibilidad

La sensibilidad se asocia al valor de la pendiente de la curva de calibración respectiva (Tabla 7). Un mayor valor de sensibilidad se observó para Gramina, debido a que presenta un mayor valor de pendiente.

3.2.2.3 Precisión

Una vez realizadas las curvas de calibración, se procedió a realizar el análisis de muestras de estándar de concentración conocida a diferentes intervalos de tiempo.

Tabla 8 Precisión para Gramina e Indol.

| | Conc. agregada [$\mu\text{g}\text{L}^{-1}$] | Conc. Encontrada [$\mu\text{g}\text{L}^{-1}$] | | | CV (%) |
|----------------|--|--|-------------------|-------------------|-----------------|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Promedio |
| Gramina | 0,020 | 0,023 \pm 0,001 | 0,022 \pm 0,007 | 0,020 \pm 0,007 | 1,60 \pm 0,50 |
| Indol | 0,020 | 0,019 \pm 0,003 | 0,023 \pm 0,002 | 0,018 \pm 0,002 | 0,34 \pm 0,30 |

En la Tabla 8 se observa que los valores para coeficiente de variación son todos menores al 5% permitido. Con esto, se puede considerar que el método utilizado presenta una precisión adecuada.

3.2.2.4 Exactitud

Los compuestos utilizados no cuentan con material de referencia certificado, por ello se recurrió a la preparación de una muestra fortificada de concentración conocida, a partir de los estándares comerciales, la cual se analizó de la misma forma que las muestras y las soluciones estándar. La exactitud de estos valores se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9 Exactitud para Gramina e Indol.

| | Conc. Real [$\mu\text{g}\text{L}^{-1}$] | Conc. Medida [$\mu\text{g}\text{L}^{-1}$] | % Recuperación | Promedio % Recuperación |
|----------------|--|--|----------------|----------------------------|
| Gramina | 0,025 | 0,026 | 104 | 105 \pm 9 |
| | 0,050 | 0,057 | 114 | |
| | 0,090 | 0,087 | 96,7 | |
| Indol | 0,010 | 0,009 | 98,7 | 102 \pm 3 |
| | 0,025 | 0,026 | 104 | |
| | 0,050 | 0,052 | 104 | |

En la tabla se observa que los valores obtenidos fluctúan dentro del rango aceptado para exactitud, 80% a 120%. Por lo que, se deduce que el método analítico muestra exactitud adecuada.

3.2.2.5 Límite de Detección y Cuantificación

La aplicación de un nuevo método analítico a una muestra conlleva el cálculo de ambos límites: detección y cuantificación, para la entrega de un valor confiable de concentración mínima de cierto analito, que puede ser detectado y cuantificado por el método utilizado. Para la determinación de ambos límites, se utilizó las curvas del anexo 6. Para el cálculo de ambos límites se utilizó las ecuaciones básicas de la química analítica obteniendo los valores indicados en la siguiente tabla.

Tabla 10 Límites de Detección y Cuantificación.

| Analito | LD [ng nL⁻¹] | LC [ng nL⁻¹] |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Gramina | 6,1 | 18,1 |
| Indol | 0,9 | 1,10 |

Por esto, los valores obtenidos en las figuras de mérito sugieren que el método sería adecuado para realizar la cuantificación de los compuestos propuestos en este estudio.

3.3 Determinación del tiempo de equilibrio

Previo al estudio de adsorción – desorción en los suelos, fue necesario establecer previamente el tiempo de contacto, es decir, tiempo que es requerido para que la interacción adsorbato – adsorbente llegue a una estabilidad con la cual se saturan los sitios disponibles del adsorbente con moléculas del adsorbato, llamado tiempo de equilibrio.

La variación de concentración adsorbida en función del tiempo para el suelo Rancagua y Alhué se muestran en las figuras 18 y 19, respectivamente.

Para Gramina e Indol el tiempo de contacto necesario para lograr el equilibrio fue de 24h (ver anexo 7).

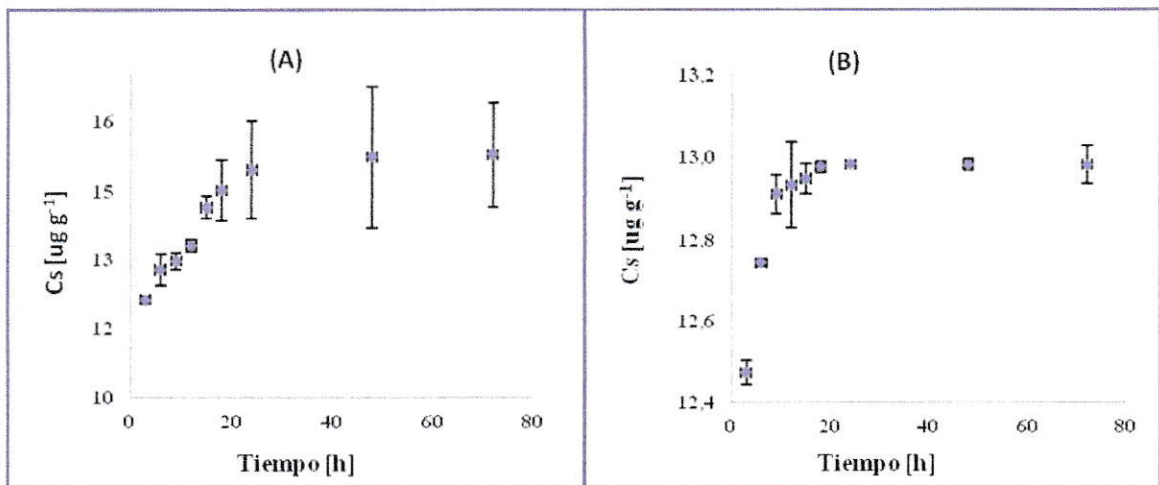


Figura 18 Curvas de Concentración adsorbida para Gramina (A) e Indol (B) v/s Tiempo de agitación. Suelo Rancagua.

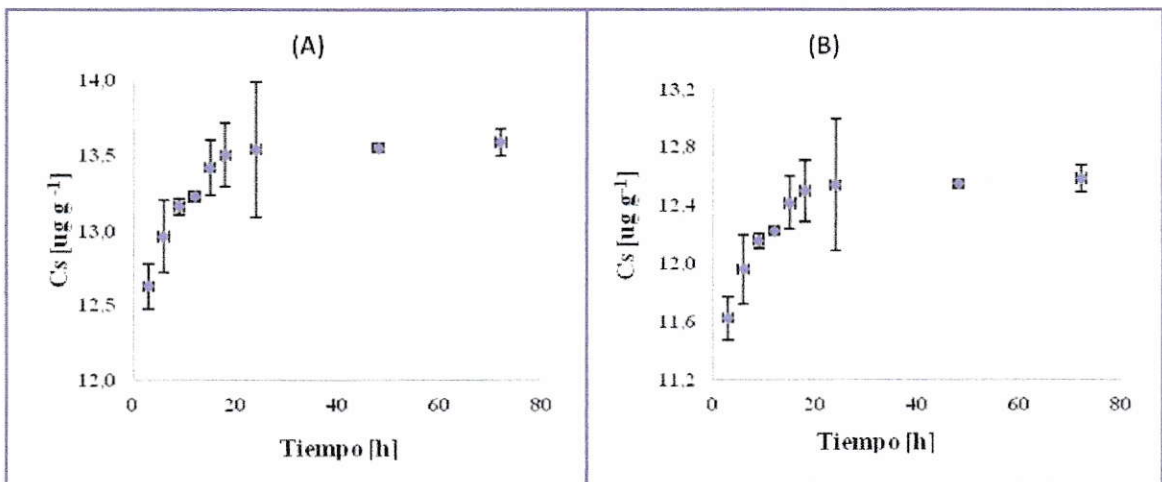


Figura 19 Curvas de Concentración adsorbida para Gramina (A) e Indol (B) v/s Tiempo de agitación. Suelo Alhué.

3.3.1 Aplicación del Modelo Cinético de Elovich

Para determinar si el modelo cinético de Elovich resulta adecuado para este estudio se ajustan los datos experimentales a una ecuación logarítmica (ec.9, pág.18).

Éste cálculo permite comparar los datos experimentales y los teóricos, obtenidos mediante este modelo (Anexo 8). Las curvas obtenidas para Gramina e Indol, en ambos suelos, se muestran a continuación:

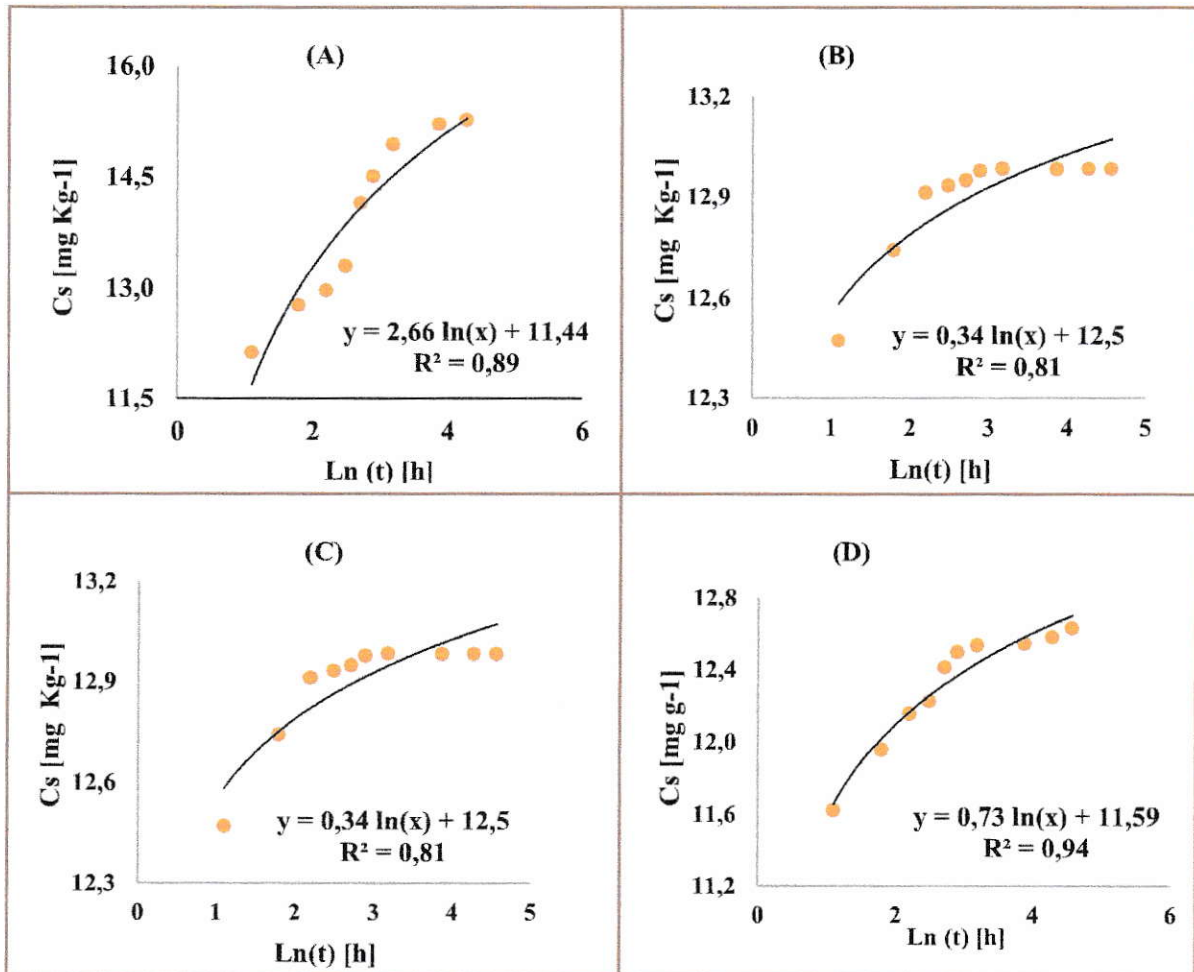


Figura 20 Aplicación del modelo de Elovich a los datos experimentales de tiempo de equilibrio para suelo Rancagua: (A) Gramina y (B) Indol; Suelo Alhué: (C) Gramina, (D) Indol.

Luego de aplicada la ecuación de Elovich, fue necesario comprobar el ajuste del modelo mediante el análisis de los parámetros antes mencionados, R^2 y Average Relative Error (ARE). En la tabla 11 se muestran los valores obtenidos luego de la aplicación del modelo de Elovich, para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué.

Tabla 11 Valores obtenidos luego de aplicar el modelo cinético de Elovich. Parámetros obtenidos: R^2 y ARE (Average relative Error). Suelo Rancagua y Alhué.

| Suelo Rancagua | Gramina | | Indol | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| t agitación [h] | Cs Exp. [mg Kg ⁻¹] | Cs Calc. [mg Kg ⁻¹] | Cs Exp. [mg Kg ⁻¹] | Cs Calc. [mg Kg ⁻¹] |
| 3 | 12,12 | 14,36 | 12,47 | 12,93 |
| 6 | 12,77 | 16,20 | 12,74 | 13,17 |
| 9 | 12,97 | 17,28 | 12,91 | 13,30 |
| 12 | 13,30 | 18,04 | 12,93 | 13,40 |
| 15 | 14,14 | 18,63 | 12,95 | 13,48 |
| 18 | 14,50 | 19,12 | 12,98 | 13,54 |
| 24 | 14,94 | 19,88 | 12,98 | 13,64 |
| 48 | 15,22 | 21,72 | 12,98 | 13,88 |
| 72 | 15,27 | 22,80 | 12,98 | 14,02 |
| 96 | - | - | 12,98 | 14,12 |
| R² | 0,89 | | 0,81 | |
| ARE | 33% | | 5 % | |

| Suelo Alhué | Gramina | | Indol | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| t agitación [h] | Cs Exp. [mg Kg ⁻¹] | Cs Calc. [mg Kg ⁻¹] | Cs Exp. [mg Kg ⁻¹] | Cs Calc. [mg Kg ⁻¹] |
| 3 | 12,62 | 13,34 | 11,62 | 12,39 |
| 6 | 12,96 | 13,90 | 11,96 | 12,90 |
| 9 | 13,16 | 14,20 | 12,16 | 13,20 |
| 12 | 13,22 | 14,41 | 12,22 | 13,41 |
| 15 | 13,41 | 14,57 | 12,41 | 13,57 |
| 18 | 13,50 | 14,71 | 12,50 | 13,71 |
| 24 | 13,53 | 14,92 | 12,53 | 13,92 |
| 48 | 13,54 | 15,43 | 12,54 | 14,43 |
| 72 | 13,58 | 15,72 | 12,58 | 14,72 |
| 96 | 13,63 | 15,94 | 12,63 | 14,94 |
| R² | 0,94 | | 0,94 | |
| ARE | 9,8% | | 9,5% | |

De acuerdo a la figura 20 y tabla 11, se encontró que los datos teóricos se ajustaron adecuadamente a los datos experimentales, pues se obtuvo un $R^2 > 0,8$ en todos los casos estudiados. Los valores obtenidos para ARE muestran que sólo para Indol-Rancagua (ARE = 5%) el modelo se ajustó correctamente a los datos experimentales, pues cumple con ambos parámetros, mientras que para Gramina e Indol en suelo Alhué, se obtuvo que el modelo se ajusta adecuadamente a los datos experimentales, pues se obtuvo un $R^2 > 0,8$ y un ARE < 10 % en ambos casos estudiados.

Una situación especial presentó Gramina en suelo Rancagua donde se obtuvo un ARE igual a 33%, lo cual sugiere que otro modelo cinético debería ser aplicado.

3.4 Isotermas de adsorción.

Como se mencionó anteriormente, el proceso de adsorción del adsorbato por el adsorbente puede ser descrito como favorable, lineal o desfavorable (figura 3, pág. 14). Esta información se puede obtener al observar las curvas que relacionan la masa adsorbida y la concentración detectada en la solución. Las isotermas de adsorción para Gramina e Indol en los suelos Rancagua y Alhué se muestran en la figura 21.

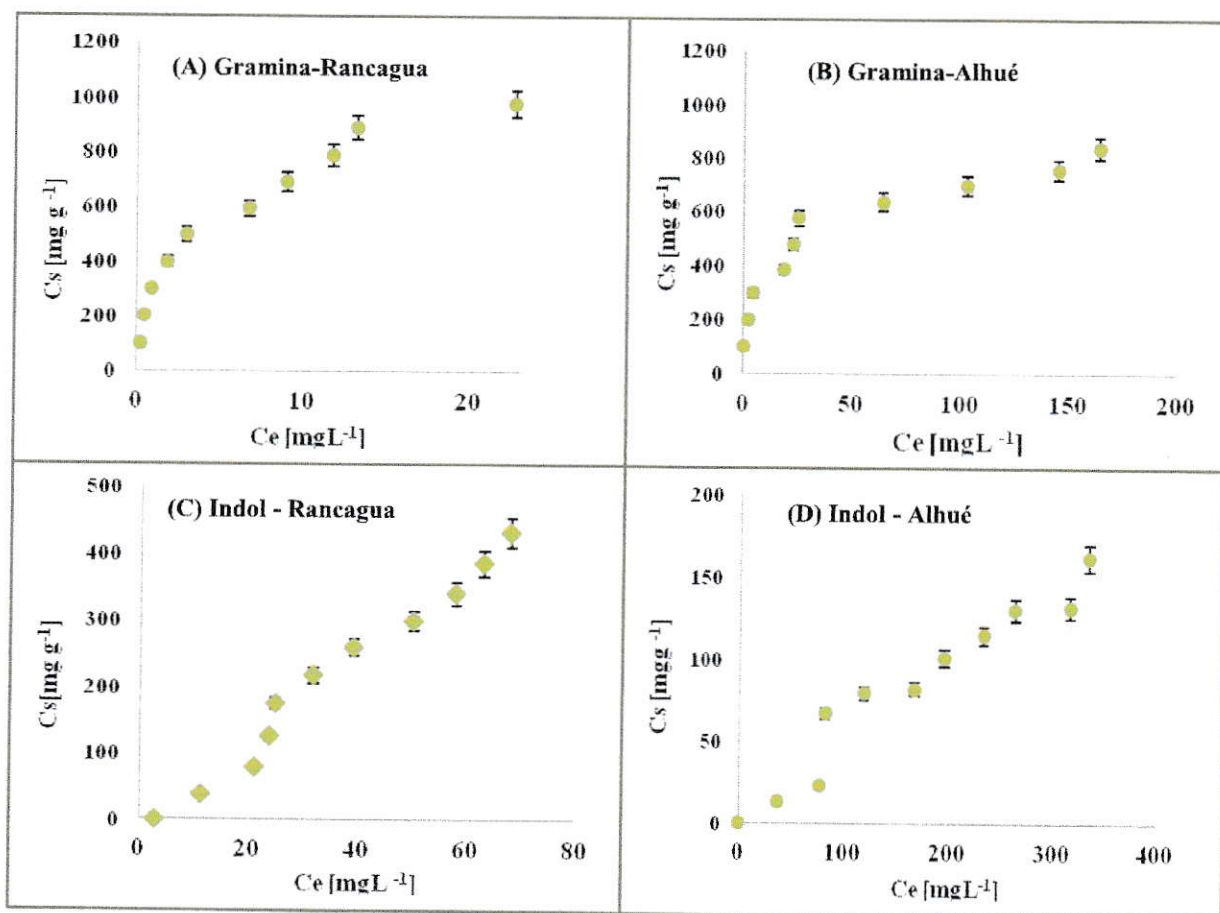


Figura 21 Isotermas de adsorción de Gramina e Indol en suelo Rancagua (A y C) y Alhué (B y D).

La adsorción de Gramina fue relativamente favorable, en ambos suelos, con una curva tipo L, mostrando una mayor afinidad de adsorción entre adsorbato y adsorbente. Mientras que, para Indol la adsorción fue relativamente lineal, con una curva tipo S, indicando que las interacciones adsorbato-adsorbato serían más fuertes que las interacciones adsorbato-adsorbente.

3.4.1 Parámetros Kd y Koc.

Los coeficientes de distribución (Kd) y adsorción (Koc) entregan información respecto de la interacción entre adsorbato y adsorbente. Los valores obtenidos para Gramina e Indol, calculados en la proporción 50/50 (Figura 12, pág. 35), en ambos suelos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12 Valores de Kd y Koc para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué. Los valores son un promedio de dos mediciones.

| Suelo | | Kd [50/50] | Koc [50/50] |
|----------|---------|--------------|--------------|
| Rancagua | Gramina | 169 ± 36 | 6597 ± 1396 |
| | Indol | 6,88 ± 0,12 | 270 ± 5 |
| Alhué | Gramina | 20,98 ± 0,05 | 1676 ± 7 |
| | Indol | 0,58 ± 0,04 | 47,04 ± 0,04 |

El parámetro Kd relaciona la concentración adsorbida versus la encontrada en solución ($Kd = \frac{C_s}{C_e}$). En general, en ambos suelos, Gramina presentó mayor concentración adsorbida en sólido que en solución, mientras que para Indol se observó esta misma tendencia en suelo Rancagua, no así en suelo Alhué, donde indol se encuentra más en solución que adsorbido. Sin embargo, sus valores fueron menores, indicando que Indol se encuentra menos adsorbido en ambos suelos.

Según la clasificación para Koc que se muestra en la Tabla 1 (pág.16), los valores de Koc considerados **altos**, fluctúan entre 1000 – 100.000, en consecuencia la adsorción de Gramina clasificaría como moderada a fuerte. Los valores de Koc considerados **bajos** toman valores menores a 1000. Por lo tanto, en suelo Rancagua la adsorción de Indol se consideraría moderada (Koc = 270) y en suelo Alhué la adsorción sería débil (Koc = 47,04). Así entonces, se podría sugerir que, Indol podría ser fijado solo débilmente por la materia orgánica del suelo (INECC, 2011), por lo que, podría distribuirse mejor que Gramina, en otros compartimentos del ecosistema (cuerpos de agua, aire, etc.). De acuerdo a estos resultados se podría inferir que, Gramina podría estar menos biodisponible, mientras que, para Indol esta probabilidad sería mayor.

3.4.2 Modelo de Langmuir

En la Figura 22, se muestra las isothermas de adsorción según el modelo de Langmuir, para Gramina e Indol, en ambos suelos. Estas isothermas se obtuvieron a partir de la ec.10 (pág. 19).

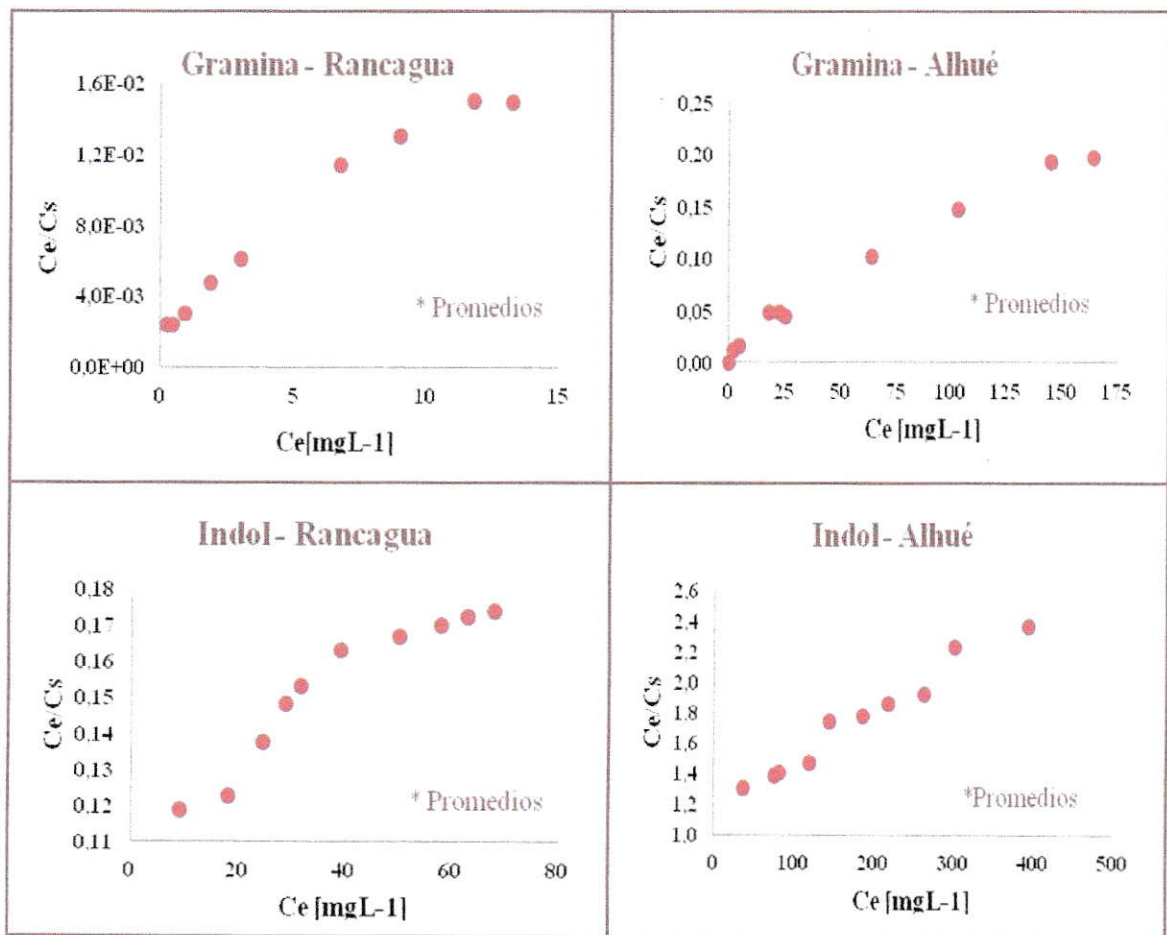


Figura 22 Isotherma de Adsorción utilizando el modelo de Langmuir de Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué.

Para Gramina, en ambos suelos, la isoterma obtenida es de tipo L (Giles y col., 1979).

La Isotherma de Tipo L describe el proceso de adsorción como una monocapa, la cual

llega a su fin cuando el adsorbato cubre por completo los sitios de adsorción del adsorbente.

En el caso de Indol, la isoterma obtenida es de tipo S, lo cual indica que, la formación de capas no es homogénea y existen espacios disponibles del adsorbente que no han sido ocupados por el adsorbato. En otras palabras una vez que se ha adsorbido una molécula ésta actúa también como sitio libre para que otra molécula se adsorba en ese espacio.

En este caso, la aplicación de este modelo indica solamente un comportamiento de los analitos.

3.4.3 Modelo de Freundlich

Este modelo se puede aplicar también en los estudios de adsorción linealizando la ecuación de Freundlich (ec. 11, pág. 20). En las siguiente figura se muestran la isoterma de adsorción utilizando éste modelo.

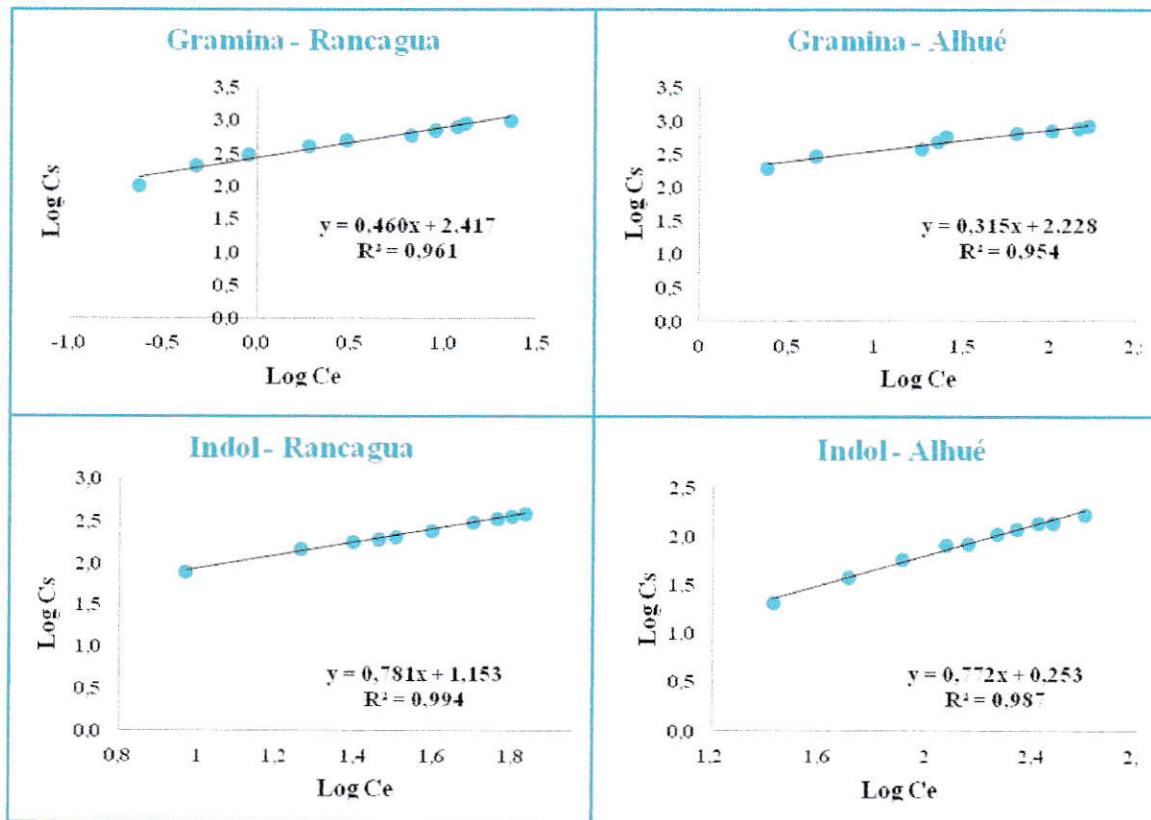


Figura 23 Isotherma de Adsorción utilizando el modelo de Freundlich. Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué.

En la Tabla 13, se muestran los parámetros de Freundlich obtenidos para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué. Al aplicar este modelo matemático es posible definir dos parámetro importantes: K_f y n_f , que en la ecuación matemática corresponden al intercepto y pendiente, respectivamente (Tabla 13). K_f es la constante de capacidad de adsorción, afinidad entre analito – adsorbente, mientras mayor sea K_f mayor será esta

afinidad, esto nos permitirá comparar afinidades entre los suelos (adsorbatos) y los analitos (Gramina e Indol). La constante de intensidad de adsorción, n_f , se relaciona con la forma de la isoterma. Esto es, $1/n_f < 1 \Rightarrow$ isoterma tipo I (Langmuir); $1/n_f = 1 \Rightarrow$ isoterma lineal; $1/n_f > 1 \Rightarrow$ isoterma tipo II (Arienzo y col., 1994) y, R^2 mayor a 0,95 considerado que se usa la forma lineal del modelo.

Tabla 13 Parámetros de Freundlich, para Gramina e Indol en suelo Rancagua y Alhué.

| | | Kf | 1/ n_f | n_f | R² |
|-----------------|---------|-----------|-------------------------|----------------------|----------------------|
| Rancagua | Gramina | 263 | 0,46 | 2,17 | 0,96 |
| | Indol | 14 | 0,78 | 1,28 | 0,99 |
| Alhué | Gramina | 170 | 0,32 | 3,12 | 0,95 |
| | Indol | 2 | 0,77 | 1,30 | 0,99 |

Los valores de R^2 son todos mayores que 0,95 (0,95 – 0,99). Si se comparan los valores de Kf para ambos analitos, éstos fueron mayores para Gramina en ambos suelos ($Kf_{Gr-Rancagua; Gr-Alhué} > Kf_{In-Rancagua; In-Alhué}$). Al comparar los suelos Rancagua y Alhué, los mayores valores para Kf se obtuvieron en el suelo Rancagua ($Kf_{(Rancagua)} > Kf_{(Alhué)}$). Por esto, la mayor capacidad de adsorción ocurre entre Gramina e Indol con suelo Rancagua. En cambio para el suelo Alhué, los valores fueron más bajos.

Los valores de n_f son mayores a 1, y los valores de $1/n_f$ son menores a 1, en los dos suelos para ambos analitos. Lo cual indica una adsorción normal, con una mayor heterogeneidad ($1/n_f < 1$) y favorable ($n_f > 1$) (Dada y col., 2012). Cabe destacar que, los valores mencionados anteriormente siguen siendo mayores para Gramina en ambos suelos. Estructuralmente, Gramina posee una cadena lateral que podría estar

favoreciendo la afinidad analito-adsorbente, con la materia orgánica y arcilla presentes en los suelos.

3.5 Estudio de desorción

Para confirmar el comportamiento de ambos compuestos en los dos suelos estudiados se realizó un estudio de desorción, utilizando como extractante CaCl_2 . Este extractante permite mantener la fuerza iónica de la solución, estabilizar la carga de las partículas sólidas, minerales o no minerales, y conseguir el mismo nivel de agregados en el medio poroso (Rodríguez, R., 2009). En la Tabla 14, se muestran los valores obtenidos para el estudio de desorción en ambos suelos y analitos. El valor informado corresponde a una proporción de volumen de un 50/50 (esquema, pág. 35).

Tabla 14 Estudio de desorción en suelo Rancagua y Alhué, para Gramina e Indol.

| Suelos | | Concentración agregada [mg L^{-1}] | Concentración encontrada [mg L^{-1}] | % Desorción |
|----------|---------|---|---|----------------|
| Rancagua | Gramina | 501,3 | Nd | Nd |
| | Indol | 250,5 | 0,306 | 0,122 ± 0,003 |
| Alhué | Gramina | 500,9 | 3,46 | 0,690 ± 0,010 |
| | Indol | 250,5 | 26,6 | 10,640 ± 0,060 |

Nd: No detectado

Gramina, mostró un porcentaje de desorción en suelo Alhué de 0,69%, lo que concuerda con los valores de K_d (20,98) y K_{oc} (1676), que son menores para este suelo, en comparación al suelo Rancagua, con un porcentaje no detectado de desorción, en el cual el valor de K_d (169) y K_{oc} (6597) indicaría que Gramina fue fuertemente retenida por este suelo, por lo cual no desorbe. Para Indol, en suelo Rancagua, el porcentaje de desorción fue de 0,122%. Su valor K_d (6,88) y K_{oc} (270), sugiere que la retención de Indol por el suelo Rancagua tendría un bajo porcentaje de desorción. Mientras que, en suelo Alhué, presenta un porcentaje de desorción de 10,64%. Esto concuerda con el

valor de k_d (0,58) y K_{oc} (47,04), que indicaría que Indol no es totalmente retenido por este suelo, pues se encontraría parcialmente en solución y no adsorbido.

3.6 Persistencia

Uno de los aspectos importantes de la dinámica de los compuestos en suelos está relacionado con la persistencia, ya que este parámetro podría indicar el periodo en que el compuesto podría estar biodisponible, en concentración adecuada.

En la Figura 24 se muestra el estudio de persistencia para Indol en suelo Rancagua y Alhué.

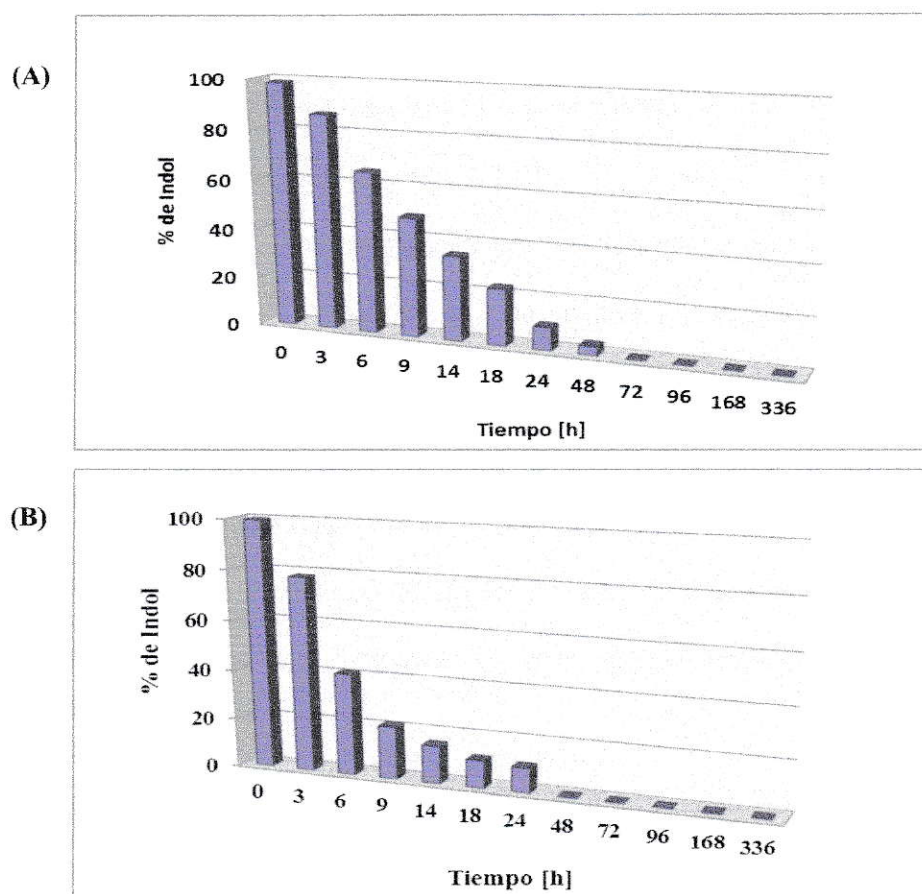


Figura 24 Variación en el tiempo de la concentración de Indol (expresado en %) en Suelo Rancagua (A) y Suelo Alhué (B).

Tabla 15 Valores del Índice de Gus y $t_{1/2}$ para Indol en suelo Rancagua y Alhué.

| | Índice de Gus | $t_{1/2}$ (h) |
|-----------------|----------------------|---------------------------------|
| Rancagua | 1,53 | 9,42 |
| Alhué | 1,93 | 6,74 |

Los valores obtenidos para el índice de Gus, en ambos suelos, clasifica a este compuesto como No Lixiviable.

3.7 Actividad fitotóxica de Gramina e Indol en suelo Alhué: Ensayo de germinación de Avena (*A. sativa*) y Ballica (*L. rigidum*)

Bioensayos de laboratorio relacionados con la actividad fitotóxica de Gramina e Indol (Bravo H.R. y col., 2010), muestran que la toxicidad de Gramina fue alta contra avena (*A. sativa*), un cereal de alta importancia agrícola, y baja contra ballica (*L. rigidum*), una maleza competitiva común en la agricultura en Chile. Sin embargo, el efecto opuesto fue observado con Indol.

Por esto, en este seminario se realizó una evaluación preliminar de la germinación de semillas de estas dos especies cultivadas en el suelo Alhué irrigado con soluciones de Gramina e Indol.

En la Tabla 16 se muestran los porcentajes de inhibición de la germinación en el suelo irrigado con soluciones acuosas de 100 mgL^{-1} . Como se observa ambos compuestos inhibieron la germinación de Avena y Ballica a la concentración utilizada y mantuvieron la diferencia de actividad toxica observada previamente, aunque el estudio realizado muestra que Gramina estaría menos biodisponible que indol en este suelo. Esto sugiere que los sustratos en este experimento estarían actuando por contacto en las semillas y el suelo sería solo el soporte del proceso. En consecuencia, otro diseño experimental sería necesario para establecer con más claridad el rol del suelo en la Fitotoxicidad de estos compuestos. Además, este resultado sugiere que el suelo con textura franco arenoso no modificaría significativamente la actividad fitotóxica de Gramina e Indol.

Tabla 16 porcentaje de inhibición (% I) de la germinación de semillas de avena y Ballica cultivadas en suelo Alhué regado con solución acuosa de Gramina e Indol.

| | Gramina 100 mgL ⁻¹ | Indol 100 mgL ⁻¹ |
|----------------|----------------------------------|--------------------------------|
| | % I | % I |
| Avena | 35 | 12 |
| Ballica | 23 | 41 |

IV. CONCLUSIONES

1. La cromatografía líquida (HPLC), permitió identificar y estudiar el comportamiento de Gramina e Indol en los suelos caracterizados: Alhué y Rancagua.
2. El modelo cinético de Elovich, permitió un ajuste entre los datos experimentales y teóricos, determinado un tiempo de contacto de 24 h, con el cual se llevó a cabo el estudio de adsorción.
3. La aplicación del modelo matemático de Langmuir mostró una isoterma tipo L, para Gramina, mientras que para Indol la isoterma fue tipo S, siendo una adsorción relativamente favorable en ambos suelos.
4. El estudio de adsorción mostró que Gramina presentó mayor afinidad por ambos suelos en comparación a Indol. Esto se corroboró con los valores de K_d y K_{oc} obtenidos para este analito.
5. Los parámetros de Freundlich n_f y $\log K_f$ fueron superiores para Gramina, en ambos suelos, en comparación con Indol. Esto indicaría que Gramina presenta mayor afinidad por los suelos estudiados.
6. Gramina presentó menor porcentaje de desorción respecto de Indol. Lo que concuerda con los resultados de adsorción.
7. La persistencia para Indol en suelo Rancagua fue de 9,42 h y en suelo Alhué 6,72 h.
8. El índice de Gus clasificó a Indol en los dos suelos estudiados, como No Lixivable.

9. La dinámica mostrada por ambos compuestos sugiere que su diferencia estructural podría incidir en este comportamiento, es decir, a pesar de que contienen la misma base indólica, Gramina presenta una amina terciaria como sustituyente, en el carbono 3 del anillo heterociclo, lo que le confiere una mayor reactividad en comparación a indol, pudiendo interactuar con las partículas presentes en el suelo.
 10. El ensayo de germinación de semillas en el suelo Alhué mostró que los sustratos mantienen sus propiedades fitotóxicas como se ha descrito en ausencia de suelo. Esto sugiere que en este experimento el suelo Alhué solo sería el soporte para el proceso.
 11. Finalmente, los resultados de este estudio sugieren que el alcaloide Gramina al estar menos biodisponible en los suelos, podría disminuir su actividad fitotóxica. Indol estaría más biodisponible, por lo cual, su actividad fitotóxica podría estar favorecida en condiciones de campo.
- En consecuencia, para entender mejor la actividad alelopática relativa, que surge de la presencia de los alcaloides indólicos presentes en cultivos de cereales y sus potenciales residuos indólicos sería necesario conocer los factores fisicoquímicos de los suelos que afectan la dinámica de los aleloquímicos

V. REFERENCIAS

- **Arienzo, M. Crisanto, T. Sanchez-Martin, M. Sanchez-Camazano, M.** 1994. Effect of soil characteristics on adsorption and mobility of (¹⁴C) Diazinón. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, CSIC, Cordel de Merilas, Salamanca, España.
- **Baird Colin.** 2011, Compuestos Químicos Tóxicos. En Química Ambiental, Capítulo 6, págs. 301-386, editorial Reverté, versión española Prof. Dr. Xavier Doménech Antúnez.
- **Barber, R.** 1999. Manejo integrado de cultivos y tierras en zonas de ladera de América Central: conceptos, estrategias y opciones técnicas. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la agricultura. Vol. 2, pág.33.
- **Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S.** 2001. Crop allelopathy and its role in ecology agriculture. *Journal crop production* 4: 121 – 161.
- **Besoain Eduardo.** 1985. Mineralogía de arcillas de suelos. Editorial IICA. Págs. 676-677.
- **Beltrán, J., Hernández, F., y Morell, I.** 1995. Estudios de adsorción de plaguicidas en suelos mediante experiencias en batch. Avances en la investigación en Zona No Saturada. pp: 257-268. Ed. J. M. Gonzalo, I.
- **Blum, U., Weed, S. B. and Dalton, B. R.** 1987. Influence of various soil factors on the effects of ferulic acid on leaf expansion of cucumber seedling. *Plant Soil* 98: 111 – 130.
- **Bravo H. R., Iglesias M. J., Copaja Sylvia V.** 2010. Phytotoxicity of Indole alkaloids from Cereals. *Rev. Latinoamer. Quím.* 38: 123 – 129.
- **Bravo H. R., Copaja Sylvia V., Lamborot. M.** 2013. Phytotoxicity of Phenolic Acids from Cereals. *Agricultural and Biological Sciences: "Herbicides - Advances in Research"*. Edited by Andrew J. Price and Jessica A. Kelton INTECH Cap. 3
- **CIREN, 2000.** Comisión Nacional de Riego (CNR). Estudio de Suelos del Proyecto Maipo. Tomo II. Año 1981. pp. 189-393.

- **CIREN, 2002.** Estudio Agrológico VI Región. Chile. Pág. 381-388
- **Copaja Sylvia V., Villarroel E., Bravo, H. R., Pizarro, L., Argandoña V. H.** 2006. Hydroxamic Acids in *Secale cereale L.* and the relationship with their Antifeedant and Allelopathic Properties. *Z. Naturforsch.* 61, 670-676.
- **Copaja, Sylvia V., Vergara, R., Bravo, H. R.** 2014. Bioavailability of Chlorpyrifos in Wheat Plants (*Triticum aestivum*). *Agricultural Sciences.* 5: 8.
- **Corcuera L.,** 1984. Effects of indole alkaloids from gramineae on aphids. *Phytochemistry* 23, 539-541.
- **Costa, C., Garrido, T., Fraile, J., Orejudo, E., Niñerola, J. M., Ginebreda, A., Olivella, L. y Figueras, M.** Análisis de la presencia de plaguicidas en diversos acuíferos de Cataluña. 1998. Jornadas sobre la contaminación de las aguas subterráneas: un problema pendiente. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 11, 613-619.
- **Cox, L., Velvarde, P., Feenandes, M. C., Hermosin, M. C. and 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.* J. Álvarez-Benedí y P. Marinero. Pag. 339-342.
- **Crovetto, C.** 1984. Alelopatía: Herbicidas naturales en el manejo de la cereo labranza. *Chile Agrícola* 9(94): 210 – 211.
- **Dada, A. O., Olalekan, A.P., Olatunya, A.M., Dada, O.** 2012. Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn⁺² Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. *Journal of Applied Chemistry*, 3: 38-45.
- **Dias, L. S.** 1991. Allelopathic activity of decomposing straw of wheat and oat and associated soil on some crop species. *Soil and Tillage research* 21: 113 – 120.
- **Díaz, V, M. Kogan y R. Bengoa.** 1985. Alelopatía: Fenómeno de gran importancia en la ecología de las plantas. I Parte: Conceptos generales. *Revista Aconex* 9: 16 – 19.

- **Díaz, V, M. Kogan y R. Bengoa.** 1986. Alelopatía: Fenómeno de gran importancia en la ecología de las plantas. II Parte: Efectos alelopáticos sobre especies frutales. Revista Aconex 12: 25 – 29.
- **Figueroa, T.** 2011. Fitotoxicidad y lipofilia de metabolitos secundarios de cereales. Unidad de Investigación, Facultad de Ciencias Universidad de Chile.
- **Fiol N.** 2001. Adsorción de Cu (II) y Pb (II) de disoluciones acuosas y residuos de pinyol de oliva. Tesina de Licenciatura, Departamento de Ingeniería Química Agraria y Tecnología Agroalimentaria. Universidad de Gerona, Gerona, España, 13 p.
- **Fuenzalida, T.** 2011. Propuesta de monitoreo en una potencial contaminación de pesticidas en fuentes de agua para el consumo humano del sector Alto Andino del Valle del Elqui, IV Región, Chile. Tesis para optar al título de Químico Ambiental, Universidad de Chile.
- **Giles, C., Mac Ewan, T., Nakhwa, S. and Smith, D.,** 1960. *J. Chem. Soc.* 111, 3973.
- **González C, Jean D.** 2013. Estudios de equilibrios de adsorción en la remoción de trazas metálicas en agua empleando lodos rojos y su determinación por espectroscopia de absorción atómica. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad Central de Venezuela.
- **INECC, 2011.** Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, Los plaguicidas y su transporte en el ambiente. Características fisicoquímicas de los plaguicidas y su transporte en el ambiente. México.pp12.
- **INFORME FAO, 1997.** Recomendaciones para el manejo de malezas. Capitulo II. pág 7-13.
- **Isen Roselló, R. y Martínez Planas, M.** 2011, Estudio experimental de la movilidad de metales pesados en sedimentos de la cuenca del Jequetepeque, Perú. Tesis de Grado.Universidad politécnica de Cataluña.
- **Kumar, K.V. y Sivanesan, S.** 2007. Isotherms for Malachite Green onto rubber wood (*Hevea brasiliensis*) sawdust: comparison of linear and non-linear methods. *Dyes and Pigments*, 72: 124-129.

- **Molisch, H.**, 1937. Der Einfluss einer pflanze auf die andere – Allelopathie. Fischer, Jena.
- **OCDE 106: GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS**, 2000. Adsorption- Desorption using a Batch equilibrium method.
- **Olofsson, M.**, 2001. Rice – A Step toward Use of Allelopathy. *Agronomy Journal*, 93: 3 – 8.
- **Overland, L.** 1996. The role of allelopathic substances in the “Smother Crop” barley. *American Journal of Botany* 53: 423 – 432.
- **Pérez Formento, P.**, 2014. Puesta en riego por aspersión con cobertura total enterrada en una parcela de 19 hectáreas en el término municipal de Huerto (Huesca). Tesis para optar al título de Ingeniero Técnico Agrícola. Escuela politécnica superior de Huesca. Universidad de Zaragoza.
- **Porta Casanellas, J., López Acevedo, M., Roquero de Laburu, C.** 2003. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. Tercera Edición. pp 246-247.
- **Rioja Molina, A.** (2002). Apuntes de Fitotecnia General. E.U.I.T.A., Ciudad Real.
- **Rodríguez, R., Linares, R., Guadalupe, E.** 2009. Adsorción y desorción de cromo hexavalente en relaves mineros. Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG. Vol. 12, N.º 24, 108-117. UNMSM
- **Roth, C. M., Shroyer, J. P. and Paulsen, G. M.** 2000. Allelopathy of sorghum on wheat under several tillage systems. *Agron. J.* 92: 855 – 860.
- **Sadzawka, M. A., Carrasco, A., Grez, R., Mora, M., Flores, H., Neuman, A.** 2006. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Serie Actas INIA N° 34.
- **Sainsbury, M.**, 2001. Heterocyclic Chemistry. The Royal Society of Chemistry.
- **Sánchez Martín, M. J., Sánchez Camazano, M.**, 1984. Los Plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología. Temas de divulgación. 1º edición 1984. Diputación de Salamanca. Páginas 27-34.

- **Silva, H., Copaja, Sylvia V., Bravo, H. R., Argandoña, V.** 2006. Relationship between grain yield, osmotic adjustments and Benzoxazinone content in *Triticum aestivum* L. Cultivars. *Z. Naturforsch.* 61c, 704 – 708.
- **Silva, P.** 2003. Cero Labranza: Alelopatía del rastrojo de trigo sobre Lupino. Tesis para optar al grado de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile.
- **Vergara Retamales, R.** 2011. Dinámica y Biodisponibilidad de Clorpirifos en dos suelos de la V Región. Seminario de Título Química Ambiental, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Páginas 9-22.

Anexos

Anexo 1

Método de la pipeta. Velocidad de sedimentación.

| Muestra | T [°C] | K* | V [cm min ⁻¹] | Tiempo sedimentación** | Profundidad de muestreo |
|--------------------------|--------|------|---------------------------|------------------------|-------------------------|
| Limo + arcilla (0,05 mm) | 23 | 5700 | 14,25 | 42,2 seg. | 10 cm. |
| Arcilla (0,002 mm) | 23 | 5700 | 0,023 | 2,19 h. | 3 cm. |

✚ * La constante K se obtiene de la figura 1. Se midió la temperatura de la solución de agua, suelo y oxalato, y se extrajo del grafico el valor para k.

✚ **Calculo tiempo de sedimentación

$$\frac{14,25 \text{ cm.}}{60 \text{ seg.}} = \frac{10 \text{ cm.}}{x \text{ seg.}}$$

$$x = 42,2 \text{ seg.}$$

| Muestras seca a 105 °C | Limo + arcilla (0,05 mm) | Arcilla (0,002 mm) |
|------------------------|--------------------------|----------------------|
| Nº vaso | 1 | 2 |
| Masa vaso | 32,26 | 35,21 |
| Masa vaso + muestra | 34,35 | 35,43 |
| Masa muestra | 2,09 | 0,22 |
| x 40 | 83,6 | 8,8 |
| - l | 82,6 | 7,8 |
| Porcentaje | 82,6 | 7,8 |
| Limo: 74,8% | Arena: 17,4% | Arcilla: 7,8% |

Con los porcentajes obtenidos para cada fracción del suelo, se utilizó el triangulo de las texturas para asignar la textura al suelo.

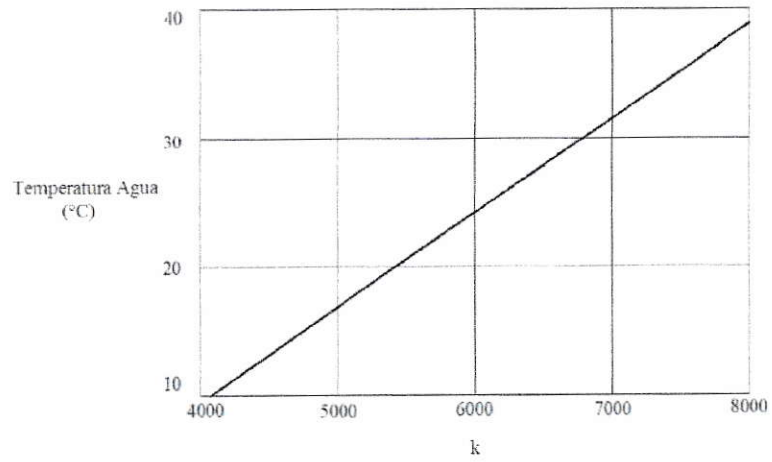


Figura 1 Grafico Temperatura v/s K. dependiendo de la temperatura de la solución suelo es el valor de K obtenido.

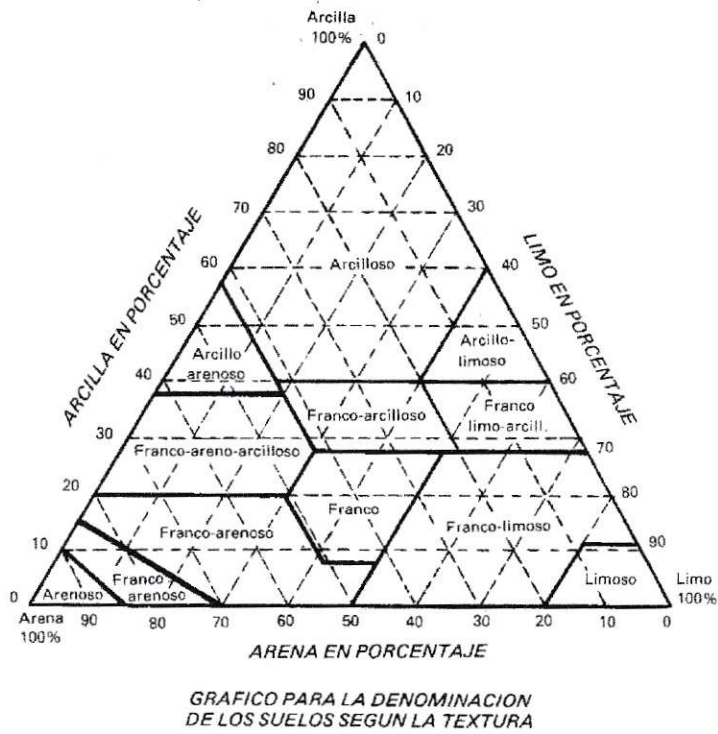


Figura 2 Triángulo Textural según USDA.

Anexo 2

$$\pm \text{HUMEDAD (\%)} = \frac{a-b}{b-c} * 100$$

Donde,

a : masa en g del suelo seco al aire + vaso.

b : masa en g del suelo seco a estufa 105 °C + vaso.

c : masa en g vaso solo.

$$\pm \text{FACTOR HUMEDAD (fh)} = \frac{100+\text{HUMEDAD (\%)}}{100}$$

Humedad para suelo Alhué

| | |
|-------------|-----------|
| a. | 99,4393 g |
| b. | 98,2505 g |
| c. | 49,4265 |
| Humedad (%) | 2,44 |
| fh | 1,02 |

Anexo 3

⚡ Materia Orgánica

| Suelo | Muestra 1 | Muestra 2 | | | |
|-------------------------|-----------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|
| Rancagua | 0,5025 g | 0,5029 g | | | |
| Blanco | | Muestra 1 | | Muestra 2 | |
| mL de FeSO ₄ | mV | mL de FeSO ₄ | mV | mL de FeSO ₄ | mV |
| 0 | 996 | 0 | 978 | 0 | 968 |
| 5,02 | 987 | 0,5 | 976 | 0,51 | 971 |
| 9,02 | 984 | 1,0 | 977 | 1,02 | 974 |
| 9,53 | 979 | 2,01 | 980 | 2,02 | 978 |
| 10,07 | 961 | 2,51 | 983 | 3,02 | 983 |
| 10,62 | 513 | 3,0 | 956 | 4,04 | 985 |
| 11,12 | 469,8 | 3,51 | 953 | 5,02 | 988 |
| 11,62 | 450,7 | 3,7 | 973 | 5,51 | 991 |
| 12,12 | 439,2 | 4,0 | 938 | 6,01 | 994 |
| 12,72 | 431,0 | 5,0 | 916 | 6,21 | 990 |
| 13,75 | 419,6 | 6,03 | 906 | 6,42 | 988 |
| 14,77 | 410,6 | 6,51 | 903 | 6,62 | 997 |
| 16,77 | 401 | 7,13 | 863 | 6,83 | 999 |
| | | 7,31 | 554,7 | 7,05 | 959 |
| | | 8,02 | 457,6 | 7,26 | 954 |
| | | 8,53 | 441,4 | 7,45 | 552,4 |
| | | 9,09 | 429,3 | 7,71 | 489,8 |
| | | 9,59 | 421,6 | 7,93 | 468,8 |
| | | 10,09 | 415,2 | 8,10 | 458,6 |
| | | 11,10 | 406,3 | 8,61 | 441,2 |
| | | 12,10 | 399,7 | 9,02 | 432,1 |
| | | 13,12 | 393,8 | 9,58 | 423,0 |
| | | 15,00 | 387,9 | 10,02 | 417,3 |
| | | | | 11,08 | 407,6 |
| | | | | 12,08 | 400,6 |
| | | | | 13,11 | 394,7 |
| | | | | 14,13 | 390,0 |
| | | | | 15,11 | 386,0 |

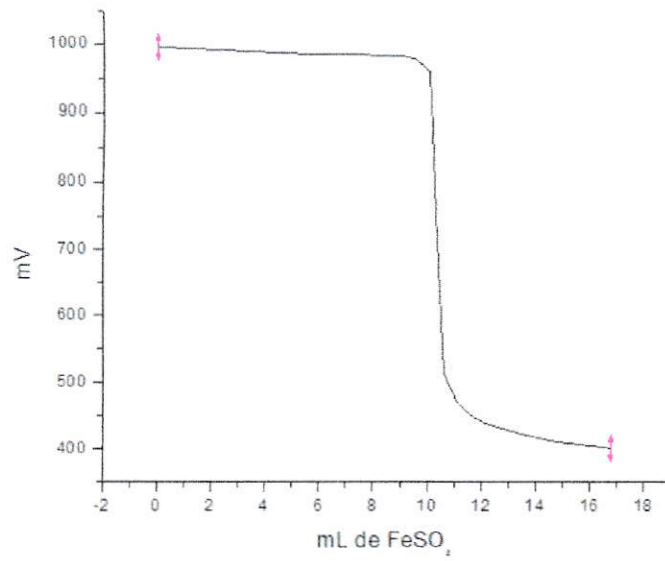


Figura 3 Curva de Titulación mV v/s mL de FeSO₄ agregados, para el blanco.

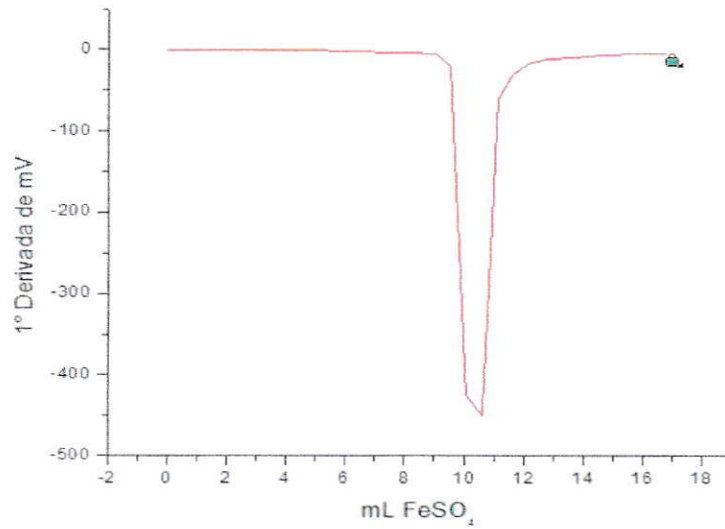


Figura 4 Primera derivada del voltaje v/s mL de FeSO₄ agregados. De éste grafico se obtiene el volumen con el que se logra el equilibrio redox. Mediciones son para el blanco.

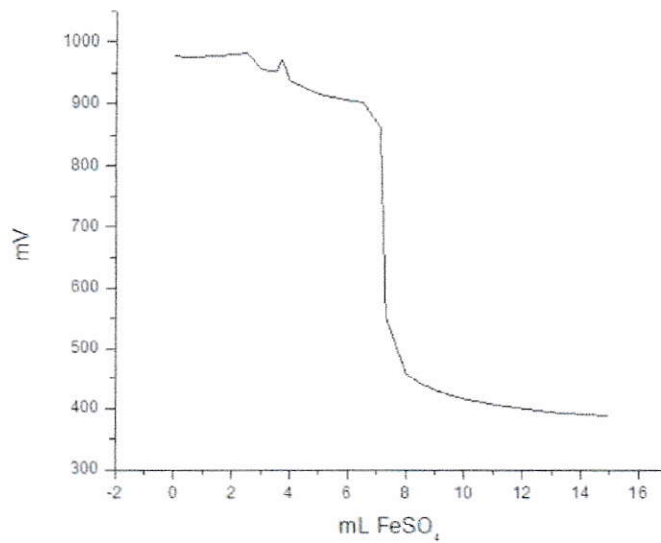


Figura 5 Curva de Titulación mV v/s mL de FeSO₄ agregados, para la muestra 1.

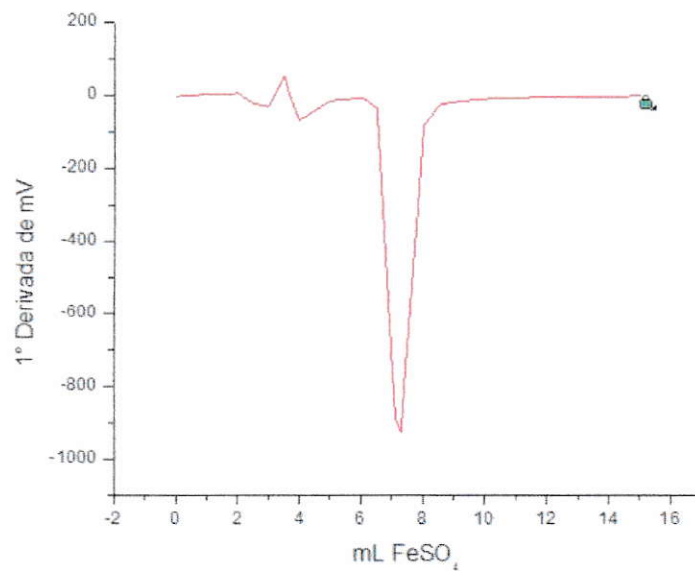


Figura 6 Primera derivada del voltaje v/s mL de FeSO₄ agregados. De éste grafico se obtiene el volumen con el que se logra el equilibrio redox. Muestra 2.

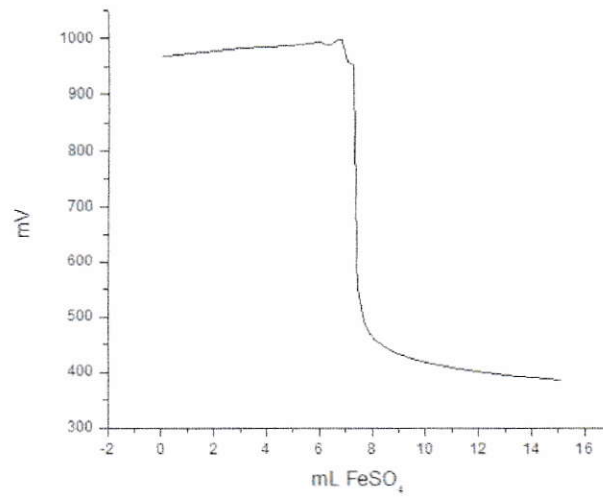


Figura 7 Curva de Titulación mV v/s mL de FeSO₄ agregados, para la muestra 2.

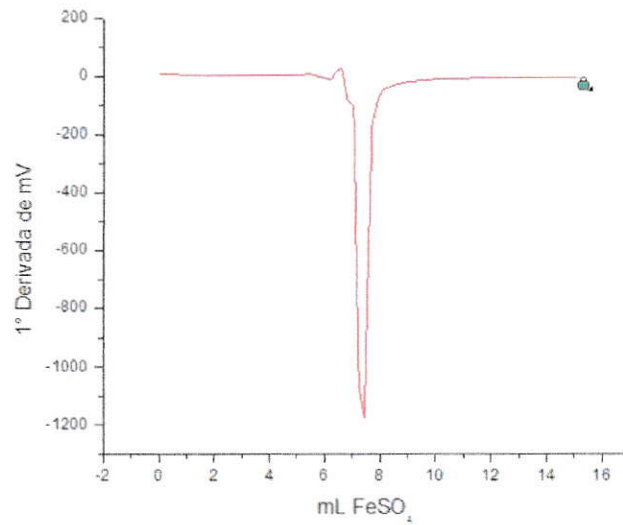


Figura 8 Primera derivada del voltaje v/s mL de FeSO₄ agregados. De éste grafico se obtiene el volumen con el que se logra el equilibrio redox. Muestra 1.

Los valores obtenidos para las muestras y el blanco se observan en la tabla 1

Tabla 1 Valores de volumen agregado para blanco y muestras 1 y 2, en la determinación de la materia orgánica.

| | Blanco | Muestra 1 | Muestra 2 |
|-----------------------------------|--------|-----------|-----------|
| mL agregados de FeSO ₄ | 10,62 | 7,31 | 7,45 |

Para el cálculo de % C y posteriormente el % MO, se utilizó la ecuación (1) y (2).

$$\text{Ecuación 1: } C(\%) = \frac{V_1 - V_2}{S} * M * 0,39 * fh$$

Donde,

V1: mL FeSO₄ gastados en el blanco

V2: mL FeSO₄ gastados en la muestra

M: Molaridad del FeSO₄

S: peso en g de la muestra seca al aire

fh: Factor humedad

$$0,39 = \frac{3 * 100 * 1,3}{1000}$$

$$\text{Ecuación 2: } MO(\%) = 1,724 * \%C$$

✚ Muestra 1

$$C(\%) = \frac{10,62 - 7,31}{0,5025} * 1 * 0,39 * 1,02 = 2,62$$

$$MO(\%) = 1,724 * 2,62 = 4,52$$

✚ Muestra 2

$$C(\%) = \frac{10,62 - 7,45}{0,5029} * 1 * 0,39 * 1,02 = 2,51$$

$$MO(\%) = 1,724 * 2,51 = 4,32$$

Anexo 4

✚ Carbono Orgánico Total

$$\text{Ecuación 3} \quad \%CO = \frac{m_1 - m_2}{\text{masa suelo seco al aire}} * 100$$

Donde,

Masa suelo (m1): suelo seco a 105°C

Masa suelo (m2): suelo calcinado 550°C

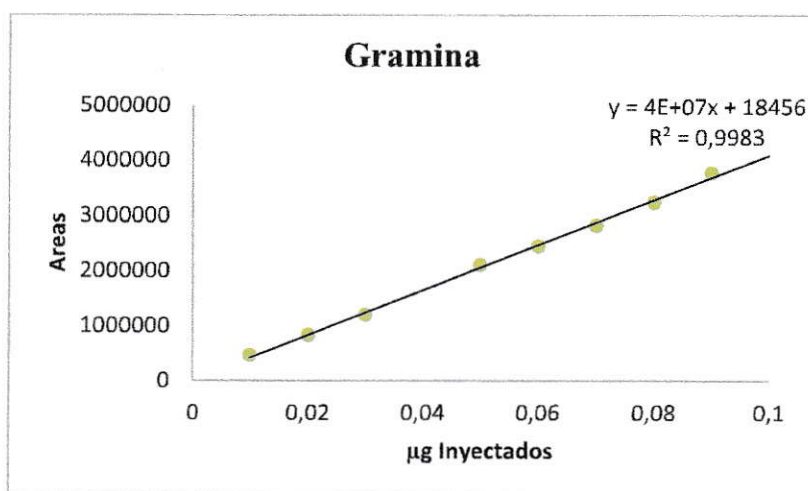
Suelo Alhué

$$\%CO = \frac{17,71 - 17,64}{1,0019} * 100 = 5,99$$

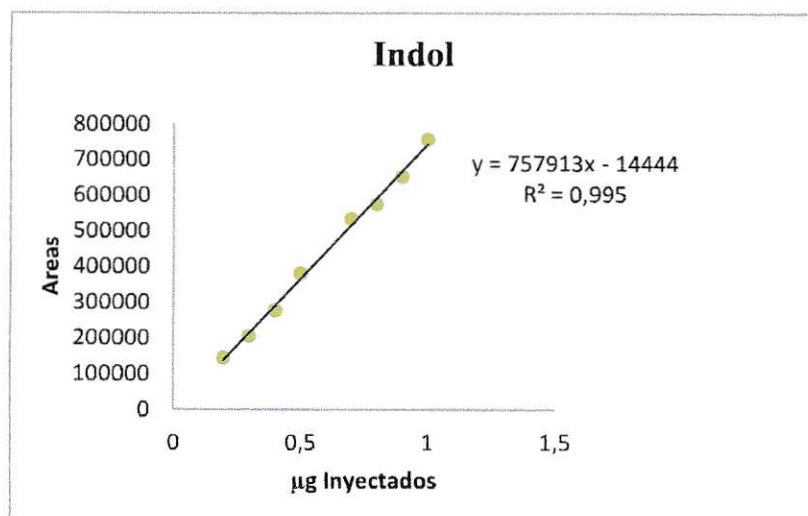
Anexo 5

Curvas de Calibración para Gramina e Indol.

✚ Gramina



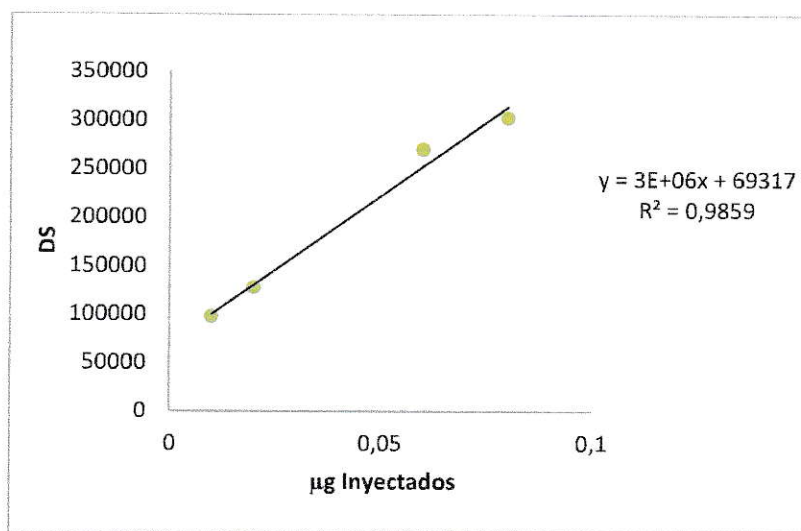
✚ Indol



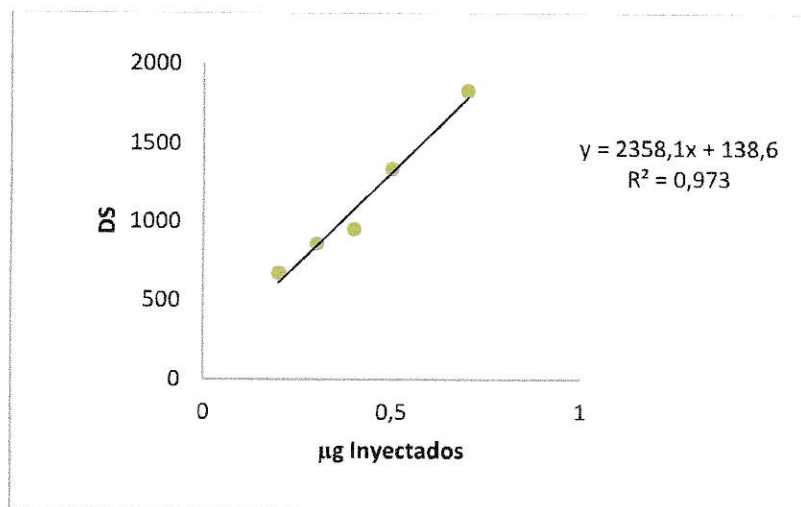
Anexo 6

Curvas de DS para Gramina e Indol.

+ Gramina



+ Indol



Anexo 7

✚ Tiempo de Equilibrio

Suelo Rancagua - Gramina

| Tiempo (h) | Concentración Adsorbida (μgg^{-1}) (1) | Concentración Adsorbida (μgg^{-1}) (2) | Promedio | Desvest |
|------------|---|---|----------|---------|
| 3 | 12,07 | 12,18 | 12,12 | 0,08 |
| 6 | 13,01 | 12,54 | 12,77 | 0,33 |
| 9 | 12,97 | 13,10 | 12,84 | 0,18 |
| 12 | 13,30 | 13,20 | 13,40 | 0,14 |
| 15 | 13,97 | 14,32 | 14,14 | 0,25 |
| 18 | 14,07 | 14,98 | 14,50 | 0,64 |
| 24 | 14,46 | 15,93 | 14,94 | 1,04 |
| 48 | 14,15 | 16,28 | 15,22 | 1,51 |
| 72 | 14,48 | 16,06 | 15,27 | 1,12 |

Suelo Rancagua – Indol

| Tiempo (h) | Concentración Adsorbida (μgg^{-1}) (1) | Concentración Adsorbida (μgg^{-1}) (2) | Promedio | Desvest |
|------------|---|---|----------|---------|
| 3 | 12,49 | 12,45 | 12,47 | 0,03 |
| 6 | 12,75 | 12,74 | 12,74 | 0,01 |
| 9 | 12,88 | 12,94 | 12,91 | 0,04 |
| 12 | 13,01 | 12,86 | 12,93 | 0,10 |
| 15 | 12,97 | 12,92 | 12,95 | 0,04 |
| 18 | 12,99 | 12,97 | 12,98 | 0,01 |
| 24 | 12,98 | 12,98 | 12,98 | 0,04 |
| 48 | 12,97 | 12,99 | 12,98 | 0,01 |
| 72 | 12,95 | 13,01 | 12,98 | 0,05 |
| 96 | 12,93 | 13,04 | 12,98 | 0,08 |

Suelo Alhué - Gramina

| Tempo (h) | Concentración adsorbida (μgg^{-1}) (1) | Concentración adsorbida (μgg^{-1}) (2) | Promedio | Desvest |
|-----------|---|---|----------|---------|
| 3 | 12,49 | 12,75 | 12,62 | 0,15 |
| 6 | 12,75 | 13,17 | 12,96 | 0,24 |
| 9 | 13,20 | 13,12 | 13,16 | 0,05 |
| 12 | 13,26 | 12,18 | 13,22 | 0,03 |
| 15 | 13,41 | 13,43 | 13,42 | 0,18 |
| 18 | 13,49 | 13,51 | 13,50 | 0,21 |
| 24 | 13,57 | 13,49 | 13,53 | 0,45 |
| 48 | 13,57 | 13,51 | 13,54 | 0,03 |
| 72 | 13,56 | 13,60 | 13,58 | 0,09 |
| 96 | 13,66 | 13,64 | 13,63 | 0,05 |

Suelo Alhué - Indol

| Tiempo (h) | Concentración adsorbida (μgg^{-1}) (1) | Concentración adsorbida (μgg^{-1}) (2) | Promedio | Desvest |
|------------|---|---|----------|---------|
| 3 | 11,49 | 11,75 | 11,62 | 0,03 |
| 6 | 11,75 | 12,17 | 11,96 | 0,01 |
| 9 | 12,18 | 12,14 | 12,16 | 0,04 |
| 12 | 12,28 | 12,16 | 12,22 | 0,10 |
| 15 | 12,47 | 12,35 | 12,41 | 0,04 |
| 18 | 12,59 | 12,41 | 12,50 | 0,01 |
| 24 | 12,52 | 12,54 | 12,53 | 0,04 |
| 48 | 12,57 | 12,51 | 12,54 | 0,01 |
| 72 | 12,56 | 12,60 | 12,58 | 0,05 |
| 96 | 12,62 | 12,64 | 12,63 | 0,08 |

Anexo 8

✚ Modelo cinético de Elovich

✚ Gramina - Rancagua

| Tiempo [h] | Q _{experimental} | Ln [t] | Q _{calculado} |
|------------|---------------------------|--------|------------------------|
| 3 | 12,12 | 1,10 | 14,36 |
| 6 | 12,77 | 1,79 | 16,20 |
| 9 | 12,97 | 2,20 | 17,28 |
| 12 | 13,30 | 2,49 | 18,04 |
| 15 | 14,14 | 2,71 | 18,63 |
| 18 | 14,50 | 2,89 | 19,12 |
| 24 | 14,94 | 3,18 | 19,88 |
| 48 | 15,22 | 3,87 | 21,72 |
| 72 | 15,27 | 4,28 | 22,80 |

✚ Indol - Rancagua

| Tiempo (h) | Q _{experimental} | Ln [t] | Q _{calculado} |
|------------|---------------------------|--------|------------------------|
| 3 | 12,47 | 1,10 | 12,93 |
| 6 | 12,74 | 1,79 | 13,17 |
| 9 | 12,93 | 2,20 | 13,30 |
| 12 | 12,98 | 2,48 | 13,40 |
| 15 | 12,98 | 2,71 | 13,48 |
| 18 | 12,98 | 2,89 | 13,54 |
| 24 | 12,98 | 3,18 | 13,64 |
| 48 | 12,98 | 3,87 | 13,88 |
| 72 | 12,98 | 4,28 | 14,02 |
| 96 | 12,98 | 4,56 | 14,12 |

✚ Gramina - Alhué

| Tiempo (h) | Q _{experimental} | Ln [t] | Q _{calculado} |
|------------|---------------------------|--------|------------------------|
| 3 | 12,62 | 1,10 | 13,34 |
| 6 | 12,96 | 1,79 | 13,9 |
| 9 | 13,16 | 2,20 | 14,20 |
| 12 | 13,22 | 2,48 | 14,41 |
| 15 | 13,41 | 2,71 | 14,57 |
| 18 | 13,50 | 2,89 | 14,71 |
| 24 | 13,53 | 3,18 | 14,52 |
| 48 | 13,54 | 3,87 | 13,88 |
| 72 | 13,58 | 4,28 | 14,02 |
| 96 | 13,63 | 4,56 | 14,12 |

✚ Indol - Alhué

| Tiempo (h) | Q _{experimental} | Ln [t] | Q _{calculado} |
|------------|---------------------------|--------|------------------------|
| 3 | 11,62 | 1,10 | 12,39 |
| 6 | 11,96 | 1,79 | 12,90 |
| 9 | 12,16 | 2,20 | 13,20 |
| 12 | 12,22 | 2,48 | 13,31 |
| 15 | 12,41 | 2,71 | 13,57 |
| 18 | 12,50 | 2,89 | 13,71 |
| 24 | 12,53 | 3,18 | 13,12 |
| 48 | 12,54 | 3,87 | 13,88 |
| 72 | 12,58 | 4,28 | 14,02 |
| 96 | 12,63 | 4,56 | 14,12 |

Ejemplo Calculo ARE para 3h Indol - Rancagua

La ecuación utilizada es:

$$ARE = \left| \frac{Q_{experimental} - Q_{calculado}}{Q_{calculado}} \right|$$
$$ARE = \frac{12,47 - 12,93}{12,93}$$
$$ARE = \frac{1}{1}$$
$$ARE = |-0,035|$$

El valor presentado en la Tabla 11 Y 12, pág.65 y 67, corresponde a un promedio de las diez horas consideradas en el experimento.



Anexo 9

Estudio de adsorción

✚ Gramina – Alhué

Datos para estudio de adsorción.

| mL de Gr | Conc. agregada (mgL ⁻¹) | Ce (mgL ⁻¹) | Cs (mgg ⁻¹) | Ce/Cs | Log Ce | Log Cs |
|----------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|--------|--------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 1 | 100,2 | 0 | 100,18 | 0 | | 2,000 |
| 2 | 200,4 | 2,44 | 197,92 | 0,012 | 0,387 | 2,296 |
| 3 | 300,5 | 4,62 | 295,92 | 0,016 | 0,665 | 2,471 |
| 4 | 400,7 | 18,47 | 382,25 | 0,048 | 1,266 | 2,582 |
| 5 | 500,9 | 22,79 | 478,11 | 0,048 | 1,358 | 2,679 |
| 6 | 601,1 | 25,43 | 575,65 | 0,044 | 1,405 | 2,760 |
| 7 | 701,3 | 64,24 | 637,02 | 0,101 | 1,807 | 2,804 |
| 8 | 801,4 | 102,95 | 698,49 | 0,147 | 2,013 | 2,844 |
| 9 | 901,6 | 145,21 | 756,41 | 0,192 | 2,162 | 2,878 |
| 10 | 1001,8 | 164,17 | 837,63 | 0,196 | 2,215 | 2,923 |

✚ Gramina - Rancagua

| mL de Gr | Conc. agregada (mgL ⁻¹) | Ce (mgL ⁻¹) | Cs (mgg ⁻¹) | Ce/Cs | Log Ce | Log Cs |
|----------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|---------|--------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 1 | 100,25 | 0,23 | 99,71 | 0,00234 | -0,6312 | 1,99 |
| 2 | 200,50 | 0,46 | 199,84 | 0,00235 | -0,3288 | 2,30 |
| 3 | 300,75 | 0,90 | 299,17 | 0,00303 | -0,0431 | 2,48 |
| 4 | 401,00 | 1,89 | 397,84 | 0,00475 | 0,2768 | 2,60 |
| 5 | 501,25 | 3,02 | 497,11 | 0,00607 | 0,4796 | 2,69 |
| 6 | 601,50 | 6,74 | 592,68 | 0,01137 | 0,8288 | 2,77 |
| 7 | 701,75 | 8,99 | 691,02 | 0,01302 | 0,9542 | 2,84 |
| 8 | 802,00 | 11,78 | 787,62 | 0,01496 | 1,0713 | 2,89 |
| 9 | 902,25 | 13,24 | 887,94 | 0,01491 | 1,1218 | 2,95 |
| 10 | 1002,5 | 22,72 | 978,63 | 0,02322 | 1,3565 | 2,99 |

✚ Indol - Alhué

| mL de Gr | Conc. agregada (mgL ⁻¹) | Ce (mgL ⁻¹) | Cs (mgg ⁻¹) | Ce/Cs | Log Ce | Log Cs |
|----------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|--------|--------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 1,30 | 1,42 | 1,31 |
| 1 | 50,1 | 26,65 | 20,45 | 1,38 | 1,71 | 1,57 |
| 2 | 100,2 | 51,49 | 37,20 | 1,40 | 1,91 | 1,76 |
| 3 | 150,3 | 81,87 | 58,42 | 1,46 | 2,07 | 1,91 |
| 4 | 200,4 | 119,00 | 81,39 | 1,76 | 2,16 | 1,92 |
| 5 | 250,5 | 144,03 | 82,97 | 1,77 | 2,27 | 2,02 |
| 6 | 300,6 | 185,73 | 104,87 | 1,86 | 2,34 | 2,07 |
| 7 | 350,7 | 218,39 | 117,30 | 1,92 | 2,42 | 2,14 |
| 8 | 400,8 | 263,79 | 137,01 | 2,23 | 2,47 | 2,13 |
| 9 | 450,9 | 300,25 | 134,65 | 2,36 | 2,59 | 2,22 |
| 10 | 501,0 | 394,28 | 166,71 | 1,30 | 1,42 | 1,31 |

✚ Indol - Rancagua

| mL de Gr | Conc. agregada (mgL ⁻¹) | Ce (mgL ⁻¹) | Cs (mgg ⁻¹) | Ce/Cs | Log Ce | Log Cs |
|----------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|--------|--------|
| 0 | 0 | 2,83 | 0 | | | |
| 1 | 50,1 | 9,31 | 78,51 | 0,118 | 0,96 | 1,89 |
| 2 | 100,2 | 18,20 | 148,46 | 0,122 | 1,26 | 2,17 |
| 3 | 150,3 | 24,73 | 179,77 | 0,137 | 1,39 | 2,25 |
| 4 | 200,4 | 28,85 | 194,49 | 0,148 | 1,46 | 2,28 |
| 5 | 250,5 | 31,80 | 207,31 | 0,153 | 1,50 | 2,31 |
| 6 | 300,6 | 39,18 | 240,018 | 0,163 | 1,59 | 2,38 |
| 7 | 350,7 | 50,15 | 300,30 | 0,167 | 1,70 | 2,47 |
| 8 | 400,8 | 57,91 | 340,71 | 0,170 | 1,76 | 2,53 |
| 9 | 450,9 | 62,99 | 365,63 | 0,172 | 1,79 | 2,56 |
| 10 | 501,0 | 67,95 | 390,34 | 0,174 | 1,83 | 2,59 |

Anexo 10

Estudio de Persistencia

✚ Gramina - Alhué

| Persistencia | | | | | |
|-----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Tiempo (h) | 0 | 3 | 6 | 9 | 14 |
| Áreas | 4696962 | 445663 | 390645 | 232691 | 223773 |
| | 4423384 | 443129 | 388049 | 235894 | 223707 |
| | 4578969 | 441816 | 388100 | 290642 | 227983 |
| Promedio | 4566438 | 443536 | 388931 | 253076 | 225154 |
| µg en 20 uL | 1,82 | 0,069 | 0,046 | -0,011 | -0,022 |
| µg en 15 mL | 1363,8 | 52,25 | 34,88 | -8,33 | -17,21 |
| Porcentaje (%) | 54,55 | 2,09 | 1,39 | 0 | 0 |
| Ln Ce | 7,22 | 3,96 | 3,55 | 0 | 0 |

✚ Indol – Rancagua

| Persistencia | | | | | | | | |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Tiempo (h) | 0 | 3 | 6 | 9 | 14 | 18 | 24 | 48 |
| Ce ₁ (µg µL ⁻¹) | 2461,7 | 2172,6 | 1546,6 | 1212,8 | 843,4 | 553,6 | 234,5 | 88,6 |
| Ce ₂ (µg µL ⁻¹) | 2459,1 | 2160,9 | 1708,9 | 1205,7 | 882,5 | 595,9 | 225,3 | 88,2 |
| Promedio | 2460,4 | 2166,7 | 1627,7 | 1209,3 | 862,9 | 574,7 | 229,9 | 88,39 |
| Ln | 7,80 | 7,68 | 7,39 | 7,09 | 6,76 | 6,35 | 5,44 | 4,48 |
| Porcentaje (%) | 98 | 87 | 65 | 48 | 35 | 23 | 9,2 | 3,5 |

Indol - Alhué

| Persistencia | | | | | | | |
|---|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Tiempo (h) | 0 | 3 | 6 | 9 | 14 | 18 | 24 |
| Ce ₁ (µg µL ⁻¹) | 2490,3 | 1956,6 | 1024,7 | 537,3 | 337,8 | 282,9 | 245,0 |
| Ce ₂ (µg µL ⁻¹) | 2483,2 | 1938,0 | 1022,4 | 528,2 | 424,4 | 272,7 | 253,9 |
| Promedio | 2486,7 | 1947,3 | 1023,6 | 532,8 | 381,1 | 277,8 | 249,5 |
| Ln | 7,82 | 7,57 | 6,93 | 6,28 | 5,94 | 5,63 | 5,52 |
| Porcentaje (%) | 99 | 78 | 41 | 21 | 15 | 11 | 9,98 |

Tiempo de vida media

Para el cálculo del tiempo de vida media se utiliza la ecuación siguiente:

$$t_{1/2} = \frac{\text{Ln}(2)}{K}$$

Donde, K corresponde a la constante de decaimiento, la cual se obtiene de la ecuación de la recta obtenida al aplicar el logaritmo neperiano a los valores de concentración en equilibrio.

Aplicando esta ecuación a los datos obtenidos para Indol – Rancagua se obtiene:

$$t_{1/2} = \frac{\text{Ln}(2)}{0,0736} = 9,42 \text{ h}$$

Índice de GUS

Para el cálculo de este Índice se hace uso de la siguiente ecuación:

$$GUS = (4 - \text{Log}(Koc)) \times \text{Log}(t_{1/2})$$

Aplicando esta ecuación a los valores obtenidos para Indol en suelo Rancagua, se obtiene que:

$$GUS = (4 - \text{Log}(270)) \times \text{Log}(9,42) = 1,53$$

Según la clasificación de GUS, el valor estaría dentro de la razón $Gus < 1,8$, No Lixiviable.