



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación del efecto de un lombricompost sobre la retención y degradación de clorpirifos en suelo

Maricela Solarte Ordóñez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Posgrado
Palmira, Colombia
2018

Evaluación del efecto de un lombricompost sobre la retención y degradación de clorpirifos en suelo

Maricela Solarte Ordóñez

Trabajo de investigación como requisito parcial para optar al título de:

Doctorado en Ciencias Agrarias

Directora:

Ph.D., M.Sc., I.A. Marina Sanchez De Prager

Asesora:

Ph.D., M.Sc., Qca. Carmen Stella Mosquera Vivas

Línea de Investigación:

Manejo de Suelos y Aguas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Posgrado

Palmira, Colombia

2018

La preocupación por el hombre y su destino siempre debe ser el interés primordial de todo esfuerzo técnico. Nunca olvides esto entre tus diagramas y ecuaciones.

Albert Einstein

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, por la financiación de la Etapa de **validación de la técnica de cuantificación** por medio de la “*Convocatoria Apoyo para Trabajos de Grado, Tesis de Maestría y Tesis de Doctorado, DIPAL 2010*”

A Dios por permitirme terminar esta etapa de mi vida

A mi hijo que es el motor que me impulsa a levantarme día a día

A mi mamá que siempre ha estado apoyándome

A Diego que ha sido una persona incondicional

A la profesora Marina Sánchez de Prager por todo su conocimiento

A la Profesora Isabel Bravo Realpe por su apoyo personal y académico

A mi amiga y colega Carmen Stella Mosquera, quien ha compartido mucho de su conocimiento

Resumen

Cuando se aplican plaguicidas al cultivo de manera foliar o directamente en el suelo se produce un depósito en la planta como en el suelo. Los residuos de plaguicida acumulados en el suelo pueden pasar por diferentes procesos (degradación, volatilización, adsorción, lixiviación, entre otros.) que determinarán su destino en el medio ambiente. Además, cuando el plaguicida es usado de forma indiscriminada produce efectos negativos sobre los seres vivos y los diferentes compartimientos ambientales. Sin embargo, se ha encontrado que una forma de evitar estos efectos es la adición de materia orgánica exógena en forma de lombricompost, debido a que, esta presenta sustancias parecidas a las sustancias húmicas que además de mejorar las condiciones del suelo, incrementan la actividad microbiana y contribuye a la retención de metales pesados y plaguicidas.

Dentro de la amplia variedad de plaguicidas utilizados en la región, se seleccionó como objeto de estudio en este trabajo el insecticida clorpirifos, debido a su uso extensivo en cultivos y a nivel urbano, por sus efectos adversos en el ambiente y el hombre y como materia orgánica exógena un lombricompost comercial, con el fin, de determinar el efecto de la adición del lombricompost sobre la retención y degradación.

Por otro lado, se hace necesario implementar técnicas analíticas capaces de determinar estos residuos de una manera fiable, con procedimientos de extracción efectivos y rápidos que requieran volúmenes mínimos de disolventes tóxicos y el uso de índices de impacto como el de lixiviación GUS (Groundwater Ubiquity Score) y el índice de Percolación, Bioacumulación y Toxicidad (PBT) que permitan una evaluación de riesgos. Mediante estos sistemas de análisis, se podrá además, iniciar en el estudio de los diferentes procesos que van a determinar el destino ambiental de los plaguicidas después de su aplicación.

En este trabajo, Se evaluó el efecto de un lombricompost en la adsorción y desorción de clorpirifos en un Inceptisol del Valle del Cauca, por el método Batch, mediante un diseño experimental aleatorio con arreglo factorial, tres tratamientos (T1=0%, T2=20% y T3=50% de adición de lombricompost) con tres réplicas cada uno. Los datos se ajustaron a los modelos de adsorción de Langmuir, Freundlich y lineal, obteniéndose un mejor resultado por Freundlich (R^2 entre 0,9169 y 0,9511). El valor de K_f del clorpirifos en T1 (175,41 L/kg \pm 10,73 L/kg) fue significativamente inferior a los valores de K_f en T2 (226,48 L/kg \pm 23,55 L/kg) y T3 (454,86 L/kg \pm 51,58 L/kg), demostrando que, el lombricompost incrementó la capacidad de adsorción y disminuyó los porcentajes de desorción del clorpirifos en el suelo. Por otro lado, se encontraron valores de K_{oc} para Clorpirifos entre 2780,10 a 5039,79 L/kg, indicando un riesgo bajo de lixiviación a través del perfil del suelo, dado que está fuertemente adsorbido a sus componentes orgánicos y minerales, impidiendo la contaminación de aguas subterráneas

Además, se evaluó la degradación en laboratorio estimando el tiempo de permanencia del clorpirifos mediante el cálculo de la vida media ($t_{1/2}$), en diferentes periodos de tiempo (0, 7, 14, 21, 35 y 45 días) utilizando un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial con los tratamientos utilizados anteriormente. Los datos se ajustaron a una cinética de primer orden con coeficientes de correlación mayores a 0.9581. No se encontraron diferencias significativas en los valores de los $t_{1/2}$ de los tratamientos T1 y T2, mientras que el $t_{1/2}$ del T3 fue inferior, además, este tratamiento fue el que presentó mayor actividad microbiana (medida como evolución de CO_2), demostrando la bondad del lombricompost en acelerar la degradación del clorpirifos

Los resultados de la adsorción y degradación mostraron que la adición de lombricompost incrementó la adsorción del clorpirifos y disminuyó el tiempo de permanencia de este plaguicida en el suelo. Por otro lado, los índices de GUS y PBT determinados mediante el coeficiente de distribución suelo-carbono orgánico, K_{oc} , y $t_{1/2}$ clasificaron al clorpirifos de bajo riesgo en los tres sustratos empleados bajo condiciones de laboratorio. Quedan interrogantes a resolver en cuanto a los procesos que pueden ocurrir en campo bajo diferentes condiciones edafoclimáticas.

Palabras Claves: Clorpirifos, adsorción, desorción, degradación, índice de lixiviación GUS, índice PBT

Abstract

When pesticides are applied to the crop in a foliar way or directly in the soil, a deposit is produced in the plant as in the soil. Pesticide residues accumulated in the soil can pass through different processes (degradation, volatilization, adsorption, leaching, among others), which will determine their duration in the environment. In addition, when the pesticide is used indiscriminately it produces negative effects on living beings and different environmental compartments. However, it has been found that one way to avoid these effects is the addition of exogenous organic material in the form of vermicompost, because it presents substances similar to humic substances that, in addition to improving soil conditions, it also increases microbial activity and contributes to the retention of heavy metals and pesticides.

Within the wide variety of pesticides used in the region, the chlorpyrifos insecticide was selected as the object of study in this work due to (i) its extensive use in crops and at urban level and (ii) its adverse effects on the environment and human beings. A commercial vermicompost was used as an exogenous organic material in order to determine the effect of the addition of this vermicompost on the retention and degradation of the pesticide.

On the other hand, it is necessary to implement analytical techniques capable of determining these residues in a reliable manner, with effective and rapid extraction procedures that require minimum volumes of toxic solvents and the use of impact indexes such as GUS Leaching (Groundwater Ubiquity Score) and the Percolation, Bioaccumulation and Toxicity Index (PBT) that allow a risk assessment. By means of these analysis systems, it will also be possible to begin the study of different processes that will determine the environmental duration of pesticides after their application.

In this work, the effect of a vermicompost on the adsorption and desorption of chlorpyrifos in an Inceptisol from Valle del Cauca was evaluated by the Batch method, by means of a randomized experimental design with factorial arrangement, three treatments (T1 = 0%, T2 = 20% and T3 = 50% addition of vermicompost) with three replicates each. The data was adjusted to the Langmuir, Freundlich and linear adsorption models, obtaining a better result by Freundlich (R^2 between 0.9169 and 0.9511). The K_f value of chlorpyrifos in T1 (175.41 L/kg \pm 10.73 L/kg) was significantly lower than the values in T2 (226.48 L/kg \pm 23.55 L/kg) and T3 (454.86 L/kg \pm 51.58 L/kg), showing that the vermicompost increased the capacity of adsorption and decreased the percentages of desorption of chlorpyrifos in the soil. On the other hand, values of K_{OC} for chlorpyrifos between 2780.10 to 5039.79 L/kg were found,

indicating a low risk of leaching through the soil profile, given that it is strongly adsorbed to its organic and mineral components, preventing groundwater contamination.

Key words: Chlorpyrifos, adsorption, desorption, degradation, GUS Leaching Index, PBT Index.

Contenido

1. Introducción	1
2. Planteamiento del problema.....	4
3. Hipótesis.....	7
4. Objetivos.....	8
4.1. Objetivo general	8
4.2. Objetivos específicos	8
5. Marco teórico.....	9
5.1. Plaguicidas. Definición y clasificación según su modo de acción.....	9
5.1.1. Insecticidas	9
5.1.2. Herbicidas	10
5.1.3. Fungicidas	10
5.2. Plaguicidas organofosforados.....	11
5.2.1. Clorpirifos.....	12
5.3. Determinación de plaguicidas en suelo	15
5.3.1. Validación de métodos de cuantificación	16
5.4. Adsorción-desorción de plaguicidas en suelos	17
5.4.1. Isotermas de adsorción y desorción	18
5.5. Degradación de Plaguicidas	22
5.5.1. Degradación de clorpirifos.....	23
5.5.2. Respiración microbiana.....	24
5.6. Movilidad de plaguicidas en suelo	25
5.6.1. Materia compostada como barrera de movilidad de plaguicidas en suelo	27
5.7. Estimación del índice de GUS y PBT	29
5.7.1. Índice de lixiviación GUS (Groundwater Ubiquity Score)	30
5.7.2. Índice PBT (Percolación, Bioacumulación y Toxicidad)	31
6. Metodología	33
6.1. Etapa 1. Obtención y Análisis del suelo de estudio y estimación de la madurez del lombricompost	33
6.1.1. Obtención del suelo.....	33
6.1.2. Toma de muestra	34
6.1.3. Caracterización física y química del suelo.....	35
6.1.4. Evaluación de la madurez del lombricompost	38
6.2. Etapa 2. Implementación de la técnica HPLC para la cuantificación de Clorpirifos en suelo	39
6.2.1. Equipos, estándares y soluciones.....	39
6.2.2. Análisis cuantitativo	39
6.2.3. Parámetros cromatográficos	39
6.2.4. Validación del sistema instrumental.....	40
6.2.5. Extracción	41
6.2.6. Validación de la metodología.	42
6.2.7. Evaluación del efecto matriz	44
6.3. Etapa 3. Evaluación del proceso de adsorción-desorción de Clorpirifos en suelo	44
6.3.1. Principio del Método	44

6.3.2. Condiciones del experimento.....	45
6.3.3. Cinética de adsorción.....	45
6.3.4. Isotermas de adsorción y desorción.....	46
6.3.5. Efecto del lombricompost sobre el proceso de adsorción desorción del clorpirifos.....	47
6.4. Etapa 4. Degradación de Clorpirifos en suelo.....	47
6.4.1. Incubaciones bajo condiciones de laboratorio.....	47
6.4.2. Estimación de la actividad microbiana.....	48
6.5. Etapa 5. Estimación del índice GUS y PBT.....	48
7. Resultados y Discusión.....	49
7.1. Etapa 1. Obtención y Análisis del suelo de estudio y estimación de la madurez del lombricompost.....	49
7.1.1. Obtención y análisis del suelo de estudio.....	49
7.1.2. Estimación de la madurez del lombricompost.....	51
7.2. Etapa 2. Evaluación de los parámetros instrumentales y metodológicos para la cuantificación de Clorpirifos en suelo.....	52
7.2.1. Parámetros cromatográficos.....	52
7.2.2. Validación del sistema instrumental.....	53
7.2.2.4. <i>Sensibilidad</i>	59
7.2.3. Evaluación del efecto Matriz.....	60
7.2.4. Validación de la metodología.....	62
7.3. Etapa 3. Evaluación del proceso de adsorción-desorción de Clorpirifos en suelo.....	65
7.3.1. Cinéticas de adsorción.....	65
7.3.2. Isotermas de adsorción.....	67
7.3.3. Isotermas de desorción.....	70
7.3.4. Determinación del coeficiente K_{oc}	72
7.4. Etapa 4: Degradación de Clorpirifos en suelo.....	74
7.4.1. Incubaciones bajo condiciones de laboratorio.....	74
7.4.2. Estimación de la actividad microbiana.....	77
7.5. Etapa 5. Estimación del índice GUS y PBT.....	79
8. Discusión de Resultados.....	81
9. Conclusiones.....	83
10. Recomendaciones.....	84
11. Bibliografía.....	85
12. Anexos.....	93

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Fórmula estructural de insecticidas organofosforados.....	11
Figura 2. Estructura molecular del clorpirifos.....	12
Figura 3. Isotermas que describen la adsorción de compuestos orgánicos en fase acuosa y de vapor (BET) en adsorbentes naturales.	19
Figura 4. Rutas de degradación del clorpirifos.....	23
Figura 5. Propuesta estructural de un ácido húmico	
Figura 6. Ubicación geográfica de la muestra de suelo.	34
Figura 7. Esquema de cuadrícula para la toma de muestra	34
Figura 8: Cromatograma de una solución de clorpirifos en acetonitrilo.	52
Figura 9: Cromatograma del Blanco Instrumental (Acetonitrilo) a 290 nm.	54
Figura 10: Cromatograma de una solución estándar al nivel tres de clorpirifos	54
Figura 11: Gráfica correspondiente a la evaluación de linealidad para clorpirifos.....	55
Figura 12. Curva en extracto y solvente para la evaluación del efecto matriz.	60
Figura 13. Cromatograma de extracto blanco de matriz.	63
Figura 14. Cromatograma de una solución de clorpirifos en extracto blanco de matriz al nivel tres de calibración.	63
Figura 15. Cinéticas de adsorción del clorpirifos para los tres tratamientos.	66
Figura 16. Isotherma ajustada al modelo de Freundlich en forma exponencial.....	69
Figura 17. Isotherma de adsorción de Freundlich linealizada para el efecto de la adición de lombricompost.	69
Figura 18. Isotherma de adsorción-desorción para: a) T1 y b) T2.	72
Figura 19. Estructura de las arcillas Montmorillonita y vermiculita.....	73
Figura 20. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo	74
Figura 21. Dinámica de la evolución de CO ₂ en el suelo de estudio durante un periodo de incubación de 45 días para los tres tratamientos.	78
Figura 22. Valores del índice de lixiviación GUS para los tres tratamientos,. (---) límites de los intervalos de riesgo del índice.	79
Figura 23. Valores del índice de PBT para los tres tratamientos. (---) límites de los intervalos de riesgo del índice.	80

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Principales propiedades físico-químicas y toxicológicas de clorpirifos	13
Tabla 2. Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad de acuerdo a LD ₅₀ según la OMS 2006	14
Tabla 3. Escala, tipo de movilidad y ejemplos	26
Tabla 4. Parámetros de adsorción del clorpirifos en diferentes tipos de suelo	26
Tabla 5. Parámetros de humificación	38
Tabla 6. Análisis Físicos del suelo a estudiar	49
Tabla 7. Análisis Fisicoquímicos del lombricompost	51
Tabla 8. Parámetros de humificación del lombricompost	51
Tabla 9. Concentración de Clorpirifos por nivel de calibración	52
Tabla 10. Parámetros cromatográficos en la determinación de Clorpirifos	53
Tabla 11. Tiempo de retención y factor de respuesta para el Clorpirifos y TCP	55
Tabla 12. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto.	57
Tabla 13. Variación instrumental como repetibilidad por nivel de concentración.	58
Tabla 14. Variación instrumental como precisión intermedia por nivel de concentración.	58
Tabla 15. Límite de Detección y de Cuantificación Instrumentales para clorpirifos	60
Tabla 16. Porcentaje de efecto matriz por nivel de concentración	61
Tabla 17. Prueba t-test pareado para evaluación del efecto matriz	61
Tabla 18. Regresión lineal para evaluación del efecto matriz	62
Tabla 19. Tiempo de retención y factor de respuesta para clorpirifos en extracto blanco de matriz al nivel 3.	63
Tabla 20. Niveles de fortificación del suelo	64
Tabla 21. Exactitud y precisión para los sustratos utilizados al nivel tres de concentración	64
Tabla 22. Tratamientos para las isotermas de adsorción-desorción	67
Tabla 23. Regresión lineal del ajuste de Freundlich, Langmuir y lineal	67
Tabla 24. Parámetros de adsorción en los tres tratamientos con los modelos de Freundlich, langmuir y lineal	68
Tabla 25. Parámetros de desorción del clorpirifos en los tres tratamientos con los modelos de Freundlich y lineal	71
Tabla 26. Regresión lineal en la degradación de clorpirifos en los tres tratamientos	76
Tabla 27. Evaluación de los tiempos de vida media con los diferentes sustratos	76
Tabla 28. Medida de los pHs al inicio del proceso de degradación del clorpirifos en los tres tratamientos	77

Tabla 29. Evolución de CO ₂ en los tres sustratos durante los diferentes días de incubación.....	78
---	----

1. Introducción

Las diferentes prácticas agrícolas, introdujeron el uso de plaguicidas con el fin de suplir la demanda de alimentos a nivel mundial, la cual se veía afectada por diferentes plagas, patógenos y malezas. Estos productos químicos, son usados indiscriminadamente y además encarecen los costos de producción, causan serios disturbios en: a) el ambiente, b) la salud de las plantas y animales, y c) en los consumidores incluidos los mismos productores (1).

Cuando los plaguicidas son aplicados en campo, existen diferentes mecanismos por los cuales estos se puede mover a los diferentes compartimientos ambientales, entre ellos están la adsorción y la degradación en el suelo. La adsorción es un proceso por el cual los plaguicidas son retenidos por los coloides del suelo (materia orgánica, arcillas, complejos arcillo - húmicos) y representa uno de los principales procesos que afecta la interacción entre los plaguicidas, las aguas subterráneas y la matriz sólida del suelo (2). Por otro lado, la degradación es un mecanismo por el cual una molécula compleja se descompone a otras más simples y es considerado un importante medio de atenuación natural de plaguicidas en el ambiente (3).

Dentro del grupo de plaguicidas se encuentran los organofosforados, insecticidas en incremento en la agricultura ya que se han constituido en sustituyentes de organoclorados y carbamatos, debido a su alta eficiencia y baja persistencia en el ambiente (4; 5). El Clorpirifos (O,O - dietil O - (3, 3, 6 - tricloro 2 piridil) fosforotioato (CPF)), es un organofosforado de amplio espectro, recomendado para el control de plagas en diversos cultivos, modo de acción por contacto, inhalación e ingestión e inhibidor de la colinesterasa (6; 7; 8; 9; 10).

La exposición con clorpirifos se puede dar a través de ingestión de residuos en alimentos, inhalación de vapores y absorción dérmica debido al contacto con la piel. El mecanismo de toxicidad se relaciona con su habilidad para unirse e inhibir la serina hidrolasa AChE (7; 8). El sistema nervioso es el principal objetivo debido a que hidroliza la AChE del

neurotransmisor acetilcolina impidiendo la sinapsis causando efectos colinérgicos, morbilidad o la muerte. Se han reportado muertes en humanos debido a exposición accidental o ingestión intencional de clorpirifos lo cual produce fallas en el sistema respiratorio y cardiovascular (11; 12).

El clorpirifos, es clasificado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) como moderadamente tóxico (Categoría II); además, una aplicación de este insecticida ocasiona un alto riesgo para los invertebrados acuáticos, peces, pájaros y pequeños mamíferos. Aplicaciones sucesivas incrementan el riesgo en las aves acuáticas y los mamíferos, debido a la bio-concentración (12).

Como se aprecia, diversos estudios han demostrado los efectos negativos ocasionados por el uso de plaguicidas y en particular de clorpirifos, su uso excesivo, efectos nocivos sobre el ambiente y el hombre, además, del problema de permanencia del producto y/o subproducto en el suelo y a pesar de ello, se hace uso indiscriminado de estos productos (9; 13; 12; 14; 11). Para prevenir los efectos negativos, es necesario tener un mejor conocimiento de cómo estos compuestos de síntesis química se comportan en el ambiente. La estimación de impactos de los plaguicidas es una importante herramienta para la prevención de la contaminación ambiental, ya que durante los últimos años se ha despertado un interés y preocupación crecientes por la presencia de agroquímicos en suelo, agua, atmósfera y organismos vivos no objetivo, a través de estudios de adsorción-desorción, degradación y el empleo de índices de impacto como el Índice de lixiviación (GUS) y el índice de Percolación, Bioacumulación y Toxicidad (PBT), que proporcionan una evaluación de riesgos (15)

Por otro lado, se ha demostrado que la materia orgánica compostada induce una mayor adsorción de plaguicidas (16; 17; 18; 19), por medio de interacciones físicas y químicas tales como fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacciones no polares, de intercambio iónico, sustitución isomórfica y formación de micelas entre los surfactantes empleados en la formulación y la materia orgánica, también, reduce su toxicidad en aguas subterráneas (20) y superficiales y es una práctica de manejo de plaguicidas en suelo, dado que aumenta la población microbiana y la degradación (21; 22) lo que conduce a

mayor degradación del plaguicida, pues los microorganismos pueden utilizar el plaguicida y sus metabolitos como fuentes de energía o nutrientes, permitiendo así una transformación del producto en diferente escala en el suelo (23; 21)

Dentro de esta problemática, se hace necesario buscar alternativas de remediación para suelos contaminados con plaguicidas a través de prácticas de manejo, donde la materia orgánica compostada se ha planteado como una de ellas, cumpliendo una función de barrera en los horizontes superficiales del suelo evitando la contaminación de otras fases ambientales **(24)**. Sin embargo, falta información al respecto y por esto surge la necesidad de indagar sobre esta alternativa en suelos del Valle del Cauca, de allí este trabajo de investigación donde se evaluó bajo condiciones controladas el efecto de un lombricompost como alternativa para remediar los efectos adversos producido por el clorpirifos en un suelo inceptisol del Valle del Cauca.

2. Planteamiento del problema

La industria de los plaguicidas inició en Colombia 1962, mediante importaciones de ingredientes activos de diferentes países en el mundo. Posteriormente, en 1964 se inició con la síntesis de ingredientes activos basada en la utilización de materias primas de origen nacional o importado, donde en 1985 y 1995 se realiza la síntesis de un herbicida y fungicida, respectivamente (25). Se estima que cerca de 2,4 toneladas métricas de ingrediente activo son usadas mundialmente en la agricultura y a nivel urbano, con el fin de combatir plagas y enfermedades, que son las causantes de disminuir la producción de los cultivos. (3)

Actualmente, en el Valle del Cauca, se utilizan plaguicidas organofosforados para el control fitosanitario de plagas en diferentes cultivos y a nivel doméstico, donde el principio activo es Clorpirifos. Entre los plaguicidas más utilizados para combatir plagas en cultivos de tomate en Palmira – Valle, se encuentra el LORSBAN, cuyo ingrediente activo es el Clorpirifos. Otros plaguicidas que presentan este ingrediente activo son: ATTAMIX SB, CLORPIRICOL, DURSBAN, LÁTIGO.

Estudios muestran que el uso indiscriminado de este producto está relacionado con:

a) Efectos adversos sobre la salud humana, animales y plantas. En humanos se ha reportado muertes por ingestión accidental o intencional por causa de fallos respiratorios y cardiovasculares, bajos niveles de intoxicación afectan el sistema nervioso central, cardiovascular y respiratorio, efectos observados también en animales (12). Las evidencias de fitotoxicidad en las plantas incluyen defoliación, amarillamiento foliar, retardos de crecimiento, entre otros (26).

b) Efectos adversos sobre compartimientos ambientales. Afectados por la aplicación de este tipo de plaguicida por vía aérea o con equipos terrestres, generalmente en forma de polvos, líquida o granulados, contaminan el aire por derivas o pérdidas durante la aplicación, por evaporación y por erosión eólica. Se calcula que por vía

aérea, del 5% al 15% llega a su objetivo, es decir, la mayor parte de dispersa sobre otros ecosistemas, los contamina y afecta a organismos no blanco (15).

Los procesos de fabricación, transporte, almacenamiento o aplicación de plaguicidas generan de manera colateral la contaminación de aguas superficiales y subterráneas. Se estima que, entre 40-90% del agua es contaminada por pérdidas directas y su movimiento a través de corriente de ríos desde zonas agrícolas hasta las zonas costeras, estuarios y desembocaduras, afecta también ambientes marinos de alimentación, cría y desarrollo de gran número de especies acuáticas de importancia económica y ambiental. (27; 23; 14).

La contaminación del suelo es resultado de las actividades agrícolas e industriales (28), mediante aplicación directa o por desechos tóxicos como empaques, envases y restos de plaguicidas sin utilizar; por aspersión a cultivos, durante los cuales una parte cae al suelo, y puede sufrir degradación química, fotoquímica o biológica, evaporarse y adsorberse en los sólidos del suelo, es decir, la materia orgánica (MO) y las arcillas. (28; 14). La entrada continua de estos compuestos en el compartimiento suelo, puede afectar los microorganismos benéficos y su actividad, lo que ocasiona modificación de los procesos biológicos esenciales para la fertilidad y la productividad de los cultivos (29).

Aunque lo ideal es que se prescinda de su uso, este agroquímico se continúa utilizando indiscriminadamente y lo será por un tiempo indeterminado, por lo cual es necesario que se piense en medidas de remediación. Algunas investigaciones han encontrado que es posible mitigar la toxicidad del producto en el suelo a través de prácticas agronómicas como la adición de materia orgánica exógena, la cual, además de mejorar las propiedades del suelo, incrementa la actividad microbiana y contribuye a la retención y degradación del clorpirifos (24; 28)

Mientras se aprueban medidas para mitigar los efectos adversos del uso continuo de plaguicidas, la ciencia debe trabajar sobre las alternativas para mitigar sus efectos nocivos. En el caso del clorpirifos una de ellas es el uso de Materia orgánica compostada en forma de lombricompost. Sin embargo, es necesario profundizar los conocimientos que existen

6 Evaluación del efecto de un lombricompost sobre la retención y degradación de
clorpirifos en suelo

con respecto a procesos de adsorción y degradación de este plaguicida en un suelo del Valle del Cauca, en una fase inicial bajo condiciones controladas.

3. Hipótesis

La aplicación de materia orgánica en forma de lombricompost favorece condiciones para la adsorción y degradación de clorpirifos en el suelo de estudio, cuya comprensión de los posibles mecanismos puede contribuir para mitigar el efecto contaminante de este producto.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del lombricompost en los procesos de adsorción y degradación de clorpirifos en un inceptisol del Valle del Cauca en condiciones de laboratorio

4.2. Objetivos específicos

- Seleccionar y caracterizar un suelo para estudiar los procesos de adsorción y degradación del clorpirifos en el Valle del Cauca
- Implementar la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia con detección ultravioleta (HPLC-UV) para estimar la presencia de clorpirifos en suelos.
- Evaluar en condiciones controladas el efecto del lombricompost en la retención y degradación del clorpirifos en el suelo analizado.
- Evaluar los riesgos de lixiviación, toxicidad y acumulación mediante los índices GUS y PBT

5. Marco teórico

5.1. Plaguicidas. Definición y clasificación según su modo de acción

La FAO/OMS definen el término plaguicida como “cualquier sustancia o mezcla de ellas utilizadas para prevenir o controlar plantas o animales indeseables e incluso aquellas otras destinadas a utilizarse como regulador del crecimiento de la planta, defoliante o desecante” (30)

5.1.1. Insecticidas

Los insecticidas se clasifican en organofosforados, carbamatos, organoclorados y otros insecticidas: a) Organofosforados, son compuestos químicos inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) los cuales son empleados como insecticidas en la agricultura y antiparasitarios en pecuaria, son responsables de un elevado número de intoxicaciones y muertes en bovinos, ovinos y también en humanos (31). Ejemplo de plaguicidas organofosforados son diclorvos, paration, fenitrothion, dimetoato, malathion, clorpirifos, entre otros, b) Carbamatos, al igual que los compuestos organofosforados, deben sus propiedades insecticidas a la inhibición de la enzima AChE. Son de corta persistencia y de amplio espectro y generalmente actúan como insecticidas, acaricidas, nematocidas o moluscicidas. Son carbamatos el aldicarb, aminocarb, carbofuran, oxamil, entre otros. (32), c) Organoclorados, tienen una pronunciada actividad insecticida, una baja solubilidad en agua y una alta persistencia en el medio ambiente, debido a su naturaleza tóxica y recalcitrante, y a la creación de insecticidas menos tóxicos mucho de estos (Aldrin, dieldrin, endrin, toxafeno, mirex, DDT entre otros), son prohibidos en diversos países, y d) Otros insecticidas, que se encuentran en este grupo son: Fenilpirazoles (fipronil): con mecanismo de acción similar a los organoclorados; Nicotinoides, son antagonistas del receptor nicotínico de acetilcolina. En este grupo se encuentran Acetamiprid, Imidacloprid,

Tiacloprid, Tiametoxan; Spinosinas, son activadores alostéricos de receptores nicotínicos de acetilcolina (33).

5.1.2. Herbicidas

Galogre 2014, relaciona que se dividen en fosfometilglicina, compuestos clorofenoxi, bupiridilos y otros herbicidas: a) Fosfometilglicina, como el glifosato contienen polietoxietilnamina (POEA), un surfactante con propiedades tóxicas *per se*, puede producir el desacople de la fosforilación oxidativa mitocondrial, b) Compuestos clorofenoxi, como el 2,4 ácido diclorofenoxiacético, el cual en la planta actúa como estimulante de la hormona de crecimiento, en animales puede inducir daño mitocondrial, c) Bupiridilos, son ejemplo de ellos el paraquat y diquat se consideraran agentes corrosivos, que generan especies reactivas de oxígeno, causando toxicidad sistémica con predominio pulmonar y renal y d) Otros herbicidas, su uso viene en aumento, comprenden piridinas (aminopiridilid, picloram), dimetilureas (diuron), amidas (propanil), entre otros (34).

5.1.3. Fungicidas

Galofre, 2014, reporta algunos fungicidas como se muestra a continuación: a) Ftalonitrilos, como el clorotalonil, el cual en el hongo, inhibe la respiración celular, sin embargo en animales su mecanismo de toxicidad aún no se conoce, b) Etilén bis ditiocarbamatos, por ejemplo el mancozeb su mecanismo de acción es desconocido pero al parecer puede producir alteración en el transporte iónico a través de la membrana, y su órgano blanco es el sistema nervioso central, c) Compuestos de cobre, como el oxiclورو de cobre, intervienen en el transporte iónico a través de las membranas, se ha reportado que afecta el sistema nervioso central, hígado y riñón, d) Tioftalamidas, se liga a los enlaces sulfuro hidrógeno, interfiriendo con el proceso de respiración de los hongos. Ejemplo el captán, y e) Imidazoles y triazoles, Inhiben las enzimas y procesos enzimáticos en la biosíntesis del

esterol, alterando la estabilidad y permeabilidad de la membrana celular, son ejemplos el benomil, carbendazim, tiabendazol, ciproconazol, propiconazol (34).

5.2. Plaguicidas organofosforados

Los plaguicidas organofosforados,¹ son insecticidas que se caracterizan por la presencia de esteres de fosfatos fácilmente hidrolizables (---), con fórmula estructural general presentada en la Figura 1.

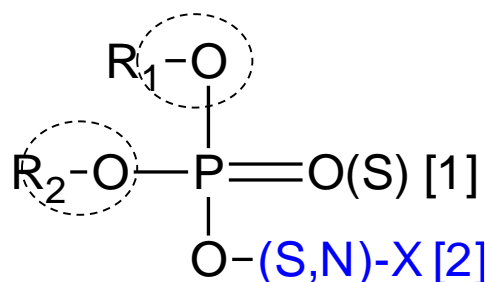


Figura 1. Fórmula estructural de insecticidas organofosforados (Fuente: adaptada de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Barcelona, 2010)

Donde, R_1 y R_2 son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo X es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un radical arilo, teniendo en cuenta las sustituciones en la fórmula estructural los organofosforados se pueden dividir en 14 grupos. Los más importantes son:

- fosforoamidatos, con un O en [1] y un N en [2];
- fosfatos, con un O en las posiciones [1] y [2];
- S-fosforotiolatos (o tiolatos), con un S en [2] y un O en [1];
- fosforoditioatos (o tiolotionatos), con un S en [1] y en [2];
- fosfonatos, con R_1 (en lugar de R_1O), O o bien S en [1] y O en [2], y

¹ <http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IdEntrega=51> [Citado el 5 de Marzo del 2014]

- O-fosfortioatos (o tionatos), con un S en [1] y un O en [2], en este grupo se encuentra el clorpirifos.

Dentro de sus características generales se puede decir que, son de compuestos de baja polaridad, y por lo tanto, son poco solubles en solventes polares como el agua, tienden a disolverse en grasas, por lo cual, la piel, (capa de tejido con elevado contenido en lípidos), puede constituirse en una importante vía de entrada de estos productos. La estabilidad de los organofosforados depende del pH del medio; es más estable en medio ácido y se hidroliza a mayor velocidad en medio alcalino (34).

5.2.1. Clorpirifos

Dentro del grupo de los O-fosfortionatos, se encuentra el clorpirifos, introducido y patentado por Dow Chemical Company en 1965. El clorpirifos (O,O–dietil–O–(3, 5, 6 – tricloro 2 piridil) fosfortioato) es un insecticida organofosforado usado en el control de plagas, con estructura molecular como se muestra en la Figura 2.

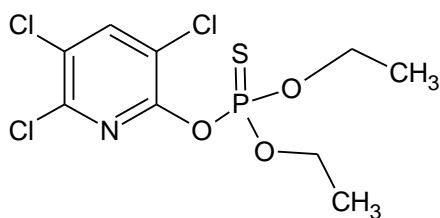


Figura 2. Estructura molecular del clorpirifos
(Fuente: el autor)

Este insecticida se usa a nivel agrícola, urbano, industrial, pecuario y doméstico para el control de coleóptera, díptera, homóptera y lepidóptera en suelo y follaje bajo nombres comerciales como: Dursban, Brodan, Eradex, Lorsban o Pirinex. A nivel agrícola se utiliza para el control de plagas de interés económico como polilla o cogollero (*tuta absoluta*) en

cultivos de tomate y papa (35), la mosquita de agallas (*Orseolia oryzae*), gusano envainado (*Cnaphalocrocis medinalis*) y salta hojas verde (*Nephotettix virescens*) en cultivos de arroz (5).

5.2.1.1. Propiedades físico-químicas del clorpirifos

Algunas de las propiedades físico-químicas del clorpirifos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales propiedades físico-químicas y toxicológicas de clorpirifos

Variable	Valor
Formula molecular	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Peso molecular	350.89
Presión de Vapor (mPa at 25°C)	2.7
Solubilidad en agua (mg/L at 20 °C)	145
Coeficiente de Partición (<i>n</i> -octanol/agua)	Kow = 50 000; log P = 4.7
Coeficiente de adsorción de carbono orgánico (mL g ⁻¹)	Koc=8151
LD ₅₀ Dermal (conejos)	>2000 mg/kg
LD ₅₀ Oral (ratas)	>5000 mg/kg
LC ₅₀ (ratas)	>0.7

Fuente: Rojas, 2015 (23)

Según sus propiedades fisicoquímicas se puede decir que el clorpirifos es una molécula hidrofóbica (baja solubilidad en agua) tendencia expresada como coeficiente de partición octanol-agua, Pow. Se distribuye dentro de las fracciones orgánicas de los compartimientos ambientales, con tendencia a la acumulación en tejidos grasos. Presenta una presión de vapor intermedia 2,7 mPa a 25°C lo que lo hace ligeramente volátil, un K_{oc} de 8151mL g⁻¹ que indica baja movilidad debido a su alta adsorción en la fracción orgánica de naturaleza lipofílica (36; 37).

5.2.1.2. Efectos toxicológicos del clorpirifos

El término toxicología animal representa el riesgo del empleo de agroquímicos sobre los organismos no objetivo. Este término se obtiene a partir de los valores de LD₅₀ y LC₅₀, obtenidos de estudios eco-toxicológicos de los agroquímicos sobre mamíferos y organismos acuáticos. Se define el LD₅₀ como la dosis de compuesto que produce la muerte del 50 % de la población experimental expuesta. Los valores se obtienen a partir de ensayos

de dosis-respuesta y representa un índice de toxicidad aguda para un agroquímico dado. Los ensayos a partir de los cuales se obtienen los LD_{50} pueden ser de tres tipos: exposiciones dérmicas, exposiciones por ingesta o por inhalación (15)

En la Tabla 2, se observa la clasificación de los plaguicidas según la Organización Mundial de la Salud (OMS), 2006. Donde se observa que el clorpirifos de acuerdo a su LD_{50} Oral y dermal (>5000 y >2000 mg/Kg), se clasifica como clase III, es decir ligeramente peligroso.

Tabla 2. Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad de acuerdo a LD_{50} según la OMS 2006

Clase	Especificación	LD_{50} (mg/kg)	
		Oral	Dermal
Ia	Extremadamente peligroso	<5	<50
Ib	Altamente peligroso	5-50	50-200
II	Moderadamente peligros	50-2000	200-2000
III	Ligeramente peligroso	>2000	>2000
IV	Improbable que presente peligro agudo	>5000	

Fuente: OMS, 2006

La exposición con clorpirifos se puede dar a través de ingestión de residuos en alimentos, inhalación de vapores y absorción dérmica debido al contacto con la piel. El mecanismo de toxicidad se relaciona con su habilidad para unirse e inhibir la serina hidrolasa AChE (7; 8). El sistema nervioso es el principal objetivo debido a que hidroliza la AChE del neurotransmisor acetilcolina impidiendo la sinapsis causando efectos colinérgicos, morbilidad o la muerte. Se han reportado muertes en humanos debido a exposición accidental o ingestión intencional de clorpirifos lo cual produce fallas en el sistema respiratorio y cardiovascular (11; 12).

El clorpirifos, es clasificado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) como moderadamente tóxico (Categoría II); además, una aplicación de este insecticida ocasiona un alto riesgo para los invertebrados acuáticos, peces, pájaros y

pequeños mamíferos. Aplicaciones sucesivas incrementan el riesgo en las aves acuáticas y los mamíferos, debido a la bio-concentración (12).

5.3. Determinación de plaguicidas en suelo

La determinación de la residualidad de plaguicidas en suelo se caracteriza principalmente por etapas extracción purificación y cuantificación. Los plaguicidas son extraídos del suelo utilizando técnicas como agitación, extracción líquido-líquido, soxhlet, extracción en fase sólida (SPE), por agitación, sonicación y extracción con fluidos supercríticos (38; 39; 40).

La Agitación mecánica es una de las técnicas de extracción comúnmente empleadas en los laboratorios de análisis de suelos y alimentos, considerando que es una técnica económica que ofrece recuperados favorables como lo han determinado algunos investigadores mediante la aplicación de agitación para la extracción de diferentes sustancias en diversas matrices. La EPA en el método 8318A aplica esta técnica de extracción para la determinación y cuantificación de plaguicidas en muestras de suelo, empleando acetonitrilo como solvente de extracción. Para el caso del clorpirifos se reporta una extracción por agitación con solvente de acetonitrilo porcentajes de recuperación que oscilan entre 90-99%. (39)

Los métodos analíticos para la cuantificación de plaguicidas en suelo, se basan en propiedades químicas como por ejemplo las enzimáticas, propiedades espectroscópicas, de retención de moléculas como los métodos cromatográficos, emisión de rayos β a partir de isótopos radiactivos y a partir de sus propiedades toxicológicas (41).

Los métodos cromatográficos son usados por su alta sensibilidad y además permite la cuantificación de varios plaguicidas de forma simultánea (42). Zhang, Q, 2011 aplicó la técnica HPLC para el análisis de residuos de CLORPIRIFOS y su metabolito TCP en suelos y manzanas con porcentajes de detección, de recuperación y rangos lineales óptimos para la cuantificación de estos analitos

5.3.1. Validación de métodos de cuantificación

El proceso de validación del método de análisis consiste en demostrar experimentalmente la funcionalidad del método para las aplicaciones analíticas propuestas, como también en obtener la evidencia documentada del procedimiento seguido, lo cual debe corresponder a un diseño experimental, un tratamiento estadístico apropiado y unos criterios de aceptación de acuerdo con los atributos que describen cada método.

En un ensayo de validación, deben considerarse los siguientes parámetros: a) Selectividad, en la cual la señal medible es debida sólo a la presencia del analito, es decir, no se encuentran interferentes en la matriz de muestra, b) Linealidad, es la proporcionalidad entre la concentración del analito y la variable respuesta, c) Precisión, indica el grado de dispersión de las medidas alrededor de un valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea, d) Exactitud, también conocido como error sistemático o tendencia, corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero y e) Sensibilidad, corresponde a la mínima cantidad de analito que puede producir un resultado significativo. Se diferencian dos tipos de sensibilidad, la de calibración, que corresponde a la pendiente de la curva de calibración y la analítica, correspondiente al cociente entre la sensibilidad de calibración y la desviación estándar de la media. Los parámetros que permiten la evaluación de la sensibilidad son el límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ). Límite de detección, corresponde a la menor concentración de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra, en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración y límite de cuantificación corresponde a la menor concentración del analito que puede estimarse con precisión y exactitud razonables en las condiciones establecidas y se expresa también en unidades de concentración (43; 44).

5.4. Adsorción-desorción de plaguicidas en suelos

La retención es uno de los fenómenos a los que son sometidos los plaguicidas a su llegada al suelo y tiene una gran influencia sobre el destino de plaguicidas y de otros compuestos orgánicos, en particular sobre su lixiviación, escorrentía y su bio-disponibilidad (45). Además, la retención es un proceso que inmoviliza al plaguicida y sus productos de transformación en el tiempo, gracias a diferentes fenómenos fisicoquímicos y biológicos. Fisicoquímicos como transporte por difusión molecular, interacciones físicas con las superficies de los sorbentes y reacciones químicas con los constituyentes orgánicos, y por otro lado, fenómenos biológicos debido a interacciones con las paredes de los microorganismos del suelo y las raíces o por la absorción de un organismo vivo (23; 41).

La adsorción es el resultado de una reacción reversible (adsorción-desorción), la cual genera un equilibrio entre la concentración de un compuesto químico en solución acuosa sobre un sólido específico. Uno de los indicadores claves de la tendencia de un plaguicida a adsorberse es el coeficiente distribución (K_D), basado en la relación del plaguicida en solución y el adsorbido una vez se ha alcanzado el equilibrio, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$K_d = \frac{C_s^{ads}(eq)}{C_{aq}^{ads}(eq)} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde:

C_s^{ads} Concentración del plaguicida adsorbida en el suelo en el equilibrio ($\mu\text{g/g}$)

C_{aq}^{ads} Concentración del plaguicida en la fase acuosa ($\mu\text{g/mL}$)

Existen diferentes métodos experimentales para la determinación de K_D como son: el método indirecto o directo en paralelo (Batch Equilibration), la obtención del equilibrio por Head Space, el método de la lixiviación en equilibrio a través de columnas de suelo, el método de movimiento miscible, la difusión, la purga de gas, el equilibrio de flujo, medición en el campo, el método indirecto o directo en paralelo junto con ultrafiltración, el quenching de la fluorescencia, el método de diálisis en equilibrio, separación por fase reversa,

incremento de la solubilidad, adsorción sobre el vidrio y la titración de los ácidos húmicos, de estas metodologías el método Bach es el más usado (46; 47)

La distribución es a menudo expresada en términos del contenido de carbono orgánico del suelo, como coeficiente de distribución suelo-carbono orgánico, (K_{oc}). De acuerdo a Calvete, et al, 2005 el cálculo del K_{oc} es específico para cada plaguicida y se expresa de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$K_{OC} = K_D \times \frac{100}{\%C_{org}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

$\%C_{org}$: Porcentaje de carbono orgánico en el suelo

K_D : Coeficiente de distribución

5.4.1. Isotermas de adsorción y desorción

Los fenómenos de adsorción y desorción en muestras de suelo se describen mediante isotermas. La isoterma de adsorción representa la cantidad adsorbida de plaguicida por unidad de suelo seco frente a la concentración en equilibrio a una temperatura constante; mientras que, las isotermas de desorción representan la cantidad adsorbida de plaguicidas por unidad de suelos seco frente a la concentración en equilibrio después de una o varias desorciones con una solución de CaCl_2 0,01 M (OECD, 2001). Existen diversos modelos matemáticos como por ejemplo, el de Langmuir, BET, Gibbs, lineal, Freundlich, entre otros que se usan para ajustar las isotermas de adsorción y desorción. Con frecuencia los modelos de Langmuir, BET y Gibbs fallan al describir los datos de adsorción de los plaguicidas en los suelos y los modelos de Freundlich y lineales describen mejor dichos datos (23).

En la Figura 3 se muestra algunas de las isotermas que se usan para explicar la adsorción de compuestos orgánicos en adsorbentes naturales, tales como el suelo y los sedimentos.

En particular, la isoterma de BET se utiliza para la adsorción de compuestos orgánicos en fase de vapor (48).

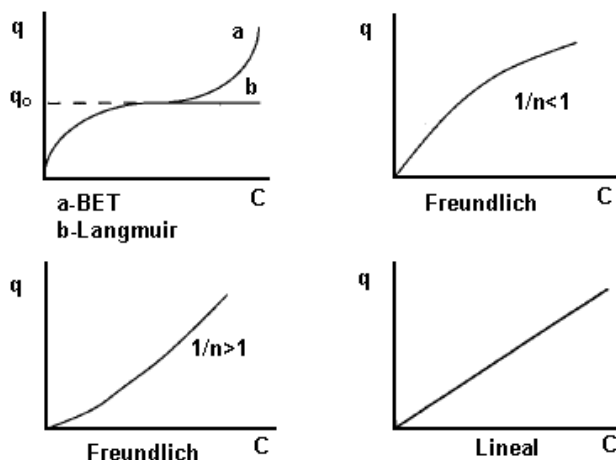


Figura 3. Isothermas que describen la adsorción de compuestos orgánicos en fase acuosa y de vapor (BET) en adsorbentes naturales. Calvet, 1980. **(49)**

5.4.1.1. Isotherma de Freundlich

La OECD (2001), recomienda ajustar los datos de adsorción de los plaguicidas al modelo de Freundlich, puesto que esta ecuación tiene en cuenta la heterogeneidad de los suelos. Este modelo (Ecuación 3) fue propuesto en forma empírica para representar matemáticamente los fenómenos de adsorción (50).

$$C_s^{ads} = K_f^{ads} \times (C_{aq}^{ads})^{1/n} \tag{Ecuación 3}$$

donde

C_s^{ads} es la cantidad de sustancia adsorbida por unidad de adsorbente

(C_{aq}^{ads}) es la concentración en equilibrio del plaguicida en la solución y

K_f^{ads} y $1/n$ son constantes empíricas de cada sistema.

K_f^{ads} hace referencia a la capacidad de adsorción del adsorbente y $1/n$ está relacionado con la magnitud relativa y la energía asociada a el proceso de adsorción.

Un valor de $1/n=1$ indica que la adsorción es lineal, por lo tanto, las energías de adsorción son iguales en todos los sitios, esta ocurre generalmente a concentraciones muy bajas de soluto y de sorbente. Una valor $1/n>1$ representa una isoterma del tipo S (isoterma de afinidad por el sorbente), donde la energía incrementa con el incremento de los sitios activos de adsorción, esto induce una fuerte adsorción del solvente debido a una atracción dentro de las capas del adsorbente, penetración del soluto en el adsorbente. Las Isotermas tipo S, son comunes en suelos con fracciones finas y altos contenidos de materia orgánica. Por otro lado, los valores de $1/n<1$ representan una isoterma del tipo L (Isoterma del tipo Langmuir), donde la energía disminuye con el incremento de la superficie, indicando una mínima competencia del solvente por los sitios activos del adsorbente o el adsorbato es una molécula plana. Las isotermas del tipo Freundlich pueden resultar de la sobreposición de varias isotermas del tipo Langmuir con varios fenómenos ocurriendo en diferentes sitios del adsorbente y mostrando diferentes energías de interacción (51)

5.4.1.2. Isoterma de Langmuir

La Isoterma de Langmuir (Ecuación 4), propuesta por O'Connor y Connolly, se utiliza para describir la adsorción de gases por superficies sólidas, pero ha sido adaptada para describir el fenómenos de adsorción en sólidos naturales a partir de una solución acuosa (48).

$$\frac{C_{aq}^{ads}(eq)}{C_s^{ads}} = \frac{1}{K*n} + \frac{1}{K} C_{aq}^{ads}(eq) \quad \text{Ecuación 4}$$

donde

C_s^{ads} : Concentración de Clorpirifos en el suelo en el equilibrio de adsorción (masa/masa)

$C_{aq}^{ads}(eq)$: Concentración de Clorpirifos en la solución en el equilibrio de adsorción (masa/volumen)

K: Coeficiente de adsorción de langmüir (volumen/ masa).

n: La energías asociada a los procesos de adsorción

En el modelo de Langmuir la masa de soluto adsorbida por unidad de adsorbente, se incrementa linealmente con la concentración de soluto en la fase acuosa, además se aproxima a un valor asintótico, cuando los sitios de adsorción se acercan a la saturación. Se supone que la energía de adsorción es la misma en todos los sitios y es independiente del grado de cobertura de la superficie, la adsorción ocurre solamente en "sitios" localizados donde no hay interacción con moléculas adyacentes y la máxima adsorción representa una monocapa cubierta. Supuestos que hacen que las isotermas de Langmuir sean empleadas en pocos casos para la adsorción de compuestos orgánicos en sistemas heterogéneos como el suelo

5.4.1.3. Isoterma lineal

La representación lineal de una isoterma de adsorción representa una partición del soluto entre la fase líquida y sólida hasta un máximo de retención (Ecuación 5).

$$C_s^{ads}(eq) = K_D C_{aq}^{ads}(eq) \quad \text{Ecuación 5}$$

donde

$C_{aq}^{ads}(eq)$: Concentración de clorpirifos en la solución en el equilibrio de adsorción (masa/volumen)

K_D : Coeficiente de distribución (volumen/ masa).

Tres condiciones favorecen la existencia de este tipo de isotermas (41): a) Un sustrato sólido poroso compuesto de moléculas flexibles y que tienen diferentes regiones de cristalinidad, b) Un soluto que posee una mayor afinidad por el sustrato que por el solvente y c) Una gran capacidad de penetración de la fase sólida por el soluto. Estas propiedades se favorecen con solventes orgánicos y polímeros orgánicos que poseen una gran afinidad por moléculas de solutos orgánicos.

En los suelos, el sistema está constituido por una fase sólida orgánica y mineral y una fase acuosa. Los minerales de arcillas y sustancias húmicas cumplen con la primera condición, las moléculas orgánicas poco solubles satisfacen la segunda. La tercera no es de fácil interpretación en este tipo de sustrato.

5.5. Degradación de Plaguicidas

La degradación o transformación de plaguicidas tiene lugar especialmente en la fase líquida, aunque algunas de las transformaciones se produzcan a nivel de interfases. Es uno de los procesos claves del destino final de los plaguicidas en suelo y sedimentos ya que juega un papel importante en su disipación y eliminación de ambientes naturales. La degradación de los plaguicidas se da a través de transformaciones abióticas (Hidrólisis, redox, conjugación y fotorreacciones) cambios que conducen a diversos productos intermedios hasta completar la degradación a moléculas inorgánicas (mineralización) y bióticas o biotransformación (metabolismo directo, comensalismo, conjugación y condensación) (23)

Entre las primeras, la hidrólisis que da en forma generalizada, las reacciones de oxidación que afectan por ejemplo a plaguicidas organofosforados, las de reducción, deshalogenación, la desalquilación, hidroxilación o condensación son las más importantes y se dan tanto sobre los contaminantes libres como sobre aquellos sorbidos o retenidos sobre minerales de arcilla y complejos húmico-arcillosos.

Las transformaciones inducidas por organismos vivos están relacionadas con la movilidad y persistencia de los plaguicidas en suelo a través de reacciones microbianas donde los plaguicidas pasan a convertirse en fuentes energéticas para la biomasa del suelo, transformaciones de compuestos orgánicos incluyen las que afectan al ion amonio, a los nitratos, a los compuestos del fósforo y a las sustancias metálicas; y los procesos metabólicos conducentes a las transformaciones de sustancias orgánicas con carácter tóxico.

5.5.1. Degradación de clorpirifos

La vía más importante de consumo del clorpirifos es la biodegradación, y el principal subproducto es el TCP (Figura 4) tanto en suelo como en aguas (36). El TCP como metabolito primario es más resistente a la degradación microbiana que el clorpirifos, su vida media varía de acuerdo a su concentración. A una concentración de 1mg/kg la vida media es en promedio de dos meses, a una concentración mayor 10mg/kg el metabolismo se retarda, con una vida media de más de dos años cuando es aplicado al suelo (5). El TCP se degrada TMP y CO₂. La degradación de TMP puede ser reversible y forma TCP y CO₂ con vida media del orden de 1-2 meses².

La hidrólisis también participa en la degradación de clorpirifos en suelo. En diferentes suelos estériles con aplicación de 10mg/Kg de ¹⁴clorpirifos, incubado en oscuridad, humedad a capacidad de campo por cuatro meses, este fue hidrolizado a la forma TCP, reacción catalizada por iones metálicos y enzimas. En suelos no estériles, la degradación fue aún mayor dando ¹⁴CO₂ como producto de degradación, lo cual demuestra la importancia de la población microbiana (52)

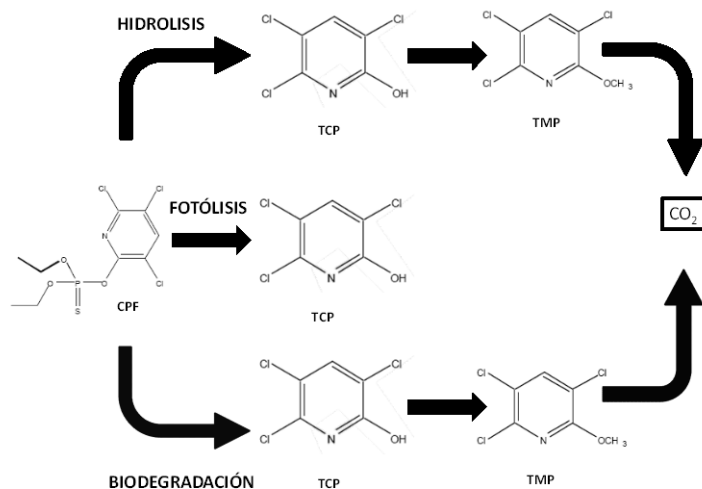


Figura 4. Rutas de degradación del clorpirifos. Fuente: adaptada de Das, 2015

² The NRA. Review of CHLORPYRIFOS. Septiembre. 2000. Volumen 1[disponible en Internet. Consultado el 2 de marzo de 2009]

La degradación vía reacciones de fotolíticas son más significativas a nivel de agua que de suelo, esta vía al igual que biodegradación e hidrólisis tiene como producto principal de degradación el TCP (53).

La humedad y aireación afectan las rutas de degradación en el suelo ya que influyen en el tipo de poblaciones y actividad de los microorganismos. En condiciones naturales el contenido en agua del suelo dependerá de la frecuencia y el volumen de las precipitaciones así como del poder de infiltración y capacidad de retención del suelo. El contenido óptimo en agua se sitúa alrededor del 80 % de la capacidad de campo del suelo, de modo que un periodo de sequía conduce a la disminución de la actividad microbiana, y a la inversa, un exceso de agua puede llevar al medio a condiciones anaeróbicas que inhiben la biodegradación del plaguicida (15). Chai, encontró que la degradación de clorpirifos en suelos tropicales fue más rápida en suelos húmedos ($t_{1/2}$, 53.3-77.0 días), comparado con el suelo seco ($t_{1/2}$, 49.5-120.0 días) y con suelos inundados ($t_{1/2}$, 63.0-124.0 días) (54)

5.5.2. Respiración microbiana

La degradación de la materia orgánica de un suelo, se realiza a través de organismos descomponedores que toman a la materia orgánica como hábitat, fuente de carbono y energía. La degradación de esta, produce CO_2 fundamentalmente, a través del metabolismo de la microflora y de las raíces de las plantas, siendo la descomposición microbiana de compuestos orgánicos el proceso más importante que lo genera (55). La evolución de CO_2 , es un parámetro que representa una medida de la respiración del suelo, la cual es la suma de respiración microbiana y la respiración de las raíces, las evidencias muestran que los cambios ambientales generan un cambio en estos dos parámetros, donde la respiración microbiana es controlada predominantemente por la disponibilidad del agua del suelo e influencia la oxidación microbiana de compuestos de carbono lábiles, mientras que las respiración de las raíces es afectada por la fotosíntesis y es sensible a la variación de la temperatura (56).

Las mediciones de CO₂, proveen una indicación sensitiva de la respuesta de la actividad microbiana a variaciones de temperatura y humedad, los efectos de humedecimiento – secado, la aplicación de agroquímicos o elementos metálicos, la exudación de sustancias supresoras y el manejo del medio, entre otros. A pesar de sus limitaciones, la respiración continúa siendo el método más popular que se usa como indicador de la actividad microbiana y de la descomposición de sustratos específicos del suelo. Estos parámetros indican de manera fehaciente la mineralización que ocurre en el sustrato orgánico del suelo y son indicadores de la calidad de la materia orgánica (57)

La metodología para estimar la actividad microbiana, consiste en determinar la producción de O₂ en el medio o bien la concentración de CO₂ desprendido (función de la actividad biológica y del contenido del suelo en carbono orgánico fácilmente mineralizable), mediante la técnica de incubación estática que captura el producto de mineralización en una solución alcalina durante un periodo de tiempo bajo condiciones ambientales óptimas (55)

5.6. Movilidad de plaguicidas en suelo

El destino de un plaguicida en suelo depende del: i) el clima (temperatura, precipitaciones), ii) el suelo (Mineralogía, materia orgánica, estructura, organismos vivos), iii) prácticas agrícolas (sucesión de cultivos, tratamientos fitosanitarios, labranza y adición de materia orgánica exógena) y iv) sus propiedades moleculares (solubilidad, capacidad de adsorción, volatilidad, degradabilidad). Estos factores afectan y se relacionan con procesos como la retención y degradación, los cuales ocurren simultánea o sucesivamente. (41)

Muchos plaguicidas no permanecen en el lugar de su aplicación, sino que se distribuyen en diferentes compartimientos ambientales como son: suelo, aire y biota. Este movimiento está asociado a diferentes mecanismos que incluyen, volatilización (aire), lixiviación (aguas subterráneas), escorrentía (agua superficial), adsorción-desorción (suelo) y degradación (suelo, agua y aire). La adsorción-desorción (retención) y la degradación son dos procesos que permiten evaluar la movilidad de un plaguicida una vez está en el suelo (58).

Las interacciones entre la superficie del suelo y el plaguicida controlan su movilidad y disponibilidad. Con base en diferentes medidas y estudios de suelos se sugirió una escala

de movilidad teniendo en cuenta el K_{oc} (46). En la Tabla 3, se observa la escala, el tipo de movilidad y algunos ejemplos para los plaguicidas.

Tabla 3. Escala, tipo de movilidad y ejemplos

K_{oc}	Tipo de movilidad	Ejemplos
>5000	Inmóvil	Clorpirifos, Dieldrin, paraquat
2000-5000	Movilidad Baja	Endosulfan, glifosato
500-2000	Ligeramente móvil	Malatión, linuron
150-500	Movilidad media	Carbaril, diazinon
50-150	Movilidad alta	Atrazina, simazina
0-50	Movilidad muy alta	Aldicarb, 2,4-D

Fuente: Hamilton y Crossley, 2010. (46)

La adsorción y desorción del clorpirifos depende de las propiedades físicas y químicas de los suelos; por ejemplo, este presenta una baja movilidad en suelos franco-limoso y franco-arcilloso y se cataloga como inmóvil en suelos arcillosos (Tabla 3 y 4)

Tabla 4. Parámetros de adsorción del clorpirifos en diferentes tipos de suelo

TIPO DE SUELO	pH	CARBONO ORGÁNICO (%)	A/L/AR (%)	K_{oc} (Ads/Des)
A	6.5	0.2	93/3/4	15500/20600
F-A	6.5	0.4	54/36/10	6910/8160
F-L	7.1	1.2	14/68/18	4690/5990
F-AR	7.0	1.4	24/48/28	4450/3420

A:Arenoso F-A: Franco Arenos F-L: Franco Limoso F-AR: Franco Arcilloso Fuente: The NRA Review of CHLORPYRIFOS. September .2000. Volumen 1[disponible en Internet]

La adsorción de clorpirifos en los minerales depende del tipo y del pH, muestra una mayor adsorción con arcillas del tipo mormorillonita que con gibsita y caolinita, debido a la presencia de microporos. En mormorillonita, a valores bajos de pH, se da una rápida adsorción en la superficie externa del mineral, seguida de una difusión a las regiones de microporos, mientras que a pH superiores a 6 se incrementa a carga negativa superficial obteniéndose una baja adsorción (59)

Según Wu y Laird, 2004, en su estudio de la interacción de clorpirifos con esmectitas, ácidos húmicos saturados con calcio y sedimentos naturales en sistemas acuosos, encontraron una baja adsorción con esmectitas y sedimentos naturales y una fuerte adsorción con los

ácidos húmicos, esto implica que la naturaleza de los materiales orgánicos e inorgánicos influyen en la adsorción y desorción del clorpirifos y su comportamiento en sistemas acuosos, donde la presencia de mayor contenido de carbono orgánico induce una mayor adsorción (60).

5.6.1. Materia compostada como barrera de movilidad de plaguicidas en suelo

La compostación es la conversión de desechos orgánicos a fin de obtener un producto (el compost) higienizado, rico en humus, relativamente estabilizado, que mejore las condiciones del suelo y sirva de fertilizante para las plantas (28). Estas características se logran a través de procesos biológicos, químicos y físicos que ocurren durante la compostación, que conforman a este como un sistema ecológico y dinámico, donde los cambios químicos están definidos por las condiciones del proceso, la calidad del material inicial en interacción con la comunidad biótica. Si estos procesos no se alcanzan, los compost permanecen inmaduros, con sus respectivos problemas asociados como: olores, contaminación ambiental, presencia de insectos nocivos, fitotoxicidad, entre otros. (61; 62)

En las últimas décadas el uso de aditivos de alto contenido de materia orgánica se ha implementado no solo para mejorar propiedades fisicoquímicas del suelo e incrementar la fertilidad, sino también, reducir la movilidad e incrementar la retención y degradación de compuestos orgánicos como plaguicidas (63; 64; 65). Jones y Huang, 2013 sugieren que sustancias húmicas derivadas de compost podrían reducir potencialmente la toxicidad de clorpirifos.

Se han realizado diferentes estudios para comprender la influencia de la materia orgánica sobre la adsorción y desorción de clorpirifos. La adsorción está significativamente correlacionada con el contenido de carbono orgánico y la materia orgánica, donde a mayor contenido de materia orgánica mayor es el proceso de retención del plaguicida en suelo. (23)

Se ha estudiado que la materia orgánica se compone de diferentes fracciones dentro de las cuales se incluyen los ácido húmicos (figura 5), ácidos fúlvicos y humininas, siendo los ácidos húmicos los que facilitan la capacidad complejante de contaminantes como metales traza, hidrocarburos aromáticos policíclicos y plaguicidas (66; 67)

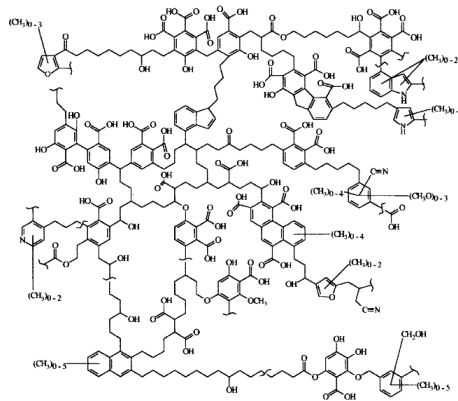


Figura 5. Propuesta estructural de un ácido húmico propuesta por Schulten and Schnitzer citada por: Jones, 1998 (67)

5.6.1.1. El lombricompost como estrategia de remediación de plaguicidas en suelo

El lombricompost, es un proceso de estabilización de materia orgánica en condiciones aeróbicas mesófilas a través de la acción conjunta de las lombrices y microorganismos, se ha utilizado con éxito en el tratamiento de plagas y enfermedades en plantas, y además permite incrementar la productividad es los cultivos (68). Es el resultado de la degradación biológica de la materia orgánica obtenida de las deyecciones de lombrices de recursos industriales, urbanos, y/o de la agricultura. La lombrices ingieren de los materiales y los excretan en como una mezcla de tierra y materia orgánica, estos productos poseen una alta humedad y capacidad de intercambio catiónico se caracteriza por se biorregulador y corrector del suelo cuya característica fundamental es la bioestabilidad, pues no da lugar a fermentación o putrefacción, posee una elevada solubilización, debido a la composición enzimática y bacteriana y proporciona una rápida asimilación por las raíces de las plantas (69; 70)

Fernández-Bayo y colaboradores, en su estudio sobre la adsorción/desorción de un plaguicida sobre un lombricompost, encontraron que éste aumenta el potencial de

adsorción del plaguicida en el suelo debido al incremento de sitios de activos, lo que disminuye el riesgo de lixiviación a las aguas subterráneas y posterior contaminación de los cuerpos de agua (71)

5.6.1.2. Parámetros de la evaluación de madurez o estabilidad de un compost

La aplicación de compost inmaduro al suelo, trae consigo un alto crecimiento de la población microbiana, lo cual puede ocasionar una mineralización de la materia orgánica nativa del suelo, efecto denominado “Priming”, además, de un bloqueo biológico del nitrógeno asimilable del suelo por las poblaciones de microorganismos y por lo tanto una deficiencia en el cultivo. Otros efectos son, incorporación de agentes fitotóxicos, descenso del O_2 a nivel de rizósfera, creación de condiciones reductoras, entre otros. (72). Es por esto que es importante estimar el grado de madurez de un compost.

Se ha establecido, que no existe una definición universal de la madurez de un compost, se plantea que corresponde a un nivel particular de estabilidad biológica y de actividad física y química que permite a la biomasa transformada ser utilizada de inmediato para la producción de cultivos, siendo también un factor importante en los procesos de retención (73). Se han utilizado análisis físicos y químicos de la fracción total de los extractos acuosos de compost como criterio de su madurez y calidad donde se relacionan parámetros como: composición elemental, relación carbono-nitrógeno (C/N), capacidad de intercambio catiónico (CIC), nitratos (NO_3^-), amonio (NH_4^+), pH, y la relación de longitudes de onda E_4/E_6 . (74). También se reportan como criterios de estabilidad, el contenido de lignina, los índices de humificación, espectros IR y la composición nutricional del compost, así como el contenido de materia orgánica (61; 75)

5.7. Estimación del índice de GUS y PBT

La estimación del impacto ambiental de pesticidas es de importancia para la prevención de la contaminación del ambiente. Uno de los primeros objetivos de los métodos de estimación

es definir las condiciones de seguridad del empleo de agroquímicos para el consumidor, el operario y el ambiente. Son muchos los factores que determinan cuando un compuesto químico es aceptable desde el punto de vista toxicológico y si posee un perfil ambiental adecuado. El conocimiento general de las propiedades físico-químicas y ecotoxicológicas de los pesticidas proporciona un mejor entendimiento de los procesos implicados en su distribución en los diferentes compartimentos ambientales. (15)

El empleo de índices de impacto proporciona un mayor nivel de precisión en la evaluación de riesgos. Requieren algunos datos de entrada como las condiciones de aplicación, propiedades del medio, toxicidad del xenobiótico, entre otros y conducen a unos mejores resultados en la estimación de los impactos en el agua, el suelo, el agricultor

Los índices seleccionados no son resultado de un análisis exhaustivo de las fuentes bibliográficas, sin embargo son métodos sencillos que permiten una estimación de los impactos de clorpirifos en el suelo de estudio

5.7.1. Índice de lixiviación GUS (Groundwater Ubiquity Score)

Este índice utiliza parámetros fisicoquímicos para estimar el nivel de movilidad del plaguicida en el suelo como se muestra a continuación:

$$GUS = \log t_{1/2} (4 - \log K_{oc}) \quad \text{Ecuación 6}$$

Valores del índice *GUS* superiores a 2.8 indican un alto potencial de contaminación de la capa freática. Poseen riesgo intermedios de lixiviación valores del índice comprendidos entre 2.8 y 1.8 y, un riesgo débil aquellos valores inferiores a 1.8. En caso de valores de $t_{1/2}$ pequeños y altos valores de K_{oc} , este índice predice valores negativos (76)

5.7.2. Índice PBT (Percolación, Bioacumulación y Toxicidad)

Gómez de Barreda et al. (1998) citado por (15), propusieron integrar parámetros de toxicidad y bioacumulación sugiriendo el siguiente índice:

$$PBT = \frac{5 \cdot GUS + \text{Log}K_{ow}}{\text{log}LD_{50}} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde *GUS* es el índice de lixiviación de Gustafson (1989), anteriormente descrito, K_{ow} es el coeficiente de partición octanol-agua, y LD_{50} la dosis letal aguda. Valores de *PBT* superiores a 8 se consideran agresivos, valores de entre 4 y 8 poseen riesgo intermedio y valores inferiores a 4 se consideran productos menos agresivos.

6. Metodología

La metodología comprende cuatro etapas que permitieron alcanzar los objetivos propuestos. En la **etapa 1**, se seleccionó y caracterizó el suelo y se estimó la madurez del lombricompost, para el estudio de la retención y degradación del clorpirifos, la **etapa 2** se implementó la técnica HPLC-UV para la cuantificación del plaguicida en el suelo, posteriormente en la **etapa 3**, se evaluó los procesos de adsorción y desorción del plaguicida, en la **etapa 4**, se valoró la degradación del clorpirifos en suelo y por último en la **etapa 5**, se estimó los impactos ambientales mediante el empleo del índice de lixiviación *GUS* y el índice *PBT*

6.1. Etapa 1. Obtención y Análisis del suelo de estudio y estimación de la madurez del lombricompost

6.1.1. Obtención del suelo

Ubicación geográfica: El suelo se tomó en el Corregimiento Potrerillo a 13 Km de Palmira a una altura de 1400 msnm. Con coordenadas geográficas N=03°33'32.1" y W=076°30'4.11" (Figura 6). Las muestras de suelo corresponden a zonas de la finca en donde no se aplican Organofosforados para el control de plagas (exentas de clorpirifos) además con bajo en materia orgánica.

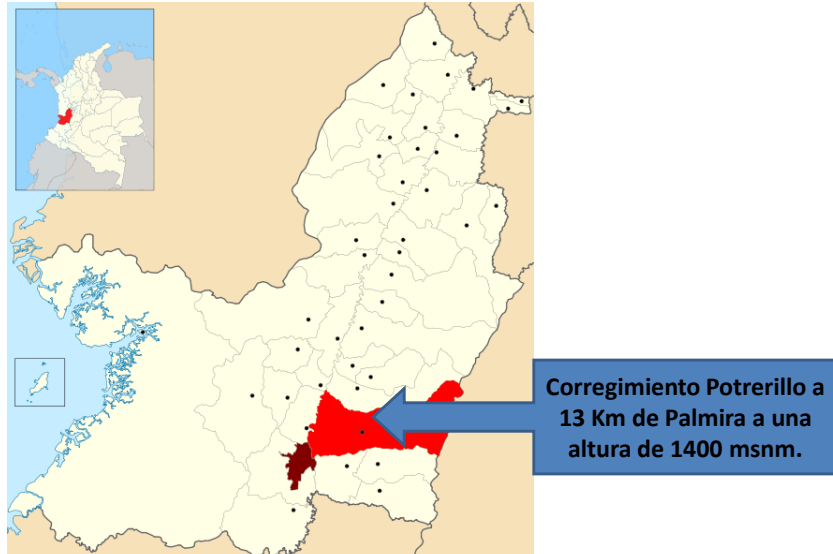


Figura 6. Ubicación geográfica de la muestra de suelo. Fuente: adaptada de google map

6.1.2. Toma de muestra

Se seleccionó una unidad experimental considerando un suelo sin aplicación de clorpirifos. La muestra se tomó en el horizonte A, con una profundidad de 30cm, la parcela se delimitó con una cuadrícula de 400 m² y las unidades de muestreo separadas cada 5 m, tomando 25 sub-muestras de 1kg para formar la correspondiente muestra compuesta (Figura 7)

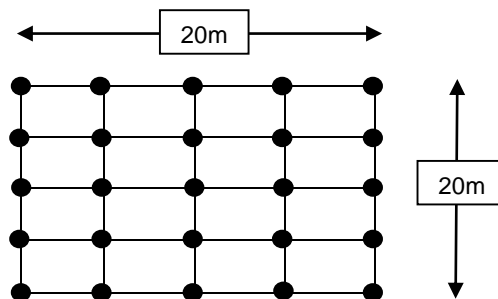


Figura 7. Esquema de cuadrícula para la toma de muestra Fuente: adaptada de (77)

6.1.3. Caracterización física y química del suelo

La muestra compuesta se secó a temperatura ambiente y se tamizó por malla No 10. Las propiedades físicas y químicas se determinaron de acuerdo a la NTC ISO/IEC 17025:2005, siguiendo la metodología descrita por el IGAC (2006) y las metodologías estandarizadas en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca (78) y comprende las siguiente determinaciones.

6.1.3.1. Análisis físicos

Humedad. Se determinó mediante método gravimétrico, para lo cual se pesó el suelo en una cápsula tarada previamente y se introdujo en estufa por 24 horas a 105°C hasta peso constante. La diferencia de pesos determinó la humedad del suelo.

Textura. Se utilizó el método de Bouyoucos, basado en la Ley de Stokes, que consistió en determinar la cantidad de sólidos en suspensión por medio del hidrómetro. La profundidad del centro de flotación del hidrómetro varía con la densidad de la suspensión y también con la textura.

Se midió la densidad de la muestra en agua, con un hidrómetro a diferentes tiempos: la primera se tomó a los 40 segundos de preparada la suspensión, tiempo en el cual se han sedimentado las arenas, midiéndose la densidad de limos y arcillas. Luego se tomó otra lectura a las 2 horas en el cual se han sedimentado los limos, quedando en suspensión las arcillas, midiéndose la densidad de ellas.

Densidad aparente. La determinación de la densidad aparente del suelo, se basa en el método de los anillos de Kopecky, para el cual se empleó un cilindro de 70 mm de alto por 70 mm de diámetro, y un volumen total de 244 cm³.

Al cilindro metálico se le agregó una película fina de aceite en toda su superficie para facilitar su penetración en el suelo. Posteriormente se colocó en la superficie del suelo y se golpeó por la parte superior hasta penetrar completamente en el interior del mismo. Este cilindro

se extrajo con la muestra de suelo en su interior y se eliminó cuidadosamente la parte de suelo que sobrepasaba los bordes superior e inferior del cilindro. Las muestras de suelo se depositaron en recipientes con peso conocido y se colocaron en una estufa a una temperatura constante de 105°C. El pesaje de las muestras se realizó con una balanza de 10 ± 0,01 kg de precisión, a intervalos de 2 h, hasta obtener valores constantes de las masas de suelo.

La densidad aparente del suelo se calculó a través de la siguiente ecuación:

$$D_a = \frac{m}{v} \quad \text{Ecuación 8}$$

donde

D_a = densidad aparente del suelo, g/cm³;

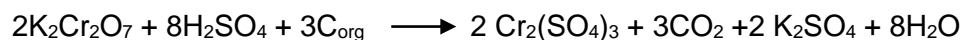
m = masa de la muestra del suelo después de secada, g;

v = volumen del cilindro para la toma de muestra, cm³

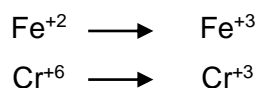
6.1.3.2. Análisis químicos

pH. Se determinó mediante el método potenciométrico, donde se realizó la determinación del pH con un electrodo de vidrio, teniendo en cuenta una relación agua suelo de 1:1.

Carbono Orgánico. Se realizó mediante el método Walkley Black, el cual consiste en oxidar el carbono orgánico presente en el suelo con un oxidante en medio ácido, utilizando como oxidante fuerte el K₂Cr₂O₇ 1 N y como medio, ácido sulfúrico concentrado. La reacción de oxidación de la M.O es:



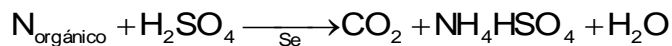
El exceso de $K_2Cr_2O_7$ 1 N se valoró volumétricamente con sulfato ferroso amónico utilizando como indicador ferroína. Las reacciones son las siguientes:



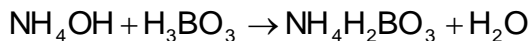
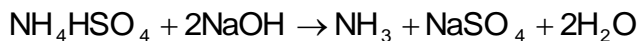
Capacidad de Intercambio Catiónico (C.I.C). Consistió en desplazar todos los cationes del suelo y reemplazarlos por iones NH_4^+ , el suelo seco, tamizado y muy fino, se satura con NH_4^+ . Posteriormente, se desplazó los iones NH_4^+ adsorbidos con NaCl, obteniéndose NH_4Cl en solución que se trató con formaldehído neutro. El HCl obtenido se tituló con NaOH 0,1 N.



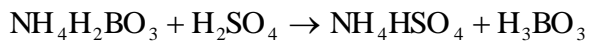
Nitrógeno total. Se siguió el método Kjeldhal, en el cual se realizó una oxidación con ácido sulfúrico, convirtiendo el nitrógeno en sulfato ácido de amonio como se muestra en



El sulfato ácido de amonio se descompone por medio de un exceso álcali para liberar el amoniaco el cual se recogió por destilación sobre ácido bórico



El borato de amonio se valoró con H_2SO_4 utilizando indicador mixto (Azul de metileno-rojo de metilo)



6.1.4. Evaluación de la madurez del lombricompost

Como indicadores de la madurez o estabilidad del lombricompost se determinaron los siguientes parámetros de humificación (Tabla 5)

Tabla 5. Parámetros de humificación

Parámetros de humificación	Equivalencia
Índice de humificación	$IH = CMOF / (CAF + CAH)$
Tasa de humificación (%)	$TH = (CAF + CAH / C\ Org) \times 100$
Relación	CAH / CAF

CMOF = Carbono de la materia orgánica fresca, CAF = Carbono de los ácidos fúlvicos, CAH = Carbono de los ácidos húmicos, C Org = Carbono orgánico, CMOH = Carbono de la materia orgánica humificada, IH = índice de humificación, TH = Tasa de humificación. Fuente: Bravo, 2016.

Para la determinación de los parámetros de humificación se realizó el fraccionamiento de la materia orgánica del lombricompost. El proceso inició con la separación de la materia orgánica humificada (MOH) de la materia orgánica fresca (MOF) por el método granulométrico de tamizaje en húmedo, fundamentado en la diferencia de tamaño molecular de dichas fracciones, donde la fracción menor de 53 μm corresponde a la MOH y la mayor a la MOF. Posteriormente, se obtuvieron las fracciones de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas basándose en el principio de solubilidad mediante extracción secuencial con soluciones básicas de tetraborato borato de sodio, pirofosfato de sodio e hidróxido de sodio 0.1N. Con los valores obtenidos del COT en las fracciones se realizó el cálculo de los diferentes parámetros de humificación, empleando las fórmulas indicadas en la Tabla 5.

(77)

6.2. Etapa 2. Implementación de la técnica HPLC para la cuantificación de Clorpirifos en suelo

6.2.1. Equipos, estándares y soluciones

Se utilizó un Cromatógrafo líquido de alta eficiencia (AGILENT Serie 1100), que incluye: Bomba Isocrática, Detector de Ultravioleta, Inyector manual (Loop de 20 μ L) y columna analítica C-18 (ZORBAX Eclipse Plus, 4,6 x 150 mm, 5 μ m).

Para las determinaciones se usó el estándar analítico de Clorpirifos CHEMSERVICE 99,5% de pureza. Se preparó una solución madre de 1000 μ g/mL en solvente de acetonitrilo y a partir de esta se realizaron las respectivas diluciones.

6.2.2. Análisis cuantitativo

Se llevó a cabo por HPLC, con detector de ultravioleta y una columna C18, fase móvil de acetonitrilo:agua:ácido acético (80:20:0,1v/v), un flujo de 1.0 mL min⁻¹ y un volumen de inyección de 20 μ L (39).

6.2.3. Parámetros cromatográficos

Se evaluaron algunos parámetros cromatográficos como: tiempo de retención (t_r), factor de capacidad (k'), factor de respuesta (Fr) y eficiencia (N).

6.2.4. Validación del sistema instrumental

La validación instrumental se llevó a cabo empleando soluciones de Clorpirifos y en acetonitrilo. En esta etapa se evaluó la especificidad, selectividad, linealidad, sensibilidad y precisión. Estos parámetros se analizaron mediante estadístico t de Student y el análisis de varianza (32).

6.2.4.1. Selectividad

Se preparó una solución de clorpirifos y se determinaron el t_r del plaguicida y el F_r a la longitud de onda de absorción del Clorpirifos. Se tomó también un blanco de reactivos, es decir el solvente en el que se disolvió el analito de referencia (acetonitrilo) y se inyectó en el HPLC. Se espera que el solvente no presente interferencias con la señal del Clorpirifos.

6.2.4.2. Linealidad

Se realizó tomando tres curvas de calibración y la linealidad se evaluó empleando el estadístico t de Student, en donde se analizan el intercepto (a), la pendiente (b) y el coeficiente de correlación (r). Se espera que el sistema instrumental seleccionado presente linealidad, donde la pendiente sea significativamente diferente de cero, el intercepto sea significativamente igual a cero, y que exista correlación entre la respuesta y la concentración, que haya regresión lineal entre la respuesta y la concentración y no se presente desvío de la linealidad.

6.2.4.3. Precisión instrumental

Se evaluó como repetibilidad y precisión intermedia en el rango de calibración.

Repetibilidad. Se prepararon soluciones del patrón de Clorpirifos a cada nivel según la curva de calibración y se inyectaron el mismo día, bajo las mismas condiciones. También se realizó una curva de calibración y los resultados se interpolaron en ésta, se determinaron los valores en unidades de concentración de cada una de ellas. Se evalúa mediante el % CV por nivel de concentración.

Precisión intermedia. Se prepararon soluciones de los patrones de Clorpirifos a cada nivel según la curva de calibración, y se inyectaron en días diferentes. Los resultados se interpolaron en la curva de calibración. Se determinaron los valores en unidades de concentración de cada una de ellas. El tratamiento estadístico realizado es igual al de repetibilidad.

6.2.4.4. Sensibilidad

El LOD y LOQ se determinaron preparando tres curvas de calibración en solvente e inyectándolas en el HPLC-UV, se espera que la sensibilidad instrumental sea suficiente para determinar los residuos de Clorpirifos al nivel de las concentraciones aplicadas por los agricultores de la región o a concentraciones menores.

6.2.5. Extracción

El suelo fortificado se sometió al proceso de extracción mediante agitación mecánica a 270 rpm durante una hora y media empleando como solvente acetonitrilo. El extracto se filtró a través de sulfato de sodio anhidro, posteriormente se tomó una alícuota de 10 mL se concentró en un rotoevaporador a 35 °C hasta un volumen aproximado de 0.5 mL y finalmente se realizó la transferencia cuantitativa del extracto, filtrándolo a través de membranas de nylon de 0.22 µm (58).

6.2.6. Validación de la metodología.

Se llevó a cabo empleando suelo blanco y Clorpirifos analítico en las concentraciones seleccionadas. Se evaluaron parámetros como la especificidad, selectividad, linealidad, LOD y LOQ, precisión, y exactitud. Los cuales se analizan estadísticamente mediante pruebas como test t de Student, ANOVA, prueba de límites de confianza, (32).

6.2.6.1. Especificidad – selectividad

Se inyectó inicialmente un blanco de matriz. Se determinó si el blanco de matriz presentaba alguna señal significativa en el tiempo de retención del analito. Se preparó extracto de matriz fortificado a una concentración conocida de Clorpirifos y se analizó en el sistema instrumental seleccionado. Se espera que el blanco de matriz no presente interferencias con el Clorpirifos.

6.2.6.2. Linealidad

Si el método analítico no presenta efecto matriz, las muestras se pueden analizar empleando curvas de calibración preparadas en solvente y la linealidad corresponde a la obtenida en la evaluación de la linealidad instrumental, de lo contrario se debe cuantificar con curvas preparadas en extracto de suelo blanco.

6.2.6.3. Precisión

Se evaluó como repetibilidad y precisión intermedia en el rango de calibración.

Repetibilidad. (Se evaluó a cinco niveles de concentración, cinco réplicas por nivel). Se tomaron porciones analíticas de matriz exentas de Clorpirifos, se fortificaron para obtener el nivel correspondiente, se realizó el proceso de extracción y se inyectaron las réplicas el

mismo día, bajo las mismas condiciones. También se realizó una curva de calibración en solvente cada día y los resultados de los análisis correspondientes se interpolaron en ésta, se determinaron los valores en unidades de concentración de cada una de ellas. Se determinó la normalidad de los valores obtenidos. Se evaluó mediante el % C.V

Precisión intermedia. Se evaluó a cinco niveles de concentración y cinco replicas por nivel. Se realizó el mismo procedimiento empleado en la evaluación de repetibilidad. Las porciones analíticas se fortificaron, extrajeron e inyectaron durante cinco días diferentes. También se realizó una curva de calibración cada día y los resultados de los análisis correspondientes se interpolaron en ésta. Se determinaron los valores en unidades de concentración de cada una de ellas. El tratamiento es igual al realizado en la evaluación de la repetibilidad. Se evalúa la homogeneidad de las varianzas para especificar los % C.V para el plaguicida en el rango de calibración estudiado.

6.2.6.4. Exactitud

Se evaluó como % R; con los resultados obtenidos de repetibilidad y precisión intermedia se calcularon los % R por nivel de concentración.

6.2.6.5. Límite de detección y de cuantificación

La evaluación se realizó mediante el método sugerido por la IUPAC. Se inyectó en el HPLC extracto blanco de matriz. Se determinó el ruido en el tiempo de retención correspondiente al del analito, (mínimo cinco réplicas). El promedio de estas áreas se interpoló en una curva de calibración. La concentración obtenida en $\mu\text{g/mL}$ se multiplicó por tres y por diez veces para el cálculo del límite de LOD y LOQ respectivamente. Estas concentraciones se convirtieron a mg/Kg de matriz y se compararon con los resultados obtenidos en los ensayos de LOD y LOQ instrumentales

6.2.7. Evaluación del efecto matriz

Para determinar el efecto de los componentes de la matriz sobre la función de calibración, se prepararon tres réplicas de la curva de calibración en solvente, tres réplicas de la misma curva de calibración en extracto de matriz blanco, se inyectaron en el HPLC y se determinaron las respuestas para cada uno de los niveles de calibración. Se espera que el método de análisis no presente efecto matriz, lo cual se evaluó mediante test pareado y el método de regresión lineal. También se calculó el porcentaje de efecto matriz como una aproximación cualitativa de dicho efecto y se muestran las curvas en solvente y en extracto (43).

6.3. Etapa 3. Evaluación del proceso de adsorción-desorción de Clorpirifos en suelo

Todos los experimentos de sorción fueron desarrollados por la técnica Bach siguiendo el protocolo estándar de la EPA (Environmental Protection Agency) contenido en “Fate Transport and Transformation Test Guideline. Sediment and Soil Adsorption/Desorption Isotherm” (50)

6.3.1. Principio del Método

6.3.1.1. Condiciones generales

Se empleó el método indirecto en paralelo (método Batch) utilizando volúmenes conocidos de la sustancia en concentraciones conocidas, preparadas en CaCl_2 0.01 M. Se adicionó al sustrato (suelo y mezclas suelo: compost de peso conocido y seco), se agitó la mezcla por un tiempo apropiado (tiempo necesario para alcanzar el equilibrio), posteriormente, las

suspensiones del suelo se centrifugaron, filtraron y la fase acuosa se analizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con detector Ultravioleta (HPLC- UV). Se realizaron disoluciones en CaCl_2 0,01 M de una solución madre de 1000 ppm en acetonitrilo para mejorar el proceso de centrifugación, simular la fuerza iónica de la solución del suelo y minimizar el intercambio catiónico (50).

6.3.1.2. Tratamiento de los datos

Una vez obtenidos los datos se realizaron los ajustes a las isothermas de Langmuir y Freundlich con el fin de determinar la mejor correlación

6.3.2. Condiciones del experimento.

Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente. Las condiciones de centrifugación permitieron la remoción de partículas mayores de $0.22 \mu\text{m}$ desde la solución. Adicionalmente la solución se sometió a un proceso de filtración a través de membranas de $0.22 \mu\text{m}$ es decir, el límite entre las partículas sólidas y coloidales. El método permite evaluar la adsorción y desorción del Clorpirifos en suelos y la mezcla con lombricompost.

6.3.3. Cinética de adsorción

Cinética de adsorción. En esta etapa se estableció el tiempo de equilibrio de adsorción, para ello se empleó la relación 1:2,5 (suelo/solución) y las determinaciones se realizaron 30, 60, 240, 480, 720 y 1440 minutos de tiempo de contacto entre el suelo y la solución de Clorpirifos, posteriormente, las soluciones se centrifugaron a 3600 rpm durante 25 minutos, se filtraron a través de membranas de $0,22 \mu\text{m}$ y se inyectaron en el HPLC-UV. Este estudio se efectuó a un nivel de concentración y tres réplicas por ensayo.

6.3.4. Isotermas de adsorción y desorción.

6.3.4.1. Isoterma de adsorción

Se seleccionaron cinco concentraciones de trabajo, en un rango de 30 a 150 mg/L de clorpirifos en CaCl_2 , utilizando el método de agitación Batch. Las soluciones iniciales de clorpirifos se inyectaron en el HPLC-UV para conocer la respuesta correspondiente a cada nivel de concentración estudiado. El experimento se realizó en tubos de vidrio de 8 mL. Se pesaron 2.0 g de sustrato seco y se añadieron 5.0 mL de la solución respectiva. Se agitó en un agitador mecánico a 170 rpm durante el tiempo establecido en la cinética de adsorción (tiempo necesario para alcanzar el equilibrio), se separó el sobrenadante por centrifugación a 3600 r.p.m durante 25 minutos, se filtró a través de membranas de $0.22 \mu\text{m}$ y se determinó la concentración de clorpirifos por HPLC-UV. La cantidad de plaguicida adsorbido por gramo de sustrato se calculó como la diferencia entre la cantidad inicial y la cantidad remanente en equilibrio. Se grafica la cantidad adsorbida por gramo de sustrato (C_s^{ads}) como función de la concentración de plaguicida en el equilibrio de adsorción (C_{aq}^{ads}).

6.3.4.1. Isoterma de desorción

Se realizó retirando la solución remanente del experimento de adsorción. Ante la imposibilidad de retirar totalmente la solución se pesó el sustrato y por diferencia se calculó la que aún permanecía. Se adicionaron nuevamente 5 mL de CaCl_2 0.01 M y se dejó en contacto la solución con el sustrato durante el tiempo establecido en la cinética de desorción, es decir el tiempo necesario para establecer el equilibrio de desorción. Se centrifugó nuevamente, se filtró a través de membranas de $0.22 \mu\text{m}$ y se determinó la concentración de Clorpirifos presente en la solución. La diferencia entre esta concentración adsorbida y la remanente se consideró desorbida por el sustrato. Se graficó la cantidad de plaguicida desorbido por gramo de sustrato (C_s^{des}) como función de la concentración de plaguicida en el equilibrio de desorción (C_{aq}^{des}).

6.3.5. Efecto del lombricompost sobre el proceso de adsorción-desorción del clorpirifos

Para evaluar el efecto del lombricompost sobre el proceso de adsorción-desorción se utilizó un lombricompost comercial con su respectiva caracterización y un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial, con tres tratamientos y tres réplicas por tratamiento, en donde: el Tratamiento 1 (T1) = suelo (100%); Tratamiento 2 (T2) = Suelo 80%-lombricompost 20% y el Tratamiento 3 (T3) = suelo 50%-lombricompost 50%.

6.4. Etapa 4. Degradación de Clorpirifos en suelo

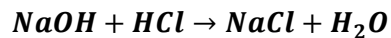
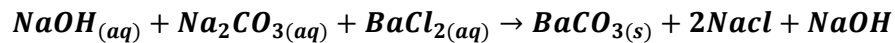
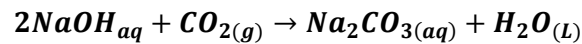
El objetivo de este ensayo es estudiar la degradación del clorpirifos mediante incubaciones bajo condiciones de laboratorio (Mosquera-Vivas et al., 2015; Mosquera-Vivas et al., 2010; Mamy y Barriuso 2007). Se emplearon los tratamientos T1, T2 y T3 con 6 tiempos de medición (0, 1, 7, 14, 21, 35 y 45), con un diseño experimental completamente al azar. Este ensayo de degradación permitió obtener los tiempos de vida media y la respiración de los microorganismos presentes en los sustratos (79; 80).

6.4.1. Incubaciones bajo condiciones de laboratorio

Para el ensayo de degradación se pesó 10 g de cada sustrato en base seca y se fortificó con una concentración de 1,5mg/Kg de Clorpirifos. Los sustratos fortificados se introdujeron en contenedores herméticos de 5000 ml de capacidad y dos viales de 20 ml de capacidad se introdujeron en los contenedores, el primero de ellos con 20 mL de una solución acuosa de NaOH 2.0M para atrapar el CO₂ producido en el proceso de degradación y el segundo con 10 ml H₂O para mantener la humedad relativa constante. Los sustratos se incubaron durante 0, 1, 7, 14, 21, 35 y 45 días a 25 ± 1 °C en oscuridad y con el 80% de la capacidad de campo. Después de cada día de incubación se extrajeron tres muestras por cada sustrato. La cuantificación de los extractos orgánicos, se realizó con cromatografía líquida y un detector UV-vis

6.4.2. Estimación de la actividad microbiana

Con el propósito de determinar si la degradación del clorpirifos es realizada por los microorganismos del suelo o del lombricompost se determinó la actividad microbiana mediante el método de respirometría, capturando el CO₂ producido en la incubación. Para ello, se retiraron los viales de NaOH de cada uno de los ensayos, se tomó una alícuota de 2mL y se agregó 5mL de BaCl₂ con el fin de precipitar el CO₂ capturado en forma de carbonato de Bario y el NaOH que no reaccionó y se tituló con HCl 1.0N, en las siguientes reacciones se muestra dicho proceso:



6.5. Etapa 5. Estimación del índice GUS y PBT

Con el propósito de complementar el estudio del proceso de retención del clorpirifos, se estimaron los índices GUS y PBT empleando los valores de K_{oc} , obtenidos en la etapa 3 y los valores de $t_{1/2}$ y k , obtenidos en condiciones de laboratorio en la etapa 4 (15).

7. Resultados y Discusión

7.1. Etapa 1. Obtención y Análisis del suelo de estudio y estimación de la madurez del lombricompost

7.1.1. Obtención y análisis del suelo de estudio

Como se observa en la tabla 6, la muestra de suelo se caracterizó física y químicamente, con el fin de determinar las propiedades aproximadas para el cual es aplicable la metodología de análisis de Clorpirifos que se validará.

Tabla 6. Análisis Físicos del suelo a estudiar

PARAMETRO*	VALOR	Interpretación
Orden	Inceptisol ¹	-----
Humedad Higroscópica	4.5%	bajo
Textura	Franco	adecuada
Arena	42.24%	adecuado
Limo	34.00%	adecuado
Arcilla	23.76%	adecuado
pH	6.58	neutro
Densidad Aparente	1.22	media
Carbono Orgánico	2.01%	medio
Materia Orgánica	3.47%	medio
Nitrógeno Total	0.87%	alto
Relación C/N	2.31	baja
CIC	13.87meq/g	medio
Material no cristalino	++	Común (15-30%)
Feldespatos	tr	Trazas (<5%)
Metahalosita	+	Presente (5-10%)
Integrados 2:1-2:2	+++	Abundante (30-50%)

¹Unidades cartográficas de suelos, plancha mapa de suelos, hoja No. 280, IGAC.

El suelo se clasificó como Franco esto indica que las fracciones están en una proporción tal, que ninguno de ellos domina de una manera significativa las propiedades del suelo, desde el punto de vista de la planta, esta clase textural es la que presenta un mejor equilibrio entre sus separados (35). Este tipo de suelos se caracterizan por ser ligeros, de buen drenaje interno y baja capacidad retentiva de agua y abonos. Los espacios entre partículas generados por el tamaño de las arenas (0.02-0.2 mm), permiten una mayor aireación del suelo, una baja retención de agua lo que hace susceptible al plaguicida a fenómenos de oxidación y volatilización, además facilita su proceso de transporte a través del suelo.

El pH del suelo es un factor determinante de la vida media. Por ejemplo, para el clorpirifos se ha estimado una vida media de 53 días a pH 5.90, 141.6 días a pH 6.11 y 10 días a pH 9.77 a 25°C (81), indicando que es fácilmente hidrolizable a pHs básicos, para el caso del suelo, se presentó un pH cercano a la neutralidad lo que permite una estabilidad del plaguicida durante la etapa experimental.

El suelo presentó un contenido de materia orgánica y carbono orgánico medio. A través de la determinación de carbono orgánico y nitrógeno total fue posible calcular la relación entre el contenido de estos dos importantes macronutrientes, encontrándose un valor de C/N de 2.31, lo que indica una alta mineralización de los compuestos orgánicos expresado en transformación del nitrógeno orgánico a nitrógeno mineral, en donde posiblemente se encuentre materia orgánica que no esté adecuadamente humificada, generando posibles pérdidas de plaguicida por procesos de lixiviación (82).

Presenta un CIC medio congruente con el contenido de materia orgánica. Algunos investigadores han encontrado correlación significativa entre la CIC y la capacidad de retención de plaguicidas en suelos. Sin embargo, es importante mencionar que principalmente las huminas y los ácidos húmicos son las fracciones de la materia orgánica responsables de la retención de estas sustancias, mientras que los ácidos fúlvicos facilitan la solubilización de los mismos y por ende su posibilidad de pérdidas por procesos de lixiviación (32).

7.1.2. Estimación de la madurez del lombricompost

La interpretación de los análisis fisicoquímicos del lombricompost (Tabla 7) se hace considerando la NTC 5167, donde se observa que bajo contenido de materia orgánica congruente a su CIC y a su contenido de carbono orgánico humificado, un pH adecuado y una relación C/N normal

Tabla 7. Análisis Fisicoquímicos del lombricompost

PARAMETRO*	VALOR	Interpretación
Humedad Higroscópica	4,50%	baja
pH	7,30	adecuada
Carbono Orgánico	13,0%	bajo
Materia Orgánica	22,41%	bajo
Nitrógeno Total	0,98%	bajo
Relación C/N	18,59	normal
CIC	24,56meq/g	baja

Fuente: datos suministrados por el productor

Tabla 8. Parámetros de humificación del lombricompost

Parámetros de humificación	valor
Índice de humificación (IH)	0,088
Tasa de humificación (TH)	7,38%
Relación CAH / CAF	1,7

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 8, se muestran los parámetros de humificación del lombricompost. El índice de humificación permite una clasificación para determinar la madurez de compost. En el caso de compost bien maduros, los valores de este índice deben ser menores a 1, para compost parcialmente madurados deben oscilar entre 2 y 1, y para compost inmaduros los valores son mayores a 2. Para el lombricompost de estudio, se encontró un valor de 0.088, valor acorde a su tasa de humificación (83), y una relación CAH/CAF > 1,6, (84), lo cual infiere, que el lombricompost se encuentra bien maduro.

7.2. Etapa 2. Evaluación de los parámetros instrumentales y metodológicos para la cuantificación de Clorpirifos en suelo

7.2.1. Parámetros cromatográficos

7.2.1.1. Detección cromatográfica de clorpirifos

La longitud de onda seleccionada para la detección del clorpirifos fue de 290 nm se seleccionó como fase móvil acetonitrilo:agua:ácido acético en proporción de 80:20:0,1, a un flujo de 1,0 mL/min. Condiciones que brindaron una separación cromatográfica adecuada para la determinación y cuantificación del clorpirifos (Figura 8).

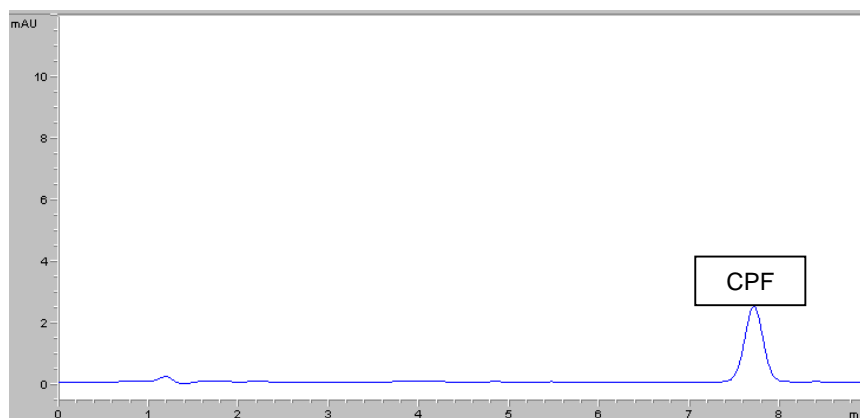


Figura 8: Cromatograma de una solución de clorpirifos en acetonitrilo. Fuente: Elaboración propia

Mediante la aplicación del método instrumental mencionado se determinó el intervalo de concentraciones de trabajo el cual se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9. Concentración de Clorpirifos por nivel de calibración

N1	N2	N3	N4	N5
1.0 µg/mL	1.5 µg/mL	2.0 µg/mL	3.0 µg/mL	5.0 µg/mL

*N corresponde a cada nivel de concentración. Fuente: Elaboración propia

7.2.1.2. Separación cromatográfica

Para evidenciar una separación cromatográfica adecuada empleando la fase móvil previamente mencionada, se determinaron los parámetros cromatográficos tales como k' y N, los cuales se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Parámetros cromatográficos en la determinación de Clorpirifos.

PLAGUICIDA	k'	N
Clorpirifos	4,18	23899

K, factor de capacidad; N, eficiencia, calculados respecto a N3. Fuente: Elaboración propia

La medición de k' es una operación muy frecuente, ya que permite evaluar la retención del plaguicida, un valor óptimo está entre 2 y 10. El factor de capacidad y la eficiencia se ajustaron realizando variaciones en la fuerza de elución y el flujo de la fase móvil, los valores obtenidos para estos parámetros indican un adecuado método de análisis del Clorpirifos en un periodo corto de tiempo (43; 44).

7.2.2. Validación del sistema instrumental

7.2.2.1. Especificidad – selectividad instrumental

El solvente empleado en la preparación de los estándares o blanco instrumental (acetonitrilo) no presentó interferentes al tiempo de retención del clorpirifos como se observa en la figura 9.

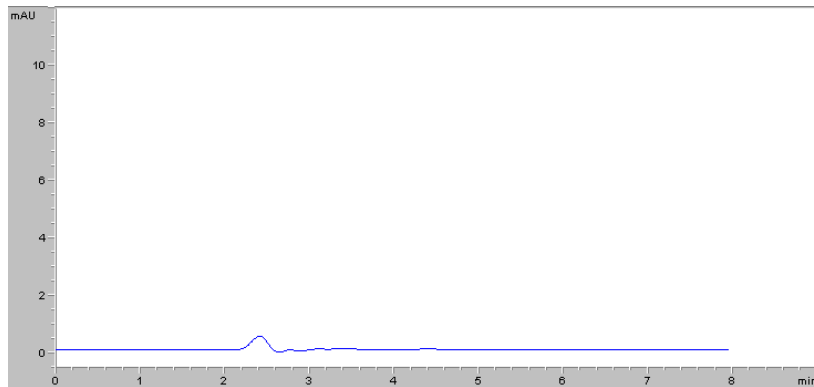


Figura 9: Cromatograma del Blanco Instrumental (Acetonitrilo) a 290 nm. Fuente: Elaboración propia

Se verificó la ausencia de impurezas en los estándares de calibración de clorpirifos inyectando en el cromatógrafo líquido el nivel tres de la curva, para el cual se obtuvo los cromatogramas ilustrados en la figura 10, en este se evidencia claramente el pico del analito.

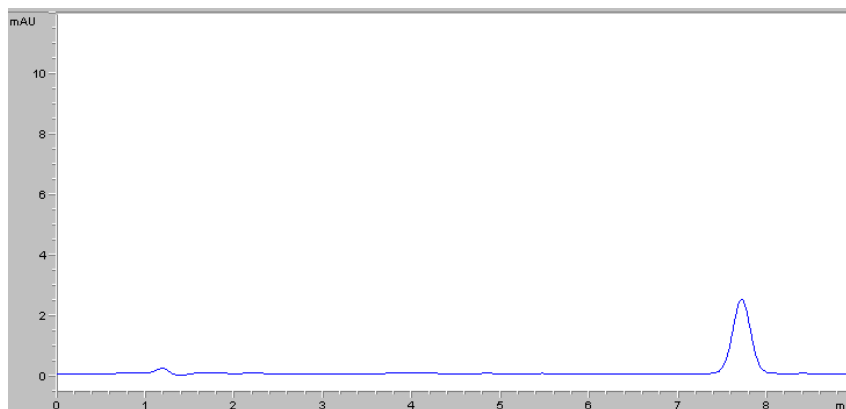


Figura 10: Cromatograma de una solución estándar al nivel tres de clorpirifos Fuente: Elaboración propia.

Los resultados muestran que el sistema instrumental es selectivo porque da una respuesta clara para el clorpirifos, tal como lo demuestran el tiempo de retención y el factor de respuesta (Tabla 11).

Tabla 11. Tiempo de retención y factor de respuesta para el Clorpirifos y TCP.

PLAGUICIDA	tr (min)	Fr (área/concentración)
Clorpirifos	6.48 ± 0,89	17.55± 0.19

tr: tiempo de retención; Fr: factor de respuesta. n=15. Fuente: Elaboración propia

7.2.2.2. Linealidad instrumental

La cuantificación del clorpirifos se realizó a través de curva de calibración a partir de concentraciones crecientes de patrón. En la Figura 11 se ilustra la curvas de calibración y los valores de b, a y R^2 . Se encontró una correlación significativa entre la concentración del analito y la respuesta (área).

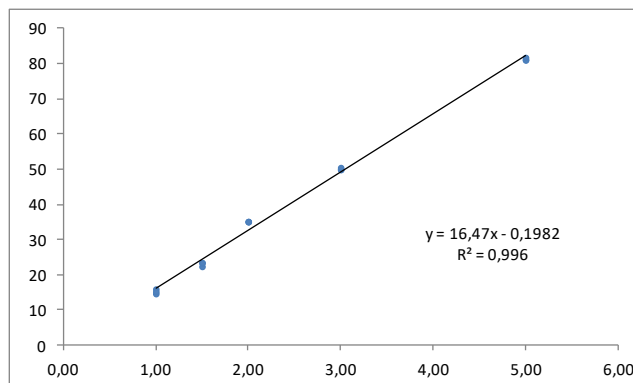


Figura 11: Gráfica correspondiente a la evaluación de linealidad para clorpirifos. Fuente: Elaboración propia

El mejor indicador del modelo lineal no es r sino un test estadístico, en el cual se calculó el valor de t_r con $n-2$ grados de libertad y se comparó con el valor de t tabulado para un nivel de confianza de 95% como se muestra a continuación **(43; 44)**

Se plantearon las siguientes hipótesis

H_0 : no existe correlación significativa entre el área de pico (Y) y la concentración del analito (X)

H₁: si existe correlación significativa entre el área de pico (Y) y la concentración del analito (X)

$$t_{exp} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = 56.99$$

Donde:

$$n=15$$

Grados de libertad (GL) = $n - 2 = (15 - 2) = 13$ y nivel de confianza del 95%

$$t_{\text{tabla}} = 2.160$$

$$56.99 > 2.160$$

Puesto que el valor calculado de $t_{exp} > t_{\text{tabla}}$, se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto existe correlación significativa entre el área de pico (Y) y la concentración del analito (x).

Para estimar la significación estadística de la desviación estándar de la pendiente (b), se plantearon las siguientes hipótesis:

$$H_0: b=0$$

$$H_1: b \neq 0$$

Criterio de aceptación "b" debe ser significativamente diferente de cero

Se aplicó la prueba t student:

$$t_{exp} = \frac{|b|}{S_b} = 56.99$$

Donde:

$$b= 16.4697$$

$$S_b= 0,2890$$

Grados de libertad (GL) = $n - 2 = (15 - 2) = 13$ y nivel de confianza del 95%

$$t_{\text{tabla}} = 2.160$$

$$56.99 > 2.160$$

Ya que el valor calculado de $t_{\text{exp}} > t_{\text{tabla}}$, se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto la pendiente b es significativamente diferente de cero a un nivel de significancia α de 0.05. Para estimar la significación estadística de la desviación estándar del intercepto (α), se plantearon las hipótesis:

$$H_0: a = 0$$

$$H_1: a \neq 0$$

Criterio de aceptación: “ a ” no debe ser significativamente diferente de cero.

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a} = 0,23$$

Donde:

$$a = 0,1982$$

$$S_a = 0,8300$$

Grados de libertad (GL) = $n - 2 = (15 - 2) = 13$ y nivel de confianza del 95%

$$t_{\text{tabla}} = 2.160$$

$$0,23 < 2.160$$

Puesto que el valor calculado de $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$, se acepta la hipótesis nula, por lo tanto el intercepto α no es significativamente diferente de cero a un nivel de significancia de 0.05.

En la Tabla 12, se muestra los límites de confianza para la pendiente y el intercepto, observándose que en la pendiente no se incluye el cero y en el intercepto sí.

Tabla 12. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto.

Plaguicida	$b \pm LCb_{\alpha=0,05}$		$a \pm LCa_{\alpha=0,05}$	
Clorpirifos	17.17	15.83	1.58	-2.28

$b \pm LCb$ son los límites inferior y superior para la pendiente; $a \pm LCa$ son los límites inferior y superior para el intercepto, a un nivel de confianza del 95%. Fuente: Elaboración propia

7.2.2.3. Precisión instrumental

Repetibilidad. Se evaluó mediante el % C.V por nivel de concentración de plaguicida (43; 44). Los resultados se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Variación instrumental como repetibilidad por nivel de concentración.

N	CONCENTRACIÓN (ppm)	CV (%)
1	0,94	0,99
2	1,41	1,30
3	2,14	0,90
4	3,05	0,60
5	4,95	1,53

*% C.V, Porcentaje de coeficiente de variación (n=5); n, replicas por nivel. Fuente: Elaboración propia

Se observa que para periodos cortos de tiempo (durante el mismo día) la variabilidad en la respuesta brindada por el equipo es baja, respecto a los obtenidos en otros estudios de validación, en los cuales se han encontrado % C.V hasta del 9.5% (43; 44).

Precisión. Se evaluó mediante el % C.V. por nivel de calibración a diferentes días (85; 44). En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 14. Variación instrumental como precisión intermedia por nivel de concentración.

N	AREA			\bar{X}	Des. Est	CV
	0 (días)	5 (días)	15 (días)			
2,0 ppm	45,10	45,70	45,60	45,45	0,58	1,28
	44,40	45,00	45,80			
	44,60	45,80	46,00			
	44,70	46,20	45,50			
	45,30	45,70	46,30			

*% C.V Coeficiente de variación (n=3); N, nivel de calibración; n, replicas por nivel; Des. Est, desviación estándar. Fuente: Elaboración propia

Respecto a los resultados correspondientes a los ensayos de repetibilidad y precisión instrumental, se observa una variabilidad menor del 5% mostrando que la metodología instrumental es precisa.

7.2.2.4. Sensibilidad

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) instrumentales, se determinaron a través del método sugerido por la IUPAC como se muestra a continuación:

$$LOD = \frac{3S_{interceptos}}{b_{promedio}} \quad \text{Ecuación 9}$$

$$LOQ = \frac{10S_{interceptos}}{b_{promedio}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:

$S_{interceptos}$, es la desviación estándar de los interceptos

$b_{promedio}$, es el promedio de las pendientes

Los valores de LOD y LOQ obtenidos son menores que el primer nivel de la curva de calibración (1ug/mL), por lo cual se puede decir que el método instrumental es suficientemente sensible para determinar los residuos del plaguicida estudiado. Además, dichos valores son inferiores a las cantidades normalmente aplicadas por los agricultores de la región en diferentes cultivos (0.48ug/g suelo) Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla 15

Tabla 15. Límite de Detección y de Cuantificación Instrumentales para clorpirifos.

CURVA	PEND	INTER	S _{intercepto}	b _{promedio}	LOD (ug/mL)	LOD (ug/g)	LOQ (ug/mL)	LOQ (ug/g)
1	16,687	1,286						
2	16,256	0,460	0,56	16,50	0,10	0,04	0,34	0,14
3	16,566	0,219						

Pen, pendiente; inter, Intercepto de la curva; S_{intercepto}, desviación del intercepto; b_{promedio}, promedio de la pendiente; LOD, límite de detección; LOQ, límite de cuantificación. Fuente: Elaboración propia

7.2.3. Evaluación del efecto Matriz

Estos fenómenos son poco probables en HPLC, ya que el puerto de inyección únicamente actúa como receptor inicial de la muestra y no se presentan cambios físicos o químicos en ésta; razón por la cual se encuentran múltiples investigaciones en las cuales se han cuantificado residuos de plaguicidas por HPLC empleando curvas de calibración en solvente (43; 86; 5).

La evaluación inicial de este efecto se realizó mediante el trazado de las curvas en solvente y en extracto (Figura 12), y el cálculo correspondiente al porcentaje de efecto matriz que relaciona la respuesta obtenida en extracto matriz con la respuesta obtenida en solvente. En la Tabla 16, se muestran los porcentajes de efecto matriz para cada nivel de calibración. Aunque este cálculo no brinda una estimación estadística significativa del efecto matriz, provee una información visual clara.

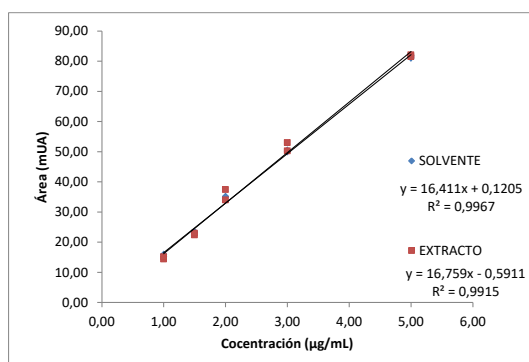


Figura 12. Curva en extracto y solvente para la evaluación del efecto matriz. Fuente: Elaboración propia

Tabla 16. Porcentaje de efecto matriz por nivel de concentración

NIVEL	N1	N2	N3	N4	N5
%EM	98,2	104,7	106,6	100,7	101,2

N, nivel de concentración de la curva; %EM, porcentaje efecto matriz. Fuente: Elaboración propia

Los valores del efecto matriz están en un rango de 98.2% a 106.6% lo que sugiere que este efecto no es significativo para el análisis cuantitativo (11). La ausencia de efecto matriz proporciona algunas ventajas entre las que se incluyen la disminución en los costos y tiempos de análisis además, evita la saturación de la columna cromatográfica con sustancias indeseadas, protegiéndola e incrementando el tiempo de vida de la misma (43).

Con el fin de corroborar una ausencia de efecto matriz se realizaron estadísticos de prueba t-test pareado y regresión lineal (87; 43). Como se observa en la Tabla 17, el t-calculado es menor al tabulado por lo tanto se infiere la ausencia de efecto matriz.

Tabla 17. Prueba t-test pareado para evaluación del efecto matriz

VARIABLE	VALOR
Promedio de las diferencias (\bar{d})	0,98
Desviación Estándar de las diferencias (S)	83,65
t-Calculado	0,02
t-Tabulado	2,13

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 18, se muestra los resultados del análisis de regresión lineal para la evaluación del efecto matriz. Puesto que el valor calculado de $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabulado}}$, se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto existe correlación significativa entre el área de pico (Y) y la concentración del analito (x).

Tabla 18. Regresión lineal para evaluación del efecto matriz

VARIABLE	VALOR
Pendiente (b)	0,9816
Intercepto (a)	0,9220
Coefficiente de determinación (R²)	0,9991
t-calculado	65,9932
T tabulado	2,3060
Límite de confianza de la pendiente (b=b±tS_b)	1,0113 a 0.9528
Límite de confianza del intercepto (a=a±tS_a)	2.0325 a -0.1884

Fuente: Elaboración propia

Se observa que uno y cero están incluidos en los intervalos de confianza calculados para b y a, respectivamente. Por lo tanto, se concluye que tanto b como a no difieren significativamente de los valores de la línea de regresión lineal, (1 y 0 para b y a respectivamente), por lo que no hay diferencia entre las respuestas en solvente y en extracto, es decir no hay efecto inducido por la matriz

7.2.4. Validación de la metodología

7.2.4.1. Especificidad – selectividad

Como se observa en la Figura 13, no se observan interferencia en el tiempo de retención del clorpirifos.

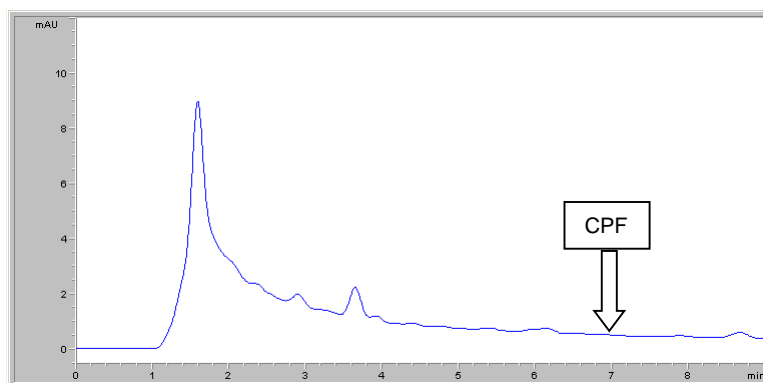
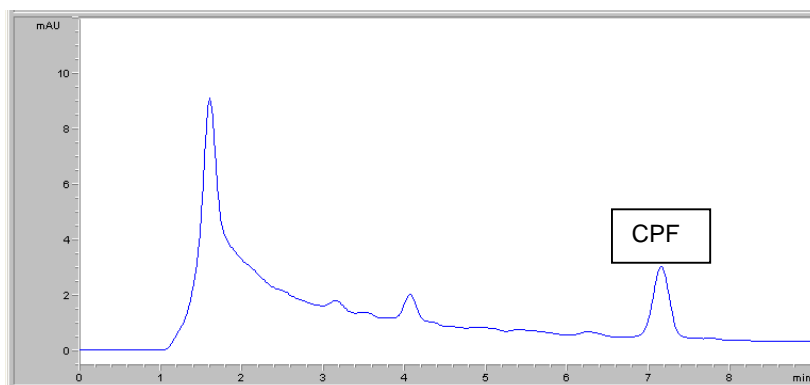


Figura 13. Cromatograma de extracto blanco de matriz. Fuente: Elaboración propia

Se preparó e inyectó una solución de clorpirifos en extracto blanco de matriz al nivel tres de la curva de calibración (figura 14). En la Tabla 19, se presentan el tiempo de retención y el factor de respuesta para este.

**Figura 14.** Cromatograma de una solución de clorpirifos en extracto blanco de matriz al nivel tres de calibración. Fuente: Elaboración propia**Tabla 19.** Tiempo de retención y factor de respuesta para clorpirifos en extracto blanco de matriz al nivel 3.

PLAGUICIDA	tr (min)	Fr (area/concentración)
Clorpirifos	7.22 ± 0,14	161.03

tr, tiempo de retención; Fr, factor de respuesta. Fuente: Elaboración propia

7.2.4.2. Linealidad

Corresponde a la linealidad determinada en la validación instrumental, ya que no se presentó efecto matriz significativo, en la Tabla 20, se muestran los niveles de concentración expresados en solución y en el suelo.

Tabla 20. Niveles de fortificación del suelo

N1		N2		N3		N4		N5	
µg/mL	µg/g	µg/mL	µg/g	µg/mL	µg/g	µg/mL	µg/g	µg/mL	µg/g
1,00	0.42	1.50	0.63	2,00	0.84	3.0	1.26	5.00	2.10

*N corresponde a cada nivel de concentración; µg/ml: µg de clorpirifos/mL de solución; mg/kg: mg de clorpirifos/Kg de suelo seco. Fuente: Elaboración propia

7.2.4.3. Precisión y Exactitud

La exactitud y la precisión por nivel de concentración en el ensayo de repetibilidad se evaluaron a través del cálculo de los % R y los % C.V. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 21.

Tabla 21. Exactitud y precisión para los sustratos utilizados al nivel tres de concentración

Tratamiento	% R	% C.V
T1	103.3	8.62
T2	101.7	8,30
T3	86.8	3.59

*C.V, Coeficiente de variación; %R: porcentaje de recuperación. Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de recuperación son adecuados ya que se encuentran entre el 70 y el 120 % valores establecidos por la EPA como criterio de aceptación en la validación de métodos para el análisis de residuos de plaguicidas y drogas veterinarias para concentraciones entre 0.4 y 2.1 mg/kg (32; 85).

7.2.4.4. Sensibilidad

Debido a que no se encontró efecto matriz los límites de detección y cuantificación están determinados por la curva patrón en acetonitrilo

7.3. Etapa 3. Evaluación del proceso de adsorción-desorción de Clorpirifos en suelo

7.3.1. Cinéticas de adsorción

La cinética de adsorción se evaluó con el fin de establecer el tiempo de equilibrio entre los procesos de adsorción/desorción. El establecimiento de tiempo de equilibrio entre el plaguicida en solución y la fase acuosa y sólida es importante, dado que las medidas de la adsorción deben ser llevadas a cabo cuando se ha alcanzado el equilibrio.

La adsorción se expresa como el porcentaje de sustancia adsorbida sobre el suelo con respecto a la cantidad suministrada al inicio del experimento bajo las condiciones previamente establecidas, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$A(t_i) = \frac{m_s^{ads}(t_i)}{m_o} \times 100(\%) \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde:

$A(t_i)$ = porcentaje de adsorción en el tiempo t_i (%)

$m_s^{ads}(t_i)$ = masa de Clorpirifos adsorbida en el suelo en el tiempo t_i (μg)

m_o = masa de Clorpirifos suministrada al inicio del experimento (μg)

De acuerdo a las cinéticas, la adsorción del clorpirifos incrementó con el incremento del tiempo de equilibrio en todos los tratamientos. Se observó una adsorción rápida o instantánea en los primeros 30 min de agitación, seguida de una adsorción lenta o difusión del plaguicida en los microporos del suelo. La adsorción instantánea se debe a la transferencia de masa principalmente en los macroporos (23). La adsorción del insecticida

por encima del 95 % en los primeros minutos del ensayo es usual en contaminantes orgánicos sobre adsorbentes naturales (88), gracias a las interacciones $\pi-\pi$ (van der Waals, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas) entre los anillos aromáticos de la materia orgánica del suelo y el anillo aromático del clorpirifos (51; 89; 9). Como no se apreciaron incrementos considerables en el porcentajes de adsorción del clorpirifos después de 240 min (Figura 15), se estableció que 24 h es un tiempo óptimo de equilibrio para la obtención de las isotermas de adsorción y desorción. Este tiempo (24 h), es considerado un tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio de los plaguicidas entre los sólidos y la solución del suelo (51)

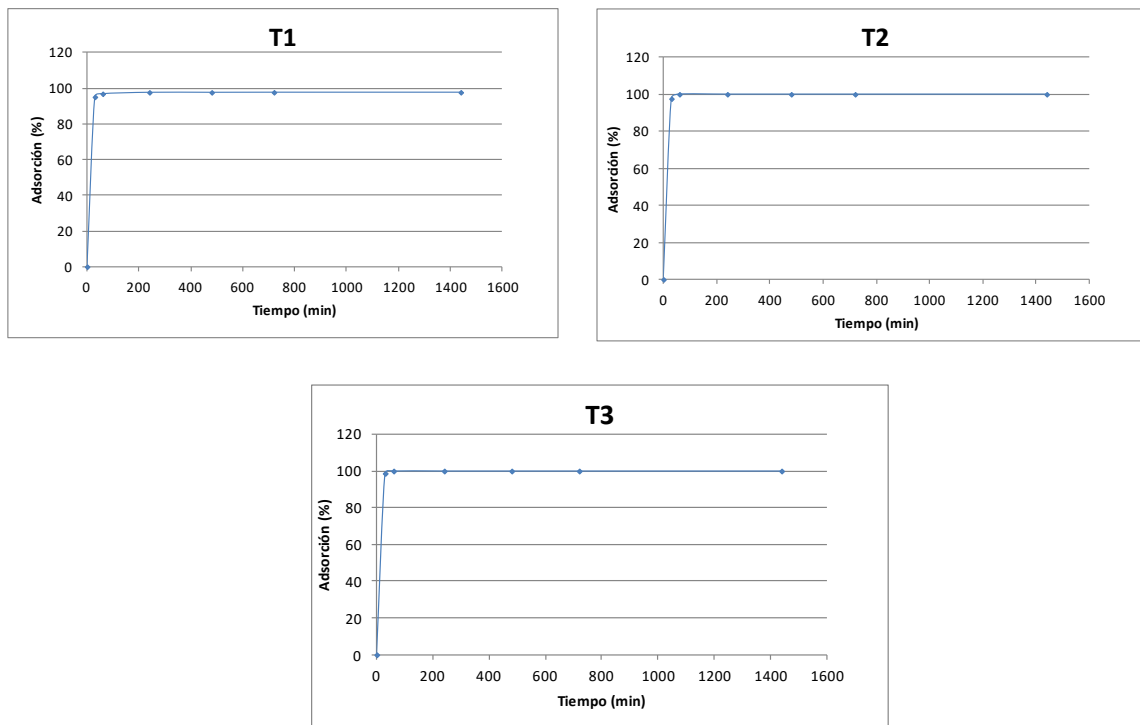


Figura 15. Cinéticas de adsorción del clorpirifos para los tres tratamientos. Fuente: elaboración propia

7.3.2. Isotermas de adsorción

Para las isotermas de adsorción se utilizaron los tratamientos descritos en la Tabla 22 y cinco niveles de concentración del clorpirifos

Tabla 22. Tratamientos para las isotermas de adsorción-desorción

Tratamiento No.	Descripción	
	Suelo (%)	Lombricompost (%)
T1	100	0
T2	80	20
T3	50	50

Fuente: Elaboración propia

La cantidad de clorpirifos adsorbido por gramo de suelo (C_s^{ads}) se calculó como la diferencia entre la cantidad inicial y la cantidad remanente en equilibrio (9; 50). La isoterma de adsorción, (C_s^{ads}) como función de (C_{aq}^{ads}), se ajustaron a los modelos Freundlich (Ec. 3), de Langmuir (Ec. 4): y lineal (Ec. 5),

Los valores de la Tabla 23, muestran la regresión lineal de Freundlich y de Langmuir, evidenciándose que existe una correlación lineal para ambos modelos, ya que el t -calculado > t -tabulado, sin embargo, el coeficiente de determinación muestra un mejor ajuste al modelo de Freundlich para los tres tratamientos

Tabla 23. Regresión lineal del ajuste de Freundlich, Langmuir y lineal

Var	Freundlich			Langmuir			Lineal		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
b	0,4958	0.7249	0.7146	0.0025	0.0038	0.0006	55,8792	145,5972	380,6282
a	2.2420	2.3532	2.6473	0.0024	0.0028	0.0011	94,3208	61,4723	59,8463
R²	0.9480	0.9158	0.9235	0.9987	0.7606	0.7735	0,8999	0,9367	0,9483
t_c	15.3955	11.8943	11.8943	70.1932	6.4260	6.6633	10,8165	13,8732	15,4488
t_t	2,101	2.1010	2.1010	2.1010	2.1010	2.1010	2,101	2,101	2,101
GL	13	13	13	13	13	13	13	13	13

b = pendiente, a = intercepto, R^2 = Coeficiente de determinación, t_c = t-student calculado, t_t = t-student tabulado, GL = grados de libertad, Var= variable

Dicho ajuste coincide con algunas investigaciones en las que se afirma que los modelos de isotermas de Langmuir a menudo fallan al describir los datos de adsorción-desorción en fase acuosa y generalmente la de Freundlich y los modelos lineales describen mejor los datos de adsorción-desorción de plaguicidas. Por otra parte, este ajuste indica que la cantidad adsorbida incrementa, cuando la concentración de clorpirifos aumenta en la solución a través de interacciones con grupos polares del clorpirifos y la materia orgánica de los sustratos empleados (23; 43; 47).

Tabla 24. Parámetros de adsorción en los tres tratamientos con los modelos de Freundlich, langmuir y lineal

T	%C _{org}	Freundlich			Langmuir			Lineal		
		n _f	K _f (mL/μg)	R ²	n	K(mL/μg)	R ²	K _D (mL/μg)	R ²	K _{oc}
1	2,01	0,49 ±0,03 ^a	175,41± 10,73	0,9501	1,04± 0,001	400,00± 10,00	0,9974	55,88± 5,41	0,8999	2780,10
2	4,21	0,71 ±0,07 ^b	226,48± 23,55	0,9169	1,36± 0,006	263,16± 20,33	0,7606	145,60± 10,49	0,9367	3458,43
3	7,54	0,73 ±0,08 ^b	454,86± 51,58	0,9511	0,54± 0,002	1666,67± 197,12	0,7735	380,63± 46,23	0,9483	5039,79

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 24, se muestra la capacidad de adsorción del clorpirifos en los tres tratamientos con el modelo de Freundlich, Langmuir y lineal, y las demás constantes. Los modelos de Freundlich y lineal mostraron un mejor ajuste a los datos de adsorción del insecticida en el Inceptisol sin y con el lombricompost, según los coeficientes de determinación R² con un rango entre 0,8999 a 0,9511. En investigaciones previas se afirma que el modelo de Langmuir a menudo falla al describir los datos de adsorción en fase acuosa de plaguicidas y generalmente el de Freundlich y lineal los describen mejor (23)

Los modelos de Freundlich y lineal indican que la cantidad adsorbida incrementa, cuando la concentración del clorpirifos aumenta en la solución, gracias a las interacciones π-π del clorpirifos y la materia orgánica de los sustratos empleados (34; 51; 9). Por otro lado, los valores de n_f del ajuste de Freundlich muestran que las isotermas se pueden clasificar como L (n_f<1), concava curvada hacia abajo (Figura 16), isotermas que indican que a medida que se van saturando los puntos activos del adsorbente, la adsorción de nuevas moléculas tiene lugar con mayor dificultad (48). Es importante resaltar que los valores de n_f representan una medida conjunta de la magnitud relativa y la diversidad de energías asociadas con el proceso de adsorción. También se observa que, la energía de adsorción

para T3 y T2 (tratamientos a los cuales se les hizo la adición de lombricompost) son significativamente mayores que para T1 (suelo sin lombricompost), debido a que la adición de lombricompost aumenta los sitios activos de retención y por lo tanto hay una mayor capacidad del suelo para retener al clorpirifos.

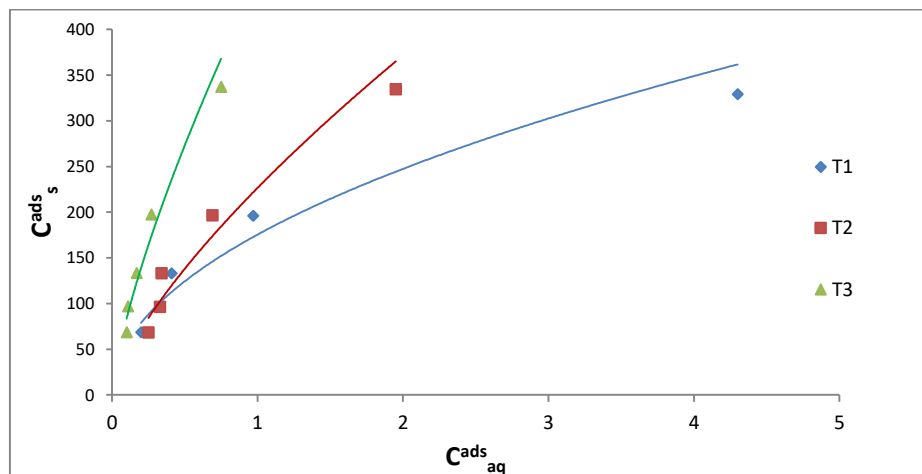


Figura 16. Isoterma ajustada al modelo de Freundlich en forma exponencial. Fuente: Elaboración propia

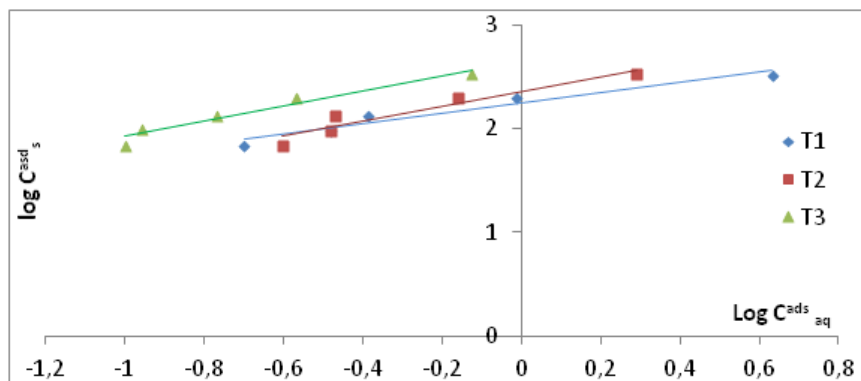


Figura 17. Isoterma de adsorción de Freundlich linealizada para el efecto de la adición de lombricompost. Fuente: elaboración propia

La posición en la curva de adsorción en la Figura 17, es un indicativo de la capacidad de adsorción del plaguicida en el sustrato, entre más alto sea el valor en el eje Y, mayor cantidad de clorpirifos adsorbido (23). Esto evidencia que a medida que se incrementa la

cantidad de carbono orgánico del sustrato, aumenta la adsorción de Clorpirifos, por lo tanto el orden de adsorción del clorpirifos es $T3>T2>T1$.

El incremento de la capacidad de adsorción del clorpirifos y otros plaguicidas debido al incremento del contenido del carbón orgánico en los suelos, ha sido previamente publicado para suelos de la India y de Colombia (9; 90; 91). Datos congruentes con los reportados en un estudio sobre la adsorción-desorción de este pesticida en cinco suelos diferentes en medio acuoso, donde se observó que los valores más elevados de K_f fueron para los suelos con mayor contenido de materia orgánica (90). Resultados similares se obtuvieron cuando determinaron las características de adsorción-desorción de tres insecticidas en cuatro suelo provenientes de la india y establecieron que con respecto a la capacidad de adsorción, mayor era para suelo compostado>suelo arcilloso>suelo rojo, además las isotermas se ajustaron al modelo de Freundlich y los valores de K_f incrementaron con el incremento del contenido de materia orgánica del suelo (91)

7.3.3. Isotermas de desorción

La caracterización de la desorción permite determinar la reversibilidad o irreversibilidad del proceso de retención de clorpirifos en los tres tratamientos empleados, las isotermas de desorción fueron ajustadas al modelo de Freundlich y lineal como se muestra en la Tabla 25. En la Figura 18, se muestran las isotermas de adsorción y desorción del clorpirifos para el T1 y T2. Las concentraciones en solución del insecticida en el T3 fueron menores al límite de detección, por lo cual se puede inferir que el proceso de adsorción fue irreversible en este sustrato para las concentraciones trabajadas. La reversibilidad del proceso de adsorción afecta la distribución del plaguicida en los compartimientos ambientales, es por esto que es importante evaluar la reversibilidad del proceso de adsorción. Para ello, la isoterma de desorción, (C_s^{des}) como función de (C_{aq}^{des}) , se ajustó al modelo lineal (Ec. 5) y se obtuvo el Índice de Histéresis (HI) según la Ecuación 12 (9; 92)

$$HI = \frac{K_{D24}}{K_D} - 1$$

Ecuación 12

donde

K_{D24} : es el coeficiente de distribución de la desorción a 24 horas.

Tabla 25. Parámetros de desorción del clorpirifos en los tres tratamientos con los modelos de Freundlich y lineal

T	HI	Freundlich			Lineal		%D
		n_f	K_{fd}	R^2	KD_{24}	R^2	
1	8,17± 102	0,96	461,58±7,25	0,9777	457,72±14,76	0,9933	0,33±0,06
2	13,11±0,76	1,37	3039±30,23	0,9845	1909,53±48,73	0,9958	0,04±0,02
3	-	-	-	-	-	-	-

T: Tratamientos, HI: índice de histéresis, KD_{24} : Coeficiente de desorción, %D: Porcentaje de desorción, "-", por debajo del límite de detección. Fuente: elaboración propia.

Para T1 y T2, los coeficientes de desorción (K_{D24} y K_{fd}) fueron mayores que los de la adsorción (K_D y K_f), esto indica una fuerte adsorción del clorpirifos, congruentes con sus bajos porcentajes de desorción y un HI mayor de uno. Característico de plaguicidas de orgánicos, que se adsorbe rápidamente en sustratos orgánicos en los primeros minutos del proceso de adsorción (como se mostró en la Figura 15)

Lo cual se puede confirmar con las rutas de adsorción y desorción en los sustratos (Figura 18). En esta figura se muestran rutas diferentes para la adsorción y desorción, existiendo histéresis. La histéresis es atribuible a diferentes causas como: a) la adsorción en su mayor parte es irreversible, b) hay cambios adsorptivos en los complejos del suelo, c) incremento de agregados de arcilla-materia orgánica después de repetidas agitaciones lo cual incrementa los sitios de adsorción, y d) interacción con la fracción orgánica haciendo la adsorción menos reversible lo que sugiere que una cantidad del plaguicida forma enlaces con la superficie de los minerales de arcilla o bien con la materia orgánica del suelo y/o la aplicada (32). Siendo probablemente esta última la que más contribuye a los procesos de adsorción, irreversibilidad e HI del clorpirifos en el suelo estudiado con la aplicación de lombricompost

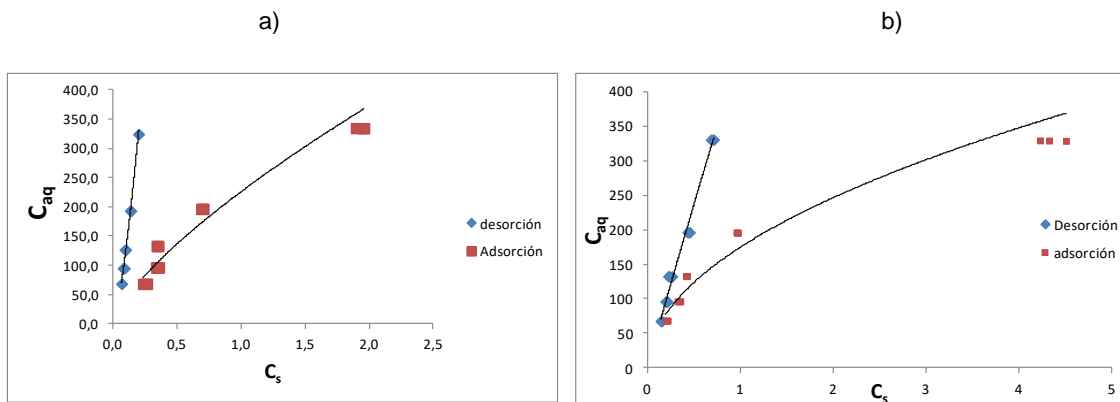


Figura 18. Isotherma de adsorción-desorción para: a) T1 y b) T2. Fuente: Elaboración propia

7.3.4. Determinación del coeficiente K_{oc}

Teóricamente, este coeficiente implica que la materia orgánica se comporta prácticamente de la misma manera independientemente del suelo, por lo que el valor de K_{oc} de cada compuesto sería prácticamente el mismo para todos los suelos, resultando así un parámetro útil para comparar la adsorción de diferentes compuestos. Por lo tanto, este valor es usado universalmente como una medida del potencial de movilidad relativa del plaguicida en los suelo (46).

Los valores de K_{oc} son usados universalmente como una medida del potencial de movilidad relativa del plaguicida en los suelos. El K_{oc} relaciona el coeficiente de adsorción (Kd_{ads}) con el contenido de carbono orgánico del suelo (C.O) mediante la siguiente ecuación:

$$K_{oc} = Kd_{ads} \times \frac{100}{\% C.O} \quad \text{Ecuación 13}$$

Donde:

$\%CO$ = porcentaje de carbono orgánico (%)

También se observa en la Tabla 24, que el K_{oc} se incrementa con el contenido de carbono orgánico, es decir, con el incremento de lombricompost en el suelo. Esto puede evidenciar, que la adición de materia orgánica compostada disminuye la movilidad del clorpirifos en el perfil del suelo y por lo tanto sus posibles efectos adversos en agua subterráneas y los cuerpos de agua.

Como se dijo anteriormente, no solo la adsorción está limitada a los materiales orgánicos del suelo, sino también a su fracción mineral como el contenido y tipos arcillas presentes en el suelo. El análisis mineralógico de arcillas para el suelo (Tabla 6 y Anexo 11.8), mostró que el suelo presenta integrados 2:1-2:2, que corresponde a arcillas de tipo 2:1, como vermiculitas o montmorillonita (Figura 19).

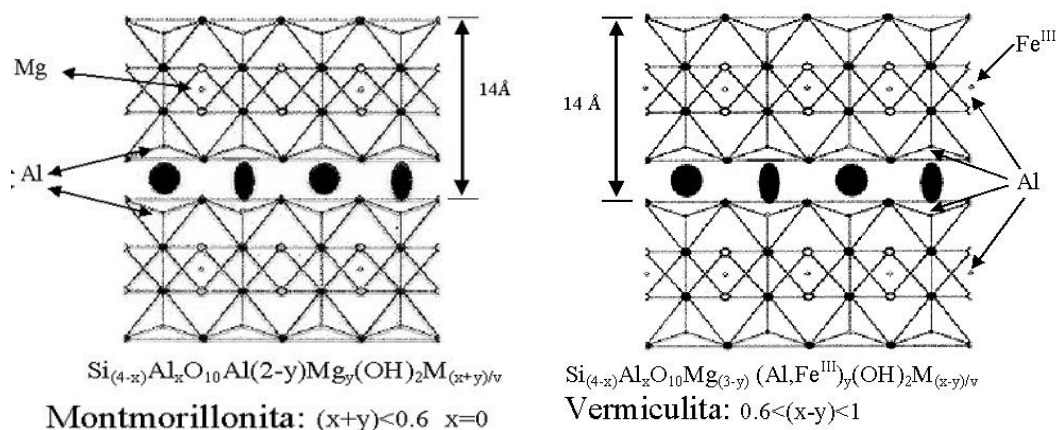


Figura 19. Estructura de las arcillas Montmorillonita y vermiculita.

Fuente: <http://www.eweb.unex.es/eweb/edafo/ECAP/ECAL4FSCMMinPrim.htm>

Este tipo de arcillas posee un espacio interlamina ocupado por cationes de cambio más o menos hidratados. La hidratación de los cationes trae consigo el aumento de la distancia de separación entre las láminas. La separación de las láminas tiene importantes repercusiones desde el punto de vista de la capacidad adsorbente de estos minerales, ya que da lugar a un aumento de la superficie accesible para la adsorción de moléculas orgánicas polares e iónicas (93; 49). El clorpirifos es una molécula orgánica no polar por lo tanto su retención pueda estar sujeta a interacciones sobre la superficie de las arcillas

7.4. Etapa 4: Degradación de Clorpirifos en suelo

7.4.1. Incubaciones bajo condiciones de laboratorio

En la Figura 20, se muestra la cantidad de clorpirifos remanente con respecto al tiempo de incubación de los tres tratamientos empleados. Se puede apreciar que, en general, las concentraciones de clorpirifos van decayendo con el tiempo de una forma exponencial, observándose una primera etapa rápida de disminución y una segunda etapa en que la disminución es más lenta.

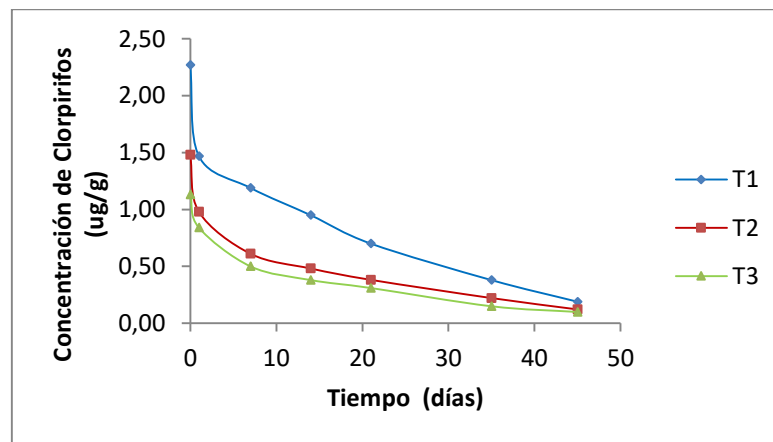


Figura 20. Variación de la concentración de clorpirifos en el tiempo

La degradación de clorpirifos se ajustó a una cinética de primer orden, descrita por la ecuación:

$$C = C_0 e^{-kt} \quad \text{Ecuación 14}$$

donde

C_0 es la concentración inicial de clorpirifos

C es la concentración alcanzada a tiempo

t y K es la constante de degradación.

Las constantes de degradación y los coeficientes de Pearson, en cada caso, fueron calculados por análisis de regresión lineal del $\ln c$ frente al tiempo de incubación, utilizando la ecuación 15 en su forma logarítmica:

$$\ln C = \ln C_0 - Kt \quad \text{Ecuación 15}$$

Las vidas medias ($t_{1/2}$) del clorpirifos con los tres tratamientos estudiados se calcularon mediante la ecuación:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K} \quad \text{Ecuación 16}$$

En las Tabla 26 y 27 el ajuste de los datos a una cinética de primer orden y los tiempos de vida media respectivamente. Al ajustar los datos de la degradación del clorpirifos a una cinética de primer orden, se encontró valores de $R^2 > 0.9488$ (Tabla 26). Lo que indica que dicho modelo explicó el proceso de degradación bajo las condiciones de estudio. Se observa además, que el clorpirifos se degradó con un $t_{1/2}$ entre 6,02 y 14,44 días, el cual se encuentra próximo a los estimados por Das, 2015, quien reporta un rango de 3.82 a 27.07 para cinco suelos con amplia variabilidad fisicoquímica.

El valor de $t_{1/2}$ o periodo de semi-degradación da una idea acerca de la persistencia del plaguicida. Cuando un plaguicida resiste los procesos de transformación y además no se evapora será muy persistente, tendrá un periodo de semi-degradación muy largo y un alto potencial para contaminar las aguas subterráneas. En general, los plaguicidas con vidas superiores a 2-3 semanas deben ser cuidadosamente evaluados debido a la posibilidad de que puedan contaminar los acuíferos. De acuerdo a Das, 2015, para las condiciones estudiadas el clorpirifos en T1 y T2 está en el rango de dos semana lo que indica, que puede ser un contaminante potencial a las agua subterráneas, mientras que si trabaja con un mayor contenido de carbono orgánico este valor puede disminuir y por tanto su efecto adverso. La influencia de Carbono orgánico en la degradación se ha reportado como un

incremento de la actividad microbiana, debido a la disponibilidad de sustratos para el cometabolismo de microorganismos (47).

Tabla 26. Regresión lineal en la degradación de clorpirifos en los tres tratamientos

VARIABLE	TRATAMIENTOS		
	T1	T2	T3
Pendiente ($K \pm SD$)	0,0513 \pm 0,0003	0,0488 \pm 0,0001	0,0500 \pm 0,0003
Intercepto (C_0)	0,6311	0,0718	-0,1394
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9726	0,9488	0,9650
t-calculado	20,1200	14,8932	18,1662
T tabulado	2,1790	2,1790	2,1790

Los valores se obtuvieron por regresión lineal de $\ln C$ frente al tiempo considerando tres repeticiones por tratamiento y $p=0,05$

Tabla 27. Evaluación de los tiempos de vida media con los diferentes sustratos

Tratamiento	%C _{Org}	$t_{1/2}$
T1	2.01	14.44 \pm 1.51a
T2	4.21	14.15 \pm 1.19a
T3	7.54	6.02 \pm 0.37b

%C_{Org}, porcentaje de carbono orgánico; $t_{1/2}$, tiempo de vida media, a y b, agrupamiento Duncan

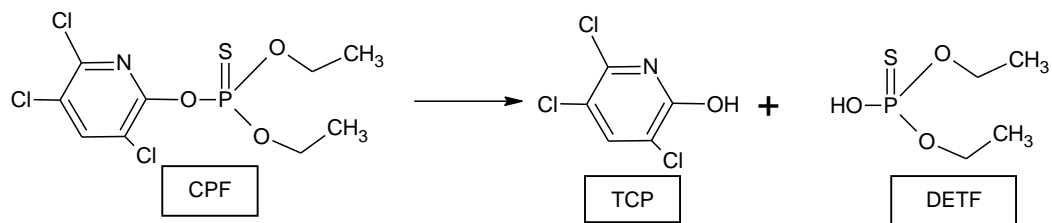
Como se dijo anteriormente, el contenido de carbono está relacionado con la degradación de los plaguicidas como también la disponibilidad del sustrato, la cantidad y la actividad de los microorganismos y propiedades fisicoquímicas del suelo como humedad y pH. En la Tabla 28 se presentan los valores de pH para los tres tratamientos, se observan que los tres presentan valores cercanos a la neutralidad. El pH es un factor importante en la degradación del clorpirifos, en condiciones ácidas el clorpirifos se mantiene estable, y a pHs cercanos a la neutralidad y básicos tiene influencia la hidrólisis química. Se ha reportado que valores de pH cercanos a la neutralidad y alta actividad microbiana pueden ser las razones para la degradación rápida del clorpirifos en los tres tratamientos (5)

Tabla 28. Medida de los pHs al inicio del proceso de degradación del clorpirifos en los tres tratamientos

Tratamiento	pH	CV
T1	6.58	0.31
T2	6.70	0.35
T3	6.71	0.31

CV: coeficiente de variación en porcentaje Fuente: elaboración propia

La hidrólisis del clorpirifos se puede dar por la lisis del anillo de pirimidina para formar el metabolito principal 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP) y di-etil-tiofosfato (DETF), de acuerdo a la siguiente reacción:



Fuente: elaboración propia

Donde el metabolito TCP, es considerado de mayor toxicidad que su compuesto padre, es por esto la importancia del uso del lombricompost para retener el plaguicida en las primeras capas del suelo para permitir que los microorganismos realicen una degradación de este.

7.4.2. Estimación de la actividad microbiana

El efecto de la aplicación del lombricompost mediante la evaluación de la respiración edáfica basal, expresada en mg CO₂ liberado por día y kilogramo de suelo, se muestra en la Figura 21.

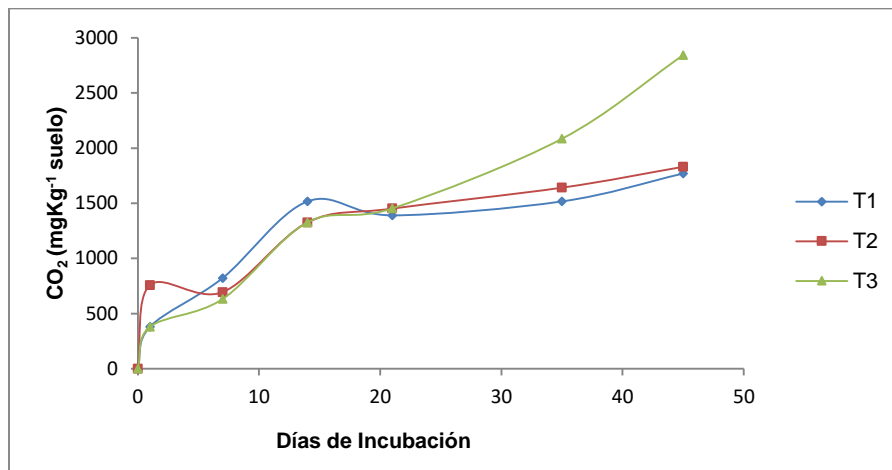


Figura 21. Dinámica de la evolución de CO₂ en el suelo de estudio durante un periodo de incubación de 45 días para los tres tratamientos. Fuente: Elaboración propia

Se observó una tendencia en aumento de la evolución de CO₂ hasta el día 45 la cual se relaciona con un aumento de la actividad microbiana en los tres tratamientos. Sin embargo, a partir del día 21 se observan diferencias significativas entre el T1 y T2 con el T3 (Tabla 29), siendo mayor la actividad para este último, lo que infiere un estímulo de la incorporación del lombricompost (mayor contenido de carbono orgánico) durante este periodo y posible degradación del clorpirifos dado que no se espera un efecto “priming” de la materia orgánica incorporada ya que los según los índices calculados esta encuentra bien humificada. No se encontró diferencias significativas entre los tratamientos y sus respectivos testigos, esto puede suponer que no hubo inhibición de la población microbiana con la dosis de clorpirifos aplicada

Tabla 29. Evolución de CO₂ en los tres sustratos durante los diferentes días de incubación

Días	0 ^a	1 ^b	7 ^c	14 ^d	21 ^e	35 ^f	45 ^g
TRATAMIENTOS							
Te₁	0	378.94 ^a	757.90 ^a	1578.94 ^a	1326.30 ^a	1515.80 ^a	1768.4 ^a
T1	0	378.97 ^a	821.10 ^a	1515.78 ^a	1389.50 ^a	1515.80 ^a	1768.4 ^a
Te₂	0	821.05 ^b	694.70 ^a	1326.31 ^a	1642.10 ^a	1578.90 ^a	1768.4 ^a
T2	0	757.89 ^b	694.70 ^a	1326.31 ^a	1452.60 ^a	1642.10 ^{ab}	1831.6 ^a
Te₃	0	378.94 ^a	757.90 ^a	1389.47 ^a	1452.60 ^a	2084.20 ^b	2842.1 ^b
T3	0	378.94 ^a	631.60 ^a	1326.31 ^a	1452.60 ^a	2084.20 ^b	2842.1 ^b

Las letras corresponden a un agrupamiento Tukey (p=0,05). Te₁, Te₂ y Te₃, corresponden a los testigos de cada tratamiento
Fuente: elaboración propia

Por otro lado, las concentraciones residuales de clorpirifos no se pueden atribuir solamente a la degradación por parte de los microorganismos del suelo, si no también, al proceso de retención de la fracción orgánica y mineral del suelo.

7.5. Etapa 5. Estimación del índice GUS y PBT

En la figura 22, se presentan los valores de GUS obtenidos para los diferentes sustratos, calculados a partir de las vidas y el coeficiente de partición del clorpirifos en condiciones de laboratorio.

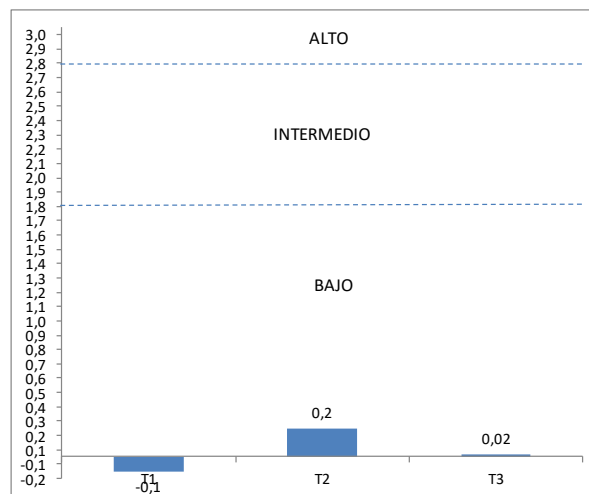


Figura 22. Valores del índice de lixiviación GUS para los tres tratamientos, (----) límites de los intervalos de riesgo del índice. Fuente: elaboración propia

Este índice muestra bajos riesgos de contaminación de la capa freática para los tres Tratamientos, esto puede explicarse a la alta adsorción del clorpirifos en sustratos orgánicos y bajos tiempos de permanencia en el suelo. Para T1 se encontró un valor de -0,10 indicando que en este sustrato presenta un valor alto de K_{oc} ($2780,10\text{mLg}^{-1}$) y valores de $t_{1/2}$ bajos (14.44 ± 1.51), para los cuales, el índice predice valores negativos.

En la figura 23, se presenta los valores del índice de percolación, bioacumulación y toxicidad (PBT). Se encontró que según las condiciones empleadas del análisis el plaguicida se considera de baja agresividad

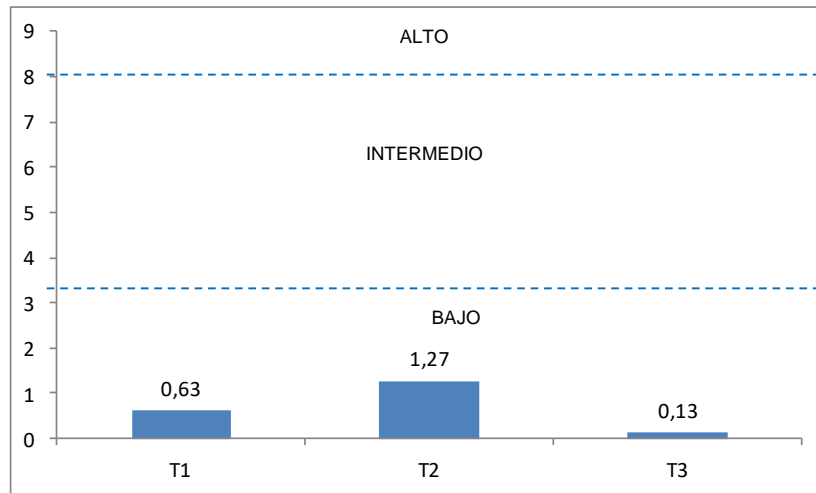


Figura 23. Valores del índice de PBT para los tres tratamientos. (---) límites de los intervalos de riesgo del índice. Fuente: elaboración propia

Como se puede observar, tanto para el índice GUS como para PBT, a medida que se incrementa el contenido de carbono orgánica hay una disminución en el valor de estos índices, por lo tanto, la adición de lombricompost genera una barrera protectora e impide la lixiviación del clorpirifos a aguas subterráneas

8. Discusión de Resultados

El Inceptisol utilizado en este ensayo, se caracterizó por tener textura franca, con 23.76% en arcillas del tipo vermiculita y montmorillonita, contenido de carbono orgánico medio y pH de 6.58, parámetros importantes en los procesos de retención y degradación del clorpirifos en el suelo de estudio bajo condiciones controladas (23). Donde, la arcilla, materia orgánica y el complejo organomineral actúan como portadores de sitios activos para la adsorción de los plaguicidas en el suelo y el pH controla procesos de degradación de este (5).

Los ensayos de adsorción se ajustaron al modelo de Freundlich e indicaron que el clorpirifos es fuertemente retenido en el suelo y la adsorción se incrementa con aumentos en el carbono orgánico, es decir, con incremento de lombricompost en el suelo, esto debido, a un incremento de los sitios activos (23), lo que se evidenció en los tres tratamientos donde se encontró un orden de adsorción de clorpirifos de $T_3 > T_2 > T_1$ ($T_1=0\%$, $T_2=20\%$ y $T_3=50\%$ de adición de lombricompost). Proceso que a su vez, se relaciona estrechamente con las propiedades físico-químicas, la cantidad y tipo de arcillas presentes en el suelo. La adsorción de los plaguicidas por materia orgánica, es uno de los procesos que gobiernan la solubilidad y asimilación de este en el ambiente, esta adsorción puede lograr un detrimento del plaguicida en la solución del suelo y por lo tanto, de su disponibilidad y toxicidad. (94).

Por otro lado, los ensayos de degradación de clorpirifos en condiciones controladas mostraron que la adición de lombricompost en el suelo influye en menores tiempos de permanencia del plaguicida (medidos como $t_{1/2}$) y mayor actividad microbiana (evolución de CO_2). Situación que puede interpretarse desde diferentes perspectivas: incorporación del plaguicida como material orgánico biodegradable e incremento en riesgos de contaminación con productos de su metabolismo en el suelo, más tóxicos que el producto original.

De acuerdo con los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio, para los procesos de adsorción-desorción y degradación de clorpirifos en los tres tratamientos se determinó los índices GUS y PBT teniendo en el parámetro K_{oc} en el proceso de adsorción y el $t_{1/2}$ en

la degradación. El índice *GUS* predice bajos riesgos de contaminación para el clorpirifos. El índice *PBT* muestra de igual modo, que este plaguicida es poco agresivo contra el ambiente. Sin embargo en condiciones de campo, en las cuales se incrementa la complejidad de los factores que intervienen en la respuesta, los plaguicidas pueden tener otros comportamientos incrementándose el riesgo real de contaminación ambiental. Estos índices pueden utilizarse únicamente para evaluar niveles de impacto relativo en condiciones controladas de laboratorio.

9. Conclusiones

El suelo del orden Inceptisol escogido para este ensayo, controlado en condiciones de laboratorio, reunió las características fisicoquímicas que permitieron evaluar el efecto de distintas adiciones de lombricompost, en los procesos de adsorción-desorción y degradación del Clorpirifos, con las metodologías seleccionadas para esta investigación.

La adición del lombricompost, permitió observar que la adsorción del Clorpirifos se incrementó y disminuyó el tiempo de permanencia al ser degradado en el suelo. Estos resultados los favoreció la estabilidad de la materia orgánica exógena utilizada y la composición de las arcillas de tipo 2:1, presentes, que se caracterizan por una alta capacidad de retención

En las condiciones establecidas en este ensayo, el índice *GUS* y *PBT* predicen bajos riesgos de contaminación y baja agresividad del clorpirifos. Sin embargo estos indicadores sólo son válidos en condiciones controladas de laboratorio y pueden variar considerablemente en condiciones de campo dada la complejidad de los factores que intervienen en la respuesta.

Dada la variabilidad de los suelos y su manejo, en condiciones de campo, la aplicación de Clorpirifos puede conllevar riesgos reales de contaminación ambiental, puesto que los productos de su degradación son más tóxicos que el producto original y se movilizan en el suelo (36). Por ello, esta investigación debe interpretarse y valorarse desde el punto de vista metodológico pero carece de validez como argumento de inocuidad del producto en los agroecosistemas.

10. Recomendaciones

Respecto a la evaluación de la degradación de Clorpirifos se recomienda para futuros trabajos de investigación evaluar los posibles metabolitos formados ya que por ejemplo el TCP, se considera más móvil y de mayor toxicidad que su compuesto padre.

Es necesaria la identificación de los microorganismos o poblaciones microbianas encargadas de degradar el clorpirifos, con el fin de evaluar alternativas de bioremediación

Analizar las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, una vez aplicado el lombricompost, con el fin de conocer el estado en el cual queda el suelo, e implementar las técnicas de manejo pertinentes para mejorar su productividad y crecimiento de las poblaciones microbianas benéficas.

11. Bibliografía

1. **Del Puerto, A, Suárez, S y Palacio, D.** Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista cubana de Higiene y Epidemiología*. 2014, Vol. 52, 3, págs. 372-387.
2. **Magga, Z, y otros.** Combining experimental techniques with non-linear numerical models to asses the sorption of pesticides on soil. 2012, Vols. 129-130, págs. 62-69.
3. **Helbling, Damian.** Bioremediation of pesticide-contaminated water resources: the challenge of low concentrations. *Current Opinion in Biotechnology*. 2015, Vol. 33, págs. 142-148.
4. **Islama, Asraful, y otros.** Binding affinity and adhesion force of organophosphate hydrolase enzyme with soil particles related to the isoelectric point of the enzyme. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2017, Vol. 141, págs. 85-92.
5. **Das, S y Adhya, T.** Degradation of chlorpyrifos in tropical rice soil. *Journal of Environmental Management*. 2015, 152, págs. 36-42.
6. **Wang, Peidan, y otros.** Identification of multi-insecticide residues using GC-NPD and the degradation kinetics in sweet corn and soil. *Food Chemistry*. 2016, Vol. 212, págs. 420-426.
7. **Arnold, S, y otros.** Derivation of human Biomonitoring Guidance Values for chlorpyrifos using a physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic model of cholinesterase inhibition. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2015, Vol. 71, págs. 235-243.
8. **Khalil, Am.** Toxicological effects and oxidative stress responses in freshwater snail, *lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos. *Ecotoxicology and Enviromental Safety*. 2015, Vol. 116, págs. 137-142.
9. **Mosquera, C, y otros.** The effect of soil properties on adsorption, single-point desorption, and degradation of chlorpyrifos in two agricultural soil profiles from Colombia. *Soil Science*. octubre de 2016, Vol. 181, págs. 446-456.
10. **Lang, Qiaolin, y otros.** A sensitive acetylcholinesterase biosensor based on gold nanorods modified electrode for detection of organophosphate pesticide. *Talanta*. 2016, Vols. 157-157, págs. 34-41.
11. **Li, R, y otros.** Chlorpyrifos residue levels on field crops (rice, maize and soybean) in China and their dietary risks to consumers. *Food Control*. 2015, Vol. 51, págs. 212-217.

12. **Koshlukova, S y Reed, N.** Chlorpyrifos. *EPA*. [En línea] 2014. [Citado el: 23 de abril de 2015.] <http://www.epa.gov>.
13. **Morgado, Rui, y otros.** Toxicity interaction between chlorpyrifos, mancozeb and soil moisture to the terrestrial isopod *Porcellionidde pruunosus*. *Chemosphere*. 2016, Vol. 144, págs. 1845-1853.
14. **Nivia, E.** Mujeres y plaguicidas. Una mirada a la situación actual, tendencias y riesgos de los plaguicidas. Estudio de caso en Palmira. [En línea] 2000. [Citado el: 21 de Marzo de 2009.] www.rap.al.org.
15. **Martinez, M.** Persistencia y comportamiento de herbicidas en suelo de olivar: Simazina y terbutilazina. *Tesis Doctoral, Universidad de Cordoba*. 2005.
16. **García, M, y otros.** Effect of soil organic amendments on the behavior of bentazone and tricyclazole. *Science of Total Environment*. 2014, Vols. 466-467, págs. 906-913.
17. **Fernández-Bayo, J, y otros.** Assessment of pesticide availability in soil fractions after the incorporation of winery-distillery vermicompost. *Environmental Pollution*. 2008, págs. 330-337.
18. **Morillo, Esmeralda y Valverde, Jaime.** Review. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. *Science of Total Environment*. 2017, Vol. 586, págs. 576-597.
19. **Catillo, Jeanl, y otros.** Fate and effect of imidacloprid on vermicompost-amended soils under dissimilar conditions: Risk for soil functions, structure, and bacterial abundance. *Science of the Total Environment*. 2017, Vol. 579, págs. 1111-1119.
20. **Jones, K y Huang, W.** Evaluation of toxicity of pesticides, chlorpyrifos and arsenic, in the presence of compost humic substances in aqueous systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2003, Vol. 103, págs. 93-105.
21. **Si, Y, y otros.** Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuron-methyl in acidic soils in China. *Geoderma*. 2006, Vol. 130, págs. 66-76.
22. **Racke, k, Laskowski, D y Schultz, M.** Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. 1990, Vol. 38, págs. 1430-1436.
23. **Rojas, R, y otros.** Adsorption study of low-cost and locally available organic substances and a soil to remove pesticides from aqueous solution. *Journal of Hydrology*. 2015, 520, págs. 461-472.

24. **Gómez, I, y otros.** Behavior of oxyfluorfen in soil amended with different sources of organic matter. Effects on soil biology. *Journal of Hazardous Materials*. 2014, Vol. 273, págs. 207-214.
25. **Pallares, A y Trigos, M.** Alternativas de solución a la problemática ambiental presentada por la utilización de material vegetal como postes y tutores y la generación de residuos agroquímicos, en la asociación productora ASOPA, del corregimiento de Aspásica, municipio de la Playa. *Tesis Doctoral*. 2014.
26. **Upegui, S.** *Evaluación de mezclas compost inmaduro/suelo de Moravia, y fuentes de nutrientes, para la degradación de los pesticidas clorpirifos, malatión y metil paratión.* Antioquía, Universidad de Medellín. Medellín : s.n., 2010. Trabajo de Investigación para Optar al Título de Magister en Ingeniería Urbana.
27. **Nguyen, T, y otros.** Effects of chlorpyrifos ethyl on acetylcholinesterase activity in climbing perch cultured in rice in the Mekong Delta, Vietnam. *Journal ecotoxicology and environmental safety*. 2015, Vol. 117, págs. 34-40.
28. **Chen, M, y otros.** Bioremediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. [En línea] 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.05.003>.
29. **Ortiz, M, Ortiz, L y Chavez, B.** Efecto de la aplicación de agroquímicos en cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta agrónomica*. 2013, Vol. 62, 1, págs. 66-72.
30. **FAO.** Definiciones para los fines del codex alimentarius. [En línea] 18 de 11 de 2015. <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm>.
31. **Santos, B, y otros.** Uso inadecuado de organofosforados: una práctica de riesgo para bovinos no Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2014, Vol. 34, 7, págs. 655-658.
32. **Valencia, M.** Determinación de residuos N-metilcarbamatos en fresa (*fragaria spp*) y evaluación de la adsorción-desorción de ¹⁴C-carbofuran en suelos del mismo cultivo. *Tesis de grado maestría*: . 2005.
33. **Consiglio, M, Meleiro, A y Nitschke, M.** Bacterial biodegradation of organochloride compounds. *Quimica Nova*. 2014, Vol. 37, 8, págs. 1351-1356.
34. **Galofre, M.** Caracterización epidemiológica de intoxicaciones ocupacionales con plaguicidas químicos de uso agrícola, reportadas al centro de información, gestión e investigación en toxicología de la Universidad Nacional de Colombia, en los años 2011 y 2012. *Universidad Nacional de Colombia*. [En línea] 2014. [Citado el: 05 de 03 de 2017.] <http://www.bdigital.unal.edu.co/42983/1/72273788.2014.pdf>.

35. **Jaramillo, J, y otros.** Buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. 2007.
36. **Pinto, M, y otros.** Influence of dissolve organic matter on photodegradation and volatilization kinetics of chlorpyrifos in coastal waters. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2015, Vol. 310, págs. 189-196.
37. **Simon, D, Helliwell, S y Robards, K.** Review. Analytical chemistry of chlorpyrifos and diuron in aquatic ecosystems. *Analytica Chimica Acta*. 1998, Vol. 360, págs. 1-16.
38. **Masiá, A, y otros.** Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soil, sediments and sludges. Application to the Túrria River Basin. *Journal of Chromatography A*. 2015, Vol. 1378, págs. 19-31.
39. **Zhang, Q, y otros.** Analysis of chlorpyrifos and TCP residues in agricultural soil and apples by HPLC. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 2011, Vol. 9, 1, págs. 659-662.
40. **Castro, J.** Determinación, persistencia y distribución de insecticidas de uso agrícola en el medio ambiente. [ed.] Universidad Autónoma de Madrid. *Tesis Doctoral*. 2002.
41. **Calvet, R, y otros.** Retention des pesticides dans le sol. *Les Pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales*. Triverval-Grignon : Editions France Agricole, 2005, págs. 161-162.
42. **Golge, O y Kabak, B.** determination of 115 pesticides residues in oranges by high-performance liquid chromatography-triple-quadruple mass spectrometry in combination with QuEChERS method. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015, Vol. 41, págs. 86-97.
43. **Valencia, Y, y otros.** Validación de una metodología para la determinación de carbofuran en suelos mediante cromatografía líquida de alta eficiencia con detección ultravioleta (CLAR-UV). *Revista Colombiana de Química*. 2010, Vol. 39, 3, págs. 359-370.
44. **Quatrocchi, O y Abelaira, S.** *Introducción a la HPLC*. Argentina : Artes Gráficas Farro SA, 1992.
45. **Ter Horst, M, y otros.** Acceptability of inversely-modelled parameters for non-equilibrium sorption of pesticides in soil. *Environmental modelling & software*. 2013, Vol. 46, págs. 260-270.
46. **Hamilton, D y Crossley, S.** Pesticides residues in food and drinking water human exposure and risks. [En línea] 2010. [Citado el: 7 de Marzo de 2014.] <http://books.google.com.br>.

47. **Mosquera, C.** Evaluación del proceso de adsorción/desorción del tebuconazol en suelos del cultivo de cebolla larga (*allium fidtulosum* L.) y el impacto de contaminación sobre el lago de Tota Aquitania-Boyacá. *Trabajo de grado para optar el Título de Maestría en ciencias Químicas*. Bogotá : Univerisad Nacional de Colombia, 2009.
48. **Delle, A.** Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbents/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A Review. *The Journal of Physical Chemistry*. 2001, Vol. 30, 1, págs. 187-253.
49. **Calvet, R, Tercé, M y Arvieu, J.** Bibliographic review. Adsorption of pesticides by soils and their constituents. III. General characteristics of pesticides adsorption. *In Annales agronomiques*. 1980, Vol. 31, págs. 125-162.
50. **EPA.** Fate, transport and transformation test guidelines. *OPPTS 835.1230 (Bach Equilibrium)*. 2008.
51. **Mosquera, C, y otros.** Degradation and thermodynamic adsorption process of carbofuran and oxadicyl in a Colombian agricultural soil profile. *Agronomía Colombiana*. 2016, Vol. 34, págs. 92-100.
52. **Racke, K, y otros.** Factors affecting the hydrolytic degradation of chlorpyrifos in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, Vol. 44, págs. 1582-1592.
53. **Shemer, H, Sharpless, C y Linden, K.** Photodegradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in aqueous solution. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2005, Vol. 168, págs. 145–155.
54. **Chai, L, Wong, M y Bruun, H.** Degradation of Chlorpyrifos in humid tropical soil. *Journal of Enviromental Management*. 2013, Vol. 125, págs. 28-32.
55. **Guerrero, P, y otros.** Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de lupinus. *Terra Latinoamericana*. 2012, Vol. 30, 4, págs. 355-362.
56. **Li, X, y otros.** Contribution of root respiration to total soil respiration in a semi-arid. *Science of the Total Environment*. 2018, 627, págs. 1209-1217.
57. **Echeverry, Y.** Estimación de la actividad y biomasa microbiana en suelos con diferentes usos en la parte alta de la microcuenca del río las piedra (tesis de Pregrado). Popayán, Cauca, Colombia : s.n., 2012.
58. **Mosquera, C.** Movimiento del agua, degradación, retención y lixiviación de plaguicidas en suelos de uso agrícola (Tesis de Doctorado). Bogotá : Universidad Nacional de Colombia, 2015.
59. **Emmerik, T, y otros.** Sorption of Chlorpyrifos to Selected Minerals and the Effect of Humic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, Vol. 55, págs. 7527-7533.

-
60. **Wu, J y Laird, D.** Interactions of chlorpyrifos with colloidal materials in aqueous systems. *Journal of Environmental Quality*. 2004, Vol. 33, págs. 1765-1770.
61. **Medina, J, y otros.** Crop residue stabilization and application to agricultural and degraded soil: A review. *Wasted Management*. 2015, Vol. 42, págs. 41-54.
62. **Arango, G y Gonzalez, H.** Cambios químicos durante la compostación de residuos de cosecha. *Revista suelos Ecuatoriales*. 1999, Vol. 29, 1, págs. 25-31.
63. **Marín, J, y otros.** Effect of different organic amendments on the dissipation of linuron, diazinon and myclobutanil in an agricultural soil incubated for different time periods. *The Science of the total environment*. 2014, Vols. 476-477, págs. 611-621.
64. **Moorman, T, y otros.** Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soil*. 2001, Vol. 33, págs. 541-5.
65. **Iglesias, E, Sánchez, M y Sánchez, M.** Pesticide adsorption in a soil-water system in the presence of surfactants. *Chemosphere*. 1996, 32, págs. 1771-82.
66. **Straathof, A y Comans, R.** Input materials and processing conditions control compost dissolved organic carbon quality. *Bioresource Technology*. 2015, Vol. 179, págs. 619-623.
67. **Jones, M y Bryan, N.** Colloidal properties of humic substances. *Advances in colloid and interface science*. 1998, Vol. 78, págs. 1-48.
68. **Doan, T, y otros.** Influence of buffalo manure, compost, vermicompost and biochar amendments on bacterial and viral communities in soil and adjacent aquatic systems. *Applied Soil Ecology*. 2014, Vol. 73, págs. 78-86.
69. **Sanchez-Hernández, J, y otros.** Earthworm activity increases pesticides-sensitive esterases in soil. *Soil biology and biochemistry*. 2014, Vol. 75, págs. 186-196.
70. **Diva, M, Da Silva, S and Olímpia, M.** Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Analytica chemica Acta*. 1998 йил, Vol. 368, pp. 155-164.
71. **Fernández, J, Nogales, R y Romero, E.** Improved retención of imidacloprid (Confidor) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Science of the Total Environment*. 2007, Vol. 378, págs. 95-100.
72. **Iglesias, Emeterio.** Aspectos fisicoquímicos, bioquímicos y microbiológicos del proceso de compostaje. Evaluación de la calidad. [En línea] s.f. [Citado el: 19 de Abril de 2016.]
<http://digital.csic.es/bitstream/10261/92881/1/3%202%20Unidad%20tematica%204.pdf>.

73. **Almendros, G y Blanco, M.** Forecasting agro biological properties of wheat with different additives - Multiples regression models including chemical parameters. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1995, Vol. 26, 15 y 16, págs. 2473-2484.
74. **Senesi, M.** Riesgos y beneficios del uso de enmiendas orgánicas en los suelos. *Revista suelos ecuatoriales*. 2003, Vol. 32, págs. 53-58.
75. **Bravo, I, Giraldo, E y Garces, P.** Biotransformación de algunos residuos agroindustriales y evaluación de sus proceso de humificación. *Revista de Suelos Ecuatoriales*. 2001, Vol. 29, 1, págs. 146-151.
76. **Hall, K, y otros.** Pesticide sorption and leaching potencial on three Hawaiian soils. *Journal of Enviromental Management*. 2015, Vol. 59, págs. 277-234.
77. **Bravo, I, Martínez, C y Pérez, E.** *Química de la materia orgánica de andisoles altoandinos en Colombia*. Primera. Popayán : Editorial Universidad del Cauca, 2016.
78. **Bravo, I y Giraldo, E.** *Manual de Prácticas de laboratorio de química agrícola: Análisis de suelo*. Popayán : Universidad del Cauca, 2009.
79. **Vivas, C, Martínez, M y Guerrero, J.** 14C Tebuconazole degradation in Colombian soils. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 2010, Vol. 2, 75, págs. 173-182.
80. **Mamy, L y Barriuso, E.** Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. *European Journal of Soil Science*. 2007, Vol. 1, 58, págs. 174-187.
81. **Naváez, J, Palacios, J y Molina, F.** Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. 2012, Vol. 15, 3, págs. 27-38.
82. **Sociedad Colombiana de Ciencias del Suelo (SCCS).** *Fundamentos para la interpretación de análisis de suelo, plantas y aguas para riego*. Tercera. Santafé de Bogotá : s.n., 1990.
83. **Pimentel, H y Rivero, C.** Parámetros de calidad de un material orgánico obtenido a partir de vinaza con el uso de un activador multienzimático. *Venesuelos*. 2005, Vol. 13, 1, págs. 5-11.
84. **Iglesias, E y García, V.** Determination of maturity indices for city refuse composts. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 1992, Vol. 38, 4, págs. 331-343.
85. **Fajgel, J y Ambrus, A.** Principles and Practices of Method Validation. [En línea] 2000. [Citado el: 15 de Enero de 2017.]

<https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=Ym0oDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR9&dq=Principles+and+Practices+of+Method+Validation+Budapest&ots=dRb1CQOjjN&sig=T4tOr6KBSWyRFPS0QF5ulyS373Q#v=onepage&q=Principles%20and%20Practices%20of%20Method%20Validation%20Budape>.

86. **Anwar, S, y otros.** Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, Vol. 168, págs. 400–405.

87. **Ahumada, D.** Reducción del efecto matriz en el análisis de residuos de plaguicidas mediante cromatografía de gases. Tesis de Maestría en Ciencias química, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química. [En línea] 2010. [Citado el: 30 de Marzo de 2015.] <http://www.bdigital.unal.edu.co/3164/1/197443.2010.pdf>.

88. **Wauchope, D, y otros.** Review. Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*. mayo de 202, Vol. 58, págs. 419-445.

89. **Largerón, J, y otros.** Molecular properties affecting the adsorption coefficient of pesticide from various chemical families. *Environmental Science and Pollution Research*. agosto de 2014, Vol. 21, págs. 9727-9741.

90. **Yu, Y, y otros.** An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm. *Environmental Pollution*. 2005, Vol. 141, págs. 428-433.

91. **Krishna, R y Ligy, P.** Adsorption and desorption characteristics of lindane, carbofuran and methyl parathion on various Indian soils. *Journal of Hazardous Materials*. 2008, Vol. 160, págs. 559-567.

92. **Huang, W y Weber Jr, W.** Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments: 1. A comparative analysis of experimental protocols. *Journal of Contaminant Hydrology*. mayo de 1998, Vol. 31, págs. 129-148.

93. **Porfiri, C, y otros.** Adsorption and transport of imazapyr through intact soil columns taken from two soils under two tillage systems. *Geoderma*. 2015, Vols. 251-252, págs. 1-9.

94. **Tejada, M, y otros.** Degradation of chlorpirifos using biostimulants/biofertilizers: Effects on soil biochemical properties and microbial community. *Applied Soil Ecology*. 2014, Vol. 84, págs. 158-165.

95. **De la Hoz, F, y otros.** Instituto Nacional de Salud. [En línea] Grupo de Factores de Riesgo Ambiental, 11 de junio de 2014. [Citado el: 01 de Febrero de 2015.] <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Intoxicaciones.pdf>.

12. Anexos

ANEXO 12.1. ESTADÍSTICO DEL EFECTO DEL LOMBRICOMPOST SOBRE LA RETENCIÓN DEL CLORPIRIFOS

EFECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
SUSTRATO	3	SUELO TRATa TRATb
NIVEL	5	1 2 3 4 5

Número de observaciones leídas 45

Número de observaciones usadas 45

EFECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM

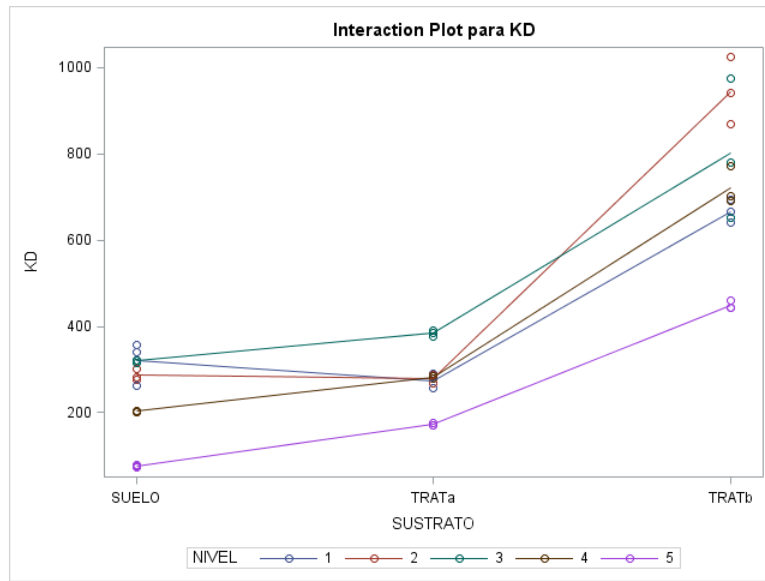
Variable dependiente: KD

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	14	2687289.588	191949.256	74.59	<.0001
Error	30	77201.931	2573.398		
Total corregido	44	2764491.519			

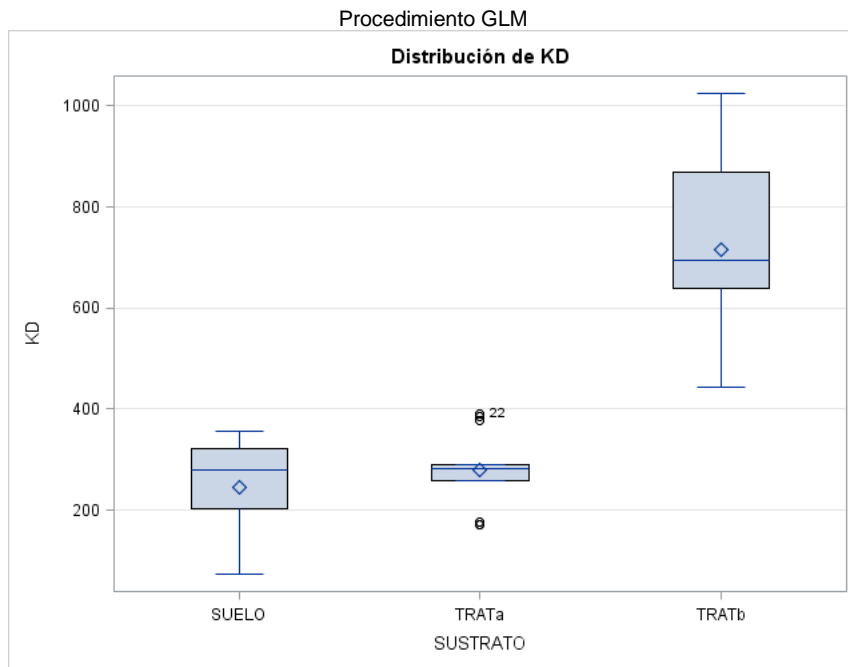
R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	KD Media
0.972074	12.28038	50.72867	413.0871

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
SUSTRATO	2	2083286.480	1041643.240	404.77	<.0001
NIVEL	4	441817.471	110454.368	42.92	<.0001
SUSTRATO*NIVEL	8	162185.637	20273.205	7.88	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
SUSTRATO	2	2098251.289	1049125.645	407.68	<.0001
NIVEL	4	439874.885	109968.721	42.73	<.0001
SUSTRATO*NIVEL	8	162185.637	20273.205	7.88	<.0001



EFEECTO DE LOMBRICOMPOST



EFECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM

Prueba del rango múltiple de Duncan para KD

Note: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	30
Error de cuadrado medio	2573.398
Media armónica de tamaño de celdas	14.95549

Note: Cell sizes are not equal.

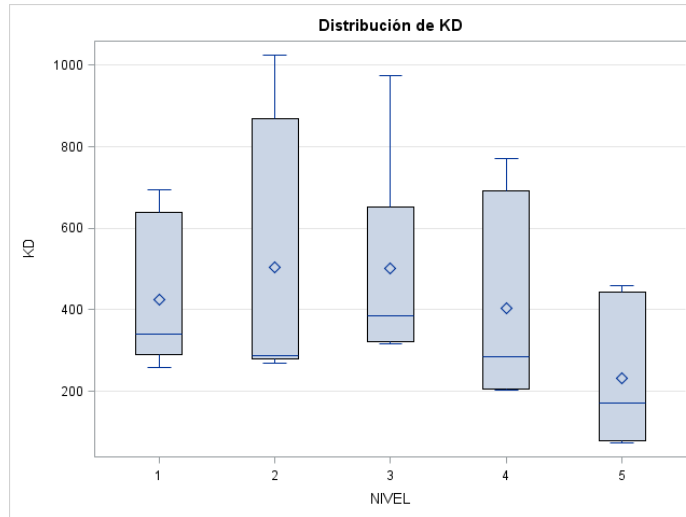
Número de medias	2	3
Rango crítico	37.89	39.81

**Medias con la misma letra no
son significativamente diferentes.**

Duncan Agrupamiento	Media	N	SUSTRATO
A	716.79	15	TRATb
B	278.72	14	TRATa
B			
B	245.94	16	SUELO

EFEECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM



EFEECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM

Prueba del rango múltiple de Duncan para KD

Note: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha 0.05

Grados de error de libertad 30

Error de cuadrado medio 2573.398

Número de medias 2 3 4 5

Rango crítico 48.84 51.32 52.94 54.09

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

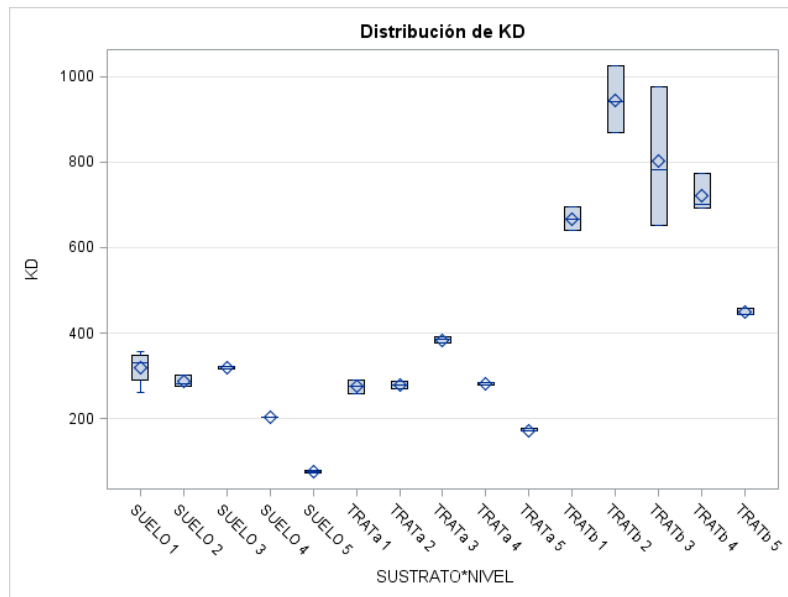
Duncan Agrupamiento	Media	N	NIVEL
A	503.12	9	2
A			
A	501.99	9	3
B	425.56	9	1
B			

Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	NIVEL
B	402.54	9	4
C	232.23	9	5

EFEECTO DE LOMBRICOMPOST

Procedimiento GLM



Nivel de SUSTRATO	Nivel de NIVEL	N	KD	
			Media	Dev std
SUELO	1	4	319.955000	41.011606
SUELO	2	3	286.640000	13.385996
SUELO	3	3	319.713333	3.770097
SUELO	4	3	203.136667	1.570393
SUELO	5	3	75.570000	2.515373
TRATa	1	2	274.710000	23.334524
TRATa	2	3	278.166667	8.601403
TRATa	3	3	384.193333	7.192749
TRATa	4	3	282.503333	3.594946
TRATa	5	3	172.700000	3.148762
TRATb	1	3	666.936667	27.602779

Nivel de SUSTRATO	Nivel de NIVEL	N	KD	
			Media	Dev std
TRATb	2	3	944.550000	78.308594
TRATb	3	3	802.053333	162.976470
TRATb	4	3	721.983333	43.820055
TRATb	5	3	448.413333	8.908515

ANEXO 11.2. ESTADÍSTICO TUKEY PARA ACTIVIDAD MICROBIANA

Procedimiento ANOVA DIA 1

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	7978.055
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015
Diferencia significativa mínima	244.96

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	821.05	3	C
A			
A	757.89	3	D
B	378.94	3	A
B			
B	378.94	3	B
B			
B	378.94	3	E
B			
B	378.94	3	F

Procedimiento ANOVA DIA 7

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	19944.88
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015
Diferencia significativa mínima	387.31

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	821.1	3	B
A			
A	757.9	3	A
A			
A	757.9	3	E
A			
A	694.7	3	D
A			

A	694.7	3	C
A			
A	631.6	3	F

Procedimiento ANOVA DIA 14

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	9972.438
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015
Diferencia significativa mínima	273.87

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	1578.94	3	A
A			
A	1515.78	3	B
A			
A	1389.47	3	E
A			
A	1326.31	3	D
A			
A	1326.31	3	C
A			
A	1326.31	3	F

Procedimiento ANOVA DIA 21

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	21938.84
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015
Diferencia significativa mínima	406.21

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	1642.1	3	C
A			
A	1452.6	3	D
A			
A	1452.6	3	E
A			
A	1452.6	3	F
A			
A	1389.5	3	B
A			
A	1326.3	3	A

Procedimiento ANOVA DIA 35

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	27919.56
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015
Diferencia significativa mínima	458.25

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	2084.2	3	E
A			
A	2084.2	3	F
A			
B A	1642.1	3	D
B			
B	1578.9	3	C
B			
B	1515.8	3	A
B			
B	1515.8	3	B

Procedimiento ANOVA DIA 45

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para DIOXIDO

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	12
Error de cuadrado medio	67815.31
Valor crítico del rango estudentizado	4.75015

Diferencia significativa mínima 714.18

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRATAMIENTO
A	2842.1	3	E
A	2842.1	3	F
A	2842.1	3	F
B	1831.6	3	D
B	1768.4	3	A
B	1768.4	3	A
B	1768.4	3	B
B	1768.4	3	B
B	1768.4	3	C

ANEXO 12.3. ANÁLISIS MINERALÓGICO DE ARCILLA POR RAYOS X DE LA MUESTRA DE SUELO

