



INFLUENCIA DE LA ADICIÓN AL SUELO DE RESIDUOS DE ALMAZARA EN EL COMPORTAMIENTO DE HERBICIDAS UTILIZADOS EN EL CULTIVO DEL OLIVAR

Memoria que presenta

M^a Alegría Cabrera Mesa
para optar al título de Doctor
por la Universidad de Sevilla

Sevilla, Octubre de 2008

INFLUENCIA DE LA ADICIÓN AL SUELO DE RESIDUOS DE ALMAZARA EN EL COMPORTAMIENTO DE HERBICIDAS UTILIZADOS EN EL CULTIVO DEL OLIVAR

Visado en Sevilla, a 10 de Octubre de 2008

LOS DIRECTORES

Dr D. Lucía Cox Meana
Investigador Científico

Dr. D. Juan Cornejo Suero
Profesor de Investigación

EL TUTOR

Dr. D. Rafael Ruiz Contreras
Catedrático de Escuela Universitaria
Escuela Universitaria de Ingeniería
Técnica Agrícola

Memoria que presenta
M^a Alegría Cabrera Mesa
para optar al título de Doctor
por la Universidad de Sevilla

DOCTOR D. LUIS CLEMENTE SALAS, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada "Influencia de la adición al suelo de residuos de almazara en el comportamiento de herbicidas utilizados en el cultivo del olivar", presentada por D. M^a Alegría Cabrera Mesa para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla, ha sido realizada en el Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, bajo la dirección del Prof. D. Juan Cornejo Suero y la Dra. Dña. Lucía Cox Meana, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

En Sevilla, a 10 de Octubre de 2008

El presente trabajo se ha realizado en el marco del proyecto AGL2004-05818-C02-01 del Plan Nacional de I +D (CYCIT), dentro del Programa Nacional de Formación de Personal Investigador.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que han contribuido al desarrollo de esta tesis, tanto en el plano laboral, como en el personal.

En primer lugar quiero agradecer a mis directores de tesis, el Prof. D. Juan Cornejo Suero y la Dra. Dña. Lucía Cox Meana, por su trabajo, consejos y correcciones, gracias a los cuales ha sido posible realizar y finalizar esta tesis doctoral. Gracias por ofrecerme la oportunidad de hacer esta tesis y haberos preocupado por mí y mi futuro profesional.

Al Prof. D. Rafael Ruiz Contreras del Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola por haber aceptado la tutoría de los cursos de doctorado y de esta memoria.

Al Prof. D. William C. Koskinen de la Universidad de Minnesota, donde realicé estancias breves en los años 2006 y 2007, gracias por su bienvenida, hospitalidad y dedicación al trabajo que allí realicé y que corresponde al capítulo de disponibilidad y biodisponibilidad de este trabajo y ha dado lugar a una publicación.

Al Prof. D. Damiá Barceló y la Dra. Dña. M^a Jesús López de Alda por aceptar que realizara una estancia breve en el IIQMB (CSIC) en el año 2008, donde se midieron y analizaron las muestras de amitrol.

A la Prof. Dña. M^a Carmen Herмосín y el Dr. Rafael Celis por sus sugerencias en la puesta en común de los resultados de este trabajo de tesis.

A la Prof. Dña. Celia Maqueda y la Dra. Dña. Esmeralda Morillo por haberme dado la oportunidad de comenzar en esta "aventura" de la investigación.

A mis compañeros de Departamento, Pili y Chari, muchas gracias por toda vuestra ayuda en el trabajo de laboratorio y amistad, a M^a Jesús por resolver tantas dudas con el HPLC, a Ana, Miguel y Felipe por brindarme vuestra ayuda en los temas que menos domino, como son la estadística y la informática y vosotros sois todos unos expertos y a Anabel, Bea, Carmen, Cristina y Gracia por vuestro compañerismo.

A mis anteriores compañeros que me ayudaron en trabajos previos, María, Fátima, Jaime y Tomás. A personas que han sido compañeros, pero ya no están en este centro: Agüi, Isa, M^a Trini, Marisa, Oliva, Patricia, Rocío, Rosa, Sete y Antonio. A Jose M^a, José Luis y Jorge, por ayudarme con las dudas burocráticas de las estancias y la tesis. A otros compañeros, con los que no he trabajado, pero hacen la convivencia más agradable: Miriam, Rosa, Mercedes, Ángeles y M^a Ángeles.

A mis compañeros de Facultad, "los ministros" Flora y Emilio, sé que siempre estareis ahí, tanto en los buenos momentos como en los no tan buenos. A Rut, Inma, M^a Ángeles y Lole.

Al personal del ICMAN, especialmente a Mari, Isa y Juan Bosco. A todos los compañeros que he tenido en las estancias breves y que me han ayudado y enseñado tantas cosas.

A mis padres, Juan y Estrella, a ellos les agradezco todo el amor y cariño recibido y la educación y enseñanzas que me han dado. A mi hermana Estrella y mi hermano Juan Pablo porque me apoyáis en todo lo que emprendo y siempre podré contar con vosotros.

A Juanmi, la persona que me aguanta y soporta, gracias por hacerme mejor persona y por los buenos momentos vividos.

Agradezco también al antiguo Ministerio de Educación y Ciencia la concesión de una beca Predoctoral del Plan Nacional de Formación de Personal Investigador dentro del Proyecto AGL2004-05818-C02-01.

Y finalmente a las personas no mencionadas que han sido un apoyo y estímulo para este trabajo y han sido importantes en mi vida.

RESUMEN

En este trabajo de tesis doctoral se han estudiado los procesos de adsorción-desorción, disipación y lixiviación de cuatro herbicidas utilizados ampliamente en el cultivo del olivar (diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol) en dos suelos con distintas características, un suelo arcillo limoso, procedente de Mengíbar (Jaén) y otro suelo clasificado como franco arenoso de Coria del Río (Sevilla), así como la influencia que la adición de residuos de almazara (alperujo y compost de alperujo) como enmiendas orgánicas del suelo tiene sobre los procesos estudiados. Se ha estudiado además la mineralización de los herbicidas diurón y terbutilazina y el efecto que tiene sobre ella la adición de alperujo. Lo más novedoso de este trabajo ha sido el estudio del efecto de la aplicación de los residuos de almazara en el estudio de la persistencia de ambos herbicidas en condiciones reales de campo.

Los estudios de adsorción-desorción en los suelos no enmendados mostraron mayor adsorción del herbicida diurón, seguido de terbutilazina, amitrol y MCPA. La aplicación de la enmienda al suelo en los estudios de laboratorio propició un aumento de la adsorción de los herbicidas, debido al aumento en materia orgánica que proporcionan los residuos de almazara, excepto en los suelos enmendados en el campo, debido probablemente a la menor cantidad de enmienda añadida y menor homogeneidad de la enmienda en el suelo que en los suelos enmendados en el laboratorio. Con la adición de las enmiendas al suelo también se ha observado un aumento en la irreversibilidad del proceso de adsorción de los herbicidas.

De acuerdo en lo observado en los estudios de disipación, la vida media de los herbicidas varía según el tipo de suelo, aumentando en el suelo más arcilloso en el siguiente orden: amitrol, terbutilazina, diurón y MCPA, mientras que en el suelo arenoso el orden es al contrario: MCPA, diurón y terbutilazina. El efecto de la enmienda consistió en un aumento de la vida media de los herbicidas.

Respecto a la lixiviación de los herbicidas, ha sido MCPA el herbicida del que se ha recuperado mayor cantidad en los lixivados, lo cual concuerda con su menor adsorción, seguido del herbicida terbutilazina en el suelo arcilloso limoso. En el suelo arenoso se detectó también diurón en los lixivados, hecho que no ocurría en el suelo arcilloso. La adición de alperujo y alperujo compostado ha reducido la lixiviación de los herbicidas estudiados.

Se ha estudiado también la disponibilidad y biodisponibilidad de terbutilazina y atrazina en dos suelos arenosos de distinto origen, uno de Coria del Río (Sevilla) y otro de Becker (Minnesota), y el efecto de la adición de enmienda y del envejecimiento del herbicida en el suelo. Estos estudios han puesto de manifiesto el aumento de la adsorción de los herbicidas con el aumento del tiempo de incubación en los suelos no enmendados y en el caso de terbutilazina en los suelos enmendados con alperujo. El estudio de biodisponibilidad se ha realizado utilizando la bacteria *Pseudomonas* sp. cepa ADP que es específica en la mineralización de atrazina. La mineralización de atrazina y terbutilazina ha sido baja, debido probablemente a que la bacteria ha usado el C y N del suelo y de la enmienda, en vez del C y N del herbicida. La adición de alperujo ha disminuido la mineralización de los herbicidas en comparación con la mineralización en el suelo no enmendado.

Finalmente, en los estudios de campo se ha observado baja movilidad de los herbicidas estudiados (diurón y terbutilazina) y mayor cantidad de herbicida en las muestras de los suelos procedentes de las parcelas enmendadas con alperujo que de las parcelas cuyo suelo no había sido enmendado. En el caso de alperujo compostado sólo se extraen cantidades significativamente mayores de diurón en la segunda campaña, atribuyendo esta diferencia a que alperujo se venía aplicando desde el año 2001 y el compost de alperujo se aplicó por primera vez en el año 2005.

La menor producción de los olivos en todas las campañas corresponde a los de las parcelas enmendadas con alperujo fresco, lo cual puede ser debido al efecto fitotóxico que tiene el alperujo por su contenido en lípidos y polifenoles. La variabilidad en la producción de los olivos puede atribuirse al fenómeno de vecería, muy frecuente en los árboles frutales y que consiste en la alternancia en la producción de los árboles de un año a otro.

En conclusión, la adición de alperujo y alperujo compostado al suelo como enmienda orgánica, además de constituir un modo eficiente de eliminación de este residuo, favorece la adsorción de los herbicidas estudiados y disminuye su movilidad, con lo cual disminuye el riesgo de contaminación de aguas subterráneas y al aumentar la vida media de los plaguicidas en el suelo, se mantiene su efecto durante un tiempo más prolongado.

ABSTRACT

We have studied in this work sorption-desorption, dissipation and leaching processes of four herbicides used on olive groves (diuron, terbuthylazine, MCPA, and amitrole) on two different soils, one silty clay from Mengíbar (Jaén) and other sandy loam from Coria del Río (Sevilla), and the effect of the addition of olive mill wastes ("alperujo" and composted "alperujo") on the processes mentioned above. Mineralization of diuron and terbuthylazine and the effect of alperujo on herbicide mineralization were also studied. The innovation in this work was the study in real field conditions of the effect of alperujo and composted alperujo on the persistence of diuron and terbuthylazine.

Sorption-desorption studies on non amended soils showed higher sorption of diuron, followed by terbuthylazine, amitrole and MCPA. Amendment addition to soil in the laboratory studies increased herbicides sorption, due to the increase of the organic matter provided by the amendment, except on soil amended in the field, due probably to the lower amount of amendment added or lower homogeneity than in the laboratory studies. Amendments addition to soils has shown to increase irreversibility on herbicides sorption.

According to the facts observed in the dissipation studies, half life of the herbicides change depending on the type of soil, increasing in the clay soil on the following order: amitrole, terbuthylazine, diuron, MCPA, meanwhile on the other soil the increase is in the opposite order: MCPA, diuron and terbuthylazine. Olive mill wastes addition to soils increases herbicides half life

on non amended soils and decreases the mineralization of diuron and terbuthylazine.

According to leaching studies, MCPA was the herbicide of which higher amounts were collected in the leachates, which agrees with its lower sorption on soils, followed by terbuthylazine on the clay soil. On the sandy soil diuron was also detected in the leachates. Olive mill wastes addition reduced herbicide leaching.

The availability and bioavailability of terbuthylazine and atrazine were also studied on two sandy soil with different origin, one from Coria del Río (Sevilla) and other from Becker (Minnesota), the effect of the addition of the amendment and the ageing of herbicides in soil. These studies have shown the increase in herbicide sorption with the incubation time on non amended soils and of terbuthylazine on the amended soil. Bioavailability study was performed using the bacteria *Pseudomonas* sp. strain ADP, specific bacteria in the mineralization of atrazine. Mineralization of terbuthylazine and atrazine by the bacteria was lower than expected, probably due to the use of the C and N of the soil and the amendment instead of the C and N of the herbicides. Addition of "alperujo" decreased herbicides mineralization in comparison with the mineralization in the non amended soil.

Finally, in field studies a low mobility of herbicides was observed and higher amounts of herbicides were extracted from the soils samples from the plots amended with alperujo as compared with the samples from non amended plots. In case of composted alperujo significant higher amounts of diuron were extracted the second year studied, conferring this difference to the application of

fresh alperujo since year 2001 and composted alperujo was applied first time year 2005.

Lower production of olive trees every the years studied was observed on the plots amended with fresh alperujo, due probably to the phytotoxic effect of this amendment by the content on polyphenols and lipids. Variability on production can also conferred to the "veceria" phenomenon, which consists on an alternation on the production of fruit trees from one year to another.

In conclusion, addition of alperujo and composted alperujo to soil as organic amendment, constitutes an efficient way to remove this waste and favors sorption of herbicides and decreases mobility through soil, decreasing the risk of groundwater contamination, and as herbicides half life increases residence time in the soil.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	19
1.1.- Dinámica de plaguicidas en suelos	21
1.1.1.- Procesos de transferencia.....	23
1.1.1.1.-Procesos de adsorción-desorción.....	23
1.1.1.1. a) Mecanismos de adsorción	24
1.1.1.1. b) Medida de la adsorción	29
1.1.1.1 c) Factores que influyen en la adsorción-desorción	36
1.1.1.2.- Procesos de lixiviación.....	49
1.1.1.2. a) Factores que afectan a la movilidad del plaguicida en el suelo.....	49
1.1.1.3.- Otros procesos de transporte	55
1.1.1.3. a) Volatilización	55
1.1.1.3. b) Escorrentía	57
1.1.1.3. c) Absorción por plantas y organismos	58
1.1.2.- Procesos de degradación.....	58
1.1.2.1. Degradación química.....	59
1.1.2.2. Biodegradación.....	60
1.1.2.3. Fotodegradacion	62
1.2.- Enmiendas orgánicas y su influencia en la dinámica de plaguicidas	65
1.3.- El olivar, el aceite de oliva y los residuos de la producción de aceite de oliva	69
1.3.1. Origen y extensión del cultivo del olivo	69
1.3.2. Importancia medioambiental del olivar	70
1.3.3. Empleo de herbicidas en el olivar.....	70

1.3.4. Producción del aceite de oliva y residuos generados	72
1.3.4.1. Procesos para la reutilización del alperujo.....	75
1.3.4.1. a) Tratamientos físico-químicos	76
1.3.4.1. b) Aplicación directa.....	76
1.3.4.1. c) Transformaciones biotecnológicas	77
1.3.4.1. d) Extracción de otros productos	78
1.3.5.- Compostaje	78
1.3.5.1.- Compostaje de alperujo	81
1.3.5.2.- Vermicompostaje.....	85
2.- OBJETIVOS	89
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	95
3.1.- Herbicidas	95
3.1.1.- Diurón	96
3.1.2.- Terbutilazina	97
3.1.3.- MCPA	98
3.1.4.- Amitrol.....	99
3.2.- Suelos.....	101
3.3.- Enmiendas.....	102
3.3.1.- Alperujo	102
3.3.2.- Alperujo compostado	103
3.4.- Estudios de laboratorio.....	104
3.4.1.- Estudios de adsorción	104
3.4.2.- Estudios de desorción	106
3.4.3.- Estudios de disipación.....	107
3.4.4.- Estudios de mineralización	109

3.4.5.- Estudios de lixiviación	109
3.4.6.- Estudios de disponibilidad y biodisponibilidad.....	111
3.5.- Estudios de campo	116
3.5.1- Estudios de persistencia.....	117
3.6.- Técnicas analíticas	119
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	123
4.1.- Estudios de adsorción-desorción	123
4.1.1.- Diurón.....	123
4.1.1. a) Isotermas de adsorción	123
4.1.1. b) Estudios de desorción.....	130
4.1.2.- Terbutilazina.....	134
4.1.2. a) Isotermas de adsorción	134
4.1.2. b) Estudios de desorción.....	139
4.1.3.- MCPA.....	143
4.1.3. a) Isotermas de adsorción	143
4.1.3. b) Estudios de desorción.....	147
4.1.4.- Amitrol	149
4.1.4. a) Isotermas de adsorción	149
4.1.4. b) Estudios de desorción.....	152
4.2.- Estudios de disipación	155
4.2.1.- Diurón.....	155
4.2.2.- Terbutilazina.....	158
4.2.3.- Estudios de mineralización de diurón y terbutilazina.....	161
4.2.3. a) Diurón.....	161
4.2.3. b) Terbutilazina.....	165
4.2.4.- MCPA.....	169

4.2.5.- Amitrol.....	172
4.3.- Estudios de lixiviación.....	175
4.3.1.- Diurón.....	175
4.3.2.- Terbutilazina.....	183
4.3.3.- MCPA.....	190
4.3.4.- Amitrol.....	193
4.4. Estudio de la aplicación de alperujo en la disponibilidad de atrazina y terbutilazina en suelos.....	197
4.4.1.- Estudio de la disponibilidad mediante extracciones con disolventes acuosos y orgánicos.....	197
4.4.2.- Estudio de la biodisponibilidad mediante la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp. cepa ADP.....	205
4.5.- Estudios de persistencia de diurón y terbutilazina en parcelas experimentales.....	209
4.6.- Influencia de la adición de alperujo en la producción del olivo	225
5.- CONCLUSIONES.....	231
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	237
7.- PUBLICACIONES.....	271

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación de los procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo	21
Tabla 1.2. Características físico-químicas del alperujo (Alburquerque et al., 2004).....	75
Tabla 1.3. Características físico-químicas del alperujo compostado (Cegarra et al., 2006, Alburquerque et al., 2006a, Alburquerque et al., 2006b, Cayuela et al., 2006, Alfano et al., 2008)	84
Tabla 3.1. Propiedades físico-químicas de los suelos originales y los suelos enmendados.	101
Tabla 3.2. Propiedades físico-químicas de las enmiendas orgánicas aplicadas, alperujo fresco y alperujo compostado.	103
Tabla 3.3. Contenido en M.O y C.O. de los suelos de las parcelas donde se realizó el estudio de persistencia. T: suelo testigo, no enmendado; AF: enmendado con alperujo fresco; AC: enmendado con alperujo compostado.	118
Tabla 3.4. Condiciones utilizadas para el análisis de los herbicidas por HPLC con detector de fotodiodos.	119
Tabla 4.1. Parámetros de Freundlich de adsorción de diurón y valores de Koc.....	123
Tabla 4.2. Parámetros de Freundlich de adsorción de diurón coaplicado con terbutilazina y valores de Koc.	129
Tabla 4.3. Parámetros de Freundlich de desorción de diurón y porcentajes de histéresis y de desorción.....	131
Tabla 4.4. Parámetros de Freundlich de desorción de diurón coaplicado con terbutilazina y porcentajes de histéresis y de desorción....	134
Tabla 4.5. Parámetros de Freundlich de adsorción de terbutilazina y valores de Koc.....	135
Tabla 4.6. Parámetros de Freundlich de adsorción de terbutilazina coaplicada con diurón y valores de Koc.....	139

Tabla 4.7. Parámetros de Freundlich de desorción de terbutilazina y porcentajes de histéresis y de desorción.....	141
Tabla 4.8. Parámetros de Freundlich de desorción de terbutilazina aplicada junto a diurón y porcentajes de histéresis y de desorción	142
Tabla 4.9. Parámetros de Freundlich de adsorción de MCPA y valores de Koc.....	145
Tabla 4.10. Parámetros de Freundlich de desorción de MCPA y porcentajes de histéresis y de desorción.....	149
Tabla 4.11. Parámetros de Freundlich de adsorción de amitrol y valores de Koc	151
Tabla 4.12. Parámetros de Freundlich de desorción de amitrol y porcentajes de histéresis y de desorción.....	153
Tabla 4.13. Vida media de diuron en los suelos originales y enmendados y cuadrado del coeficiente de regresión del ajuste lineal de una cinética de 1 ^{er} orden realizado en Octubre de 2005.....	155
Tabla 4.14. Vida media de terbutilazina en los suelos originales y enmendados estudiados, realizado en Octubre de 2005.	158
Tabla 4.15. Porcentaje de ¹⁴ C diurón mineralizado, tras 20 semanas desde su aplicación al suelo, extraído tras el estudio de mineralización y determinado por oxidación del suelo, así como diurón total y principales metabolitos analizados por HPLC. La cantidad de diurón inicialmente aplicada fue de 75 µg g ⁻¹	162
Tabla 4.16. Porcentaje de ¹⁴ C terbutilazina mineralizado transcurridas 40 semanas desde su aplicación al suelo, extraído tras el estudio de mineralización y determinado por oxidación del suelo.	168
Tabla 4.17. Vida media de MCPA en los suelos originales y enmendados con alperujo fresco o compostado y cuadrado del coeficiente de regresión del ajuste lineal.....	171
Tabla 4.18. Vida media de amitrol en el suelo original y enmendado calculada del ajuste lineal a una cinética de 1 ^{er} orden y cuadrado del coeficiente de regresión de la recta	173

Tabla 4.19. Porcentajes de diurón extraído cada 5 cm de profundidad y eluído, extraído y recuperado total de columnas de suelo empaquetadas manualmente.....	178
Tabla 4.20. Porcentaje de diurón extraído, eluído y recuperado en columnas de suelo empaquetadas manualmente respecto a la cantidad inicial de herbicida aplicado, cuando se aplicó terbutilazina conjuntamente	182
Tabla 4.21. Porcentajes de terbutilazina eluídos y extraídos en cada fragmento de columna de suelo empaquetada a mano.....	187
Tabla 4.22. Porcentajes de terbutilazina eluído, extraído y recuperado de columnas de suelo empaquetadas a mano cuando se aplicó junto con diurón en el suelo original BJ y enmendado con alperujo.....	190
Tabla 4.23. Porcentaje de MCPA total eluído, extraído y recuperado en las columnas de suelo empaquetadas manualmente con los suelos sin enmendar y los mismos suelos enmendados con alperujo.....	192
Tabla 4.24. Porcentaje de amitrol extraído, eluído y recuperado respecto a la cantidad inicial de herbicida aplicado en columnas de suelo empaquetadas a mano	194
Tabla 4.25. Coeficientes de adsorción K_d y K_{oc} calculados en suelos P2 y MN sin enmienda y enmendados con alperujo a distintos tiempos de incubación	203
Tabla 4.26. Porcentaje de ^{14}C herbicida mineralizado por <i>Pseudomonas</i> sp. cepa ADP en los suelos P2 y MN no enmendados y enmendados con alperujo durante un periodo de incubación de 28 días	207
Tabla 4.27. Cantidad de diurón extraído (expresado en $\mu g g^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.....	209
Tabla 4.28. Cantidad de DCPMU extraído (expresado en $\mu g g^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.....	213
Tabla 4.29. Cantidad de terbutilazina extraído (expresado en $\mu g g^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.....	216

Tabla 4.30. Cantidad de diurón (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraído de las muestras de campo durante la temporada 06/07	219
Tabla 4.31. Cantidad de DCPMU (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraído de las muestras de campo durante la temporada 06/07	221
Tabla 4.32. Cantidad de terbutilazina (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraída de las muestras de campo durante la temporada 06/07	222
Tabla 4.33. Producción de los olivos de las parcelas sin enmienda (T1, T2, T3); enmendadas con alperujo fresco (AF1, AF2, AF3); enmendadas con alperujo compostado (AC1, AC2, AC3)	228

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo	22
Figura 1.2. Tipos de isotermas de adsorción según Giles et al. (1960).....	31
Fig. 3.1. Estructura molecular de los herbicidas a) diurón, b) terbutilazina, c) MCPA y d) amitrol.....	95
Figura 3.2. Esquema del proceso de adsorción de los herbicidas en las muestras de suelo.....	104
Figura 3.3. Dibujo de las columnas de suelo empaquetadas a mano y utilizadas para el estudio de lixiviación de los plaguicidas.....	110
Figura 3.4. Esquema del olivar en Mengíbar (Jaén) de donde se tomaron las muestras de suelo para el estudio de campo. En azul las parcelas sin enmienda, en rojo las parcelas donde se aplicó alperujo fresco y en amarillo donde se aplicó alperujo compostado	116
Figura 4.1. a) Isotermas de adsorción de diurón aplicado en los suelos originales y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción	124
Figura 4.2. a) Isotermas de adsorción de diurón aplicado junto con terbutilazina en el suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de diurón coaplicado con terbutilazina	128
Figura 4.3. Isotermas de adsorción-desorción de diurón en los suelos originales y enmendados con alperujo.....	132
Figura 4.4. Isotermas de adsorción-desorción de diurón aplicado con terbutilazina en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo.....	133
Figura 4.5. a) Isotermas de adsorción de terbutilazina en los suelos sin enmendar y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de terbutilazina.....	136
Figura 4.6. a) Isotermas de adsorción de terbutilazina aplicado con diurón en el suelo BJ original y enmendado con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de terbutilazina coaplicado con diurón.....	138

Figura 4.7. Isotermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los suelos originales y enmendados con alperujo.....	140
Figura 4.8. Isotermas de adsorción-desorción de terbutilazina aplicado con diurón en el suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo	143
Figura 4.9. a) Isotermas de adsorción de MCPA en los suelos sin enmendar y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de MCPA en los mismos suelos	144
Figura 4.10. Isotermas de adsorción-desorción de MCPA en los suelos originales y enmendados	148
Figura 4.11. a) Isotermas de adsorción de amitrol en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo fresco y compostado. b) Ajuste lineal de los datos obtenidos de las isotermas de adsorción de amitrol	150
Figura 4.12. Isotermas de adsorción-desorción de amitrol en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo compostado.....	152
Figura 4.13. Representación de los porcentajes de diurón extraídos respecto al aplicado inicialmente en el estudio de disipación realizado en Octubre de 2005. a) Suelo BJ no enmendado y enmendado b) Suelo P2 no enmendado y enmendado	156
Figura 4.14. Representación del porcentaje de terbutilazina extraído en los estudios de disipación. a) En el suelo BJ no enmendado y enmendado. b) en el suelo P2 sin enmendar y con enmienda	159
Figura 4.15. Porcentaje acumulado de diurón mineralizado, respecto a la cantidad inicialmente aplicada, tras 20 semanas de estudio.....	163
Figura 4.16. Porcentaje acumulativo de terbutilazina mineralizado en el suelo original y enmendado, tras 40 semanas de estudio.....	166
Figura 4.17. Curvas de disipación de MCPA en los estudios de incubación en los suelos originales y enmendados con alperujo. a) En los suelos BJ sin enmendar y con enmienda. b) En los suelos P2 no enmendado y enmendados	170
Figura 4.18. Curvas de disipación de amitrol en el suelo sin enmendar y enmendado con alperujo fresco y compostado	174

Figura 4.19. Lixiviación de diurón en columnas de suelo empaquetadas manualmente. a) Curva de elución relativa de diurón en el suelo P2. b) Curva de elución acumulativa de diurón en el suelo sin enmendar P2	176
Figura 4.20. Porcentaje de diurón extraído de las columnas de suelo tras el estudio de elución en los suelos sin enmendar y enmendado con alperujo	179
Figura 4.21. Porcentaje de diurón extraído de los distintos fragmentos de las columnas de suelo tras finalizar el estudio de elución y cuando se coaplicó con terbutilazina	183
Figura 4.22. Lixiviación de terbutilazina en columnas de suelo empaquetadas a mano. a) Curva de elución relativa de terbutilazina en los suelos originales y enmendados b) Curva de elución acumulada de terbutilazina	184
Figura 4.23. Porcentaje de terbutilazina extraído de cada fragmento de las columnas de suelo empaquetadas manualmente tras el estudio de elución	188
Figura 4.24. Elución de terbutilazina a) relativa y b) acumulativa en las columnas de suelo empaquetadas manualmente y en las que se coaplicó terbutilazina junto con diurón	189
Figura 4.25. a) Curva de elución relativa de MCPA en las columnas empaquetadas manualmente con los suelos originales y enmendado; b) Curva de elución acumulativa de MCPA en las mismas columnas.....	191
Figura 4.26. a) Detalle de la curva 4.25 a) en la que se ha representado sólo la elución relativa del suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo; b) Curva de elución acumulativa del suelo original BJ y enmendado con alperujo.....	191
Figura 4.27. Porcentaje de amitrol extraído de las columnas de suelo tras el estudio de elución en el suelo no enmendado y enmendado con alperujo fresco o compostado	195
Figura 4.28. a) Porcentaje de terbutilazina extraído. Porcentaje total extraído en el suelo P2, porcentaje total extraído en el suelo (P2+AF) _L , extracto acuoso del suelo P2, extracto orgánico del suelo P2, extracto acuoso del suelo (P2+AF) _L y extracto orgánico del suelo (P2+AF) _L . b)	

Porcentaje total de ^{14}C terbutilazina recuperado del inicialmente aplicado en el suelo P2, en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$, porcentaje extraído en el suelo P2, porcentaje no extraíble en el suelo P2, porcentaje extraído en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$ y porcentaje no extraíble en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$ 199

Figura 4.29. a) Porcentaje de atrazina extraído. Porcentaje total extraído en el suelo P2, porcentaje total extraído en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$, extracto acuoso del suelo P2, extracto orgánico del suelo P2, extracto acuoso del suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$ y extracto orgánico del suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$. b) Porcentaje total de ^{14}C atrazina recuperado del inicialmente aplicado en el suelo P2, en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$, porcentaje extraído en el suelo P2, porcentaje no extraíble en el suelo P2, porcentaje extraído en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$ y porcentaje no extraíble en el suelo $(\text{P2}+\text{AF})_{\text{L}}$ 200

Figura 4.30. a) Porcentaje de atrazina extraído. Porcentaje total extraído en el suelo MN, porcentaje total extraído en el suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$, extracto acuoso del suelo MN, extracto orgánico del suelo MN, extracto acuoso del suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$ y extracto orgánico del suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$. b) Porcentaje total de ^{14}C terbutilazina recuperado del inicialmente aplicado en el suelo MN, en el suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$, porcentaje extraído en el suelo MN, porcentaje no extraíble en el suelo MN, porcentaje extraído en el suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$ y porcentaje no extraíble en el suelo $(\text{MN}+\text{AF})_{\text{L}}$ 201

Figura 4.31. Datos de pluviometría y cantidad de herbicida a) diurón y b) terbutilazina extraído de las muestras de suelo del olivar experimental de Mengíbar (Jaén) a distintos días desde la aplicación del herbicida y a distintas profundidades en la campaña 05/06 212

Figura 4.32. Fotografía del perfil del suelo del olivar experimental de Mengíbar (Jaén) donde pueden apreciarse grietas, responsables del fenómeno de flujo preferencial 213

Figura 4.33. Datos de pluviometría y cantidad de herbicida a) diurón y b) terbutilazina extraído de las muestras de suelo de cada subparcela del olivar experimental de Mengíbar, tomadas a distintos días desde la aplicación del herbicida y a distinta profundidad, durante la campaña 06/07 220

Figura 4.34. Fotografía del suelo de una de las parcelas donde se realizó el estudio de persistencia de los herbicidas en condiciones de campo, donde puede observarse la enorme cantidad de piedras y hojas presentes en el suelo 224

Figura 4.35. Producción de los olivos de las parcelas sin enmienda (T); enmendadas con alperujo fresco (AF); enmendadas con alperujo compostado (AC).....226

ABREVIATURAS

AC	Alperujo compostado
ACN	Acetonitrilo
AF	Alperujo fresco (no compostado)
BJ	Suelo arcillo limoso de Mengíbar (Jaén)
(BJ+AC)_C	Suelo BJ enmendado con alperujo compostado en el campo
(BJ+AC)_L	Suelo BJ enmendado con alperujo compostado en el laboratorio
(BJ+AF)_C	Suelo BJ enmendado con alperujo fresco en el campo
(BJ+AF)_L	Suelo BJ enmendado con alperujo fresco en el laboratorio
CCC	Capacidad de cambio catiónico
CE	Conductividad eléctrica
C_e	Concentración de soluto en el equilibrio
C_i	Concentración inicial de soluto
C.O.	Carbono orgánico
COT	Carbono orgánico total
C_s	Cantidad de soluto adsorbida por unidad de masa del sólido
D	Porcentaje de desorción
DCM	Diclorometano
DCPMU	3-(3,4-diclorofenil-1-metilurea), metabolito de diurón
DCPU	1-(3,4-diclorofenil) urea, metabolito de diurón
DQO	Demanda química de oxígeno
H	Coefficiente de histéresis
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
K_{OC}	Coefficiente de distribución en función del C.O. del suelo
K_d	Coefficiente de distribución

K_f o $K_{f ads}$	Coficiente de adsorción de Freundlich
$K_{f des}$	Coficiente de desorción de Freundlich
log P	(log Kow) Coeficiente de reparto octanol agua
MCPA	Ácido (4-cloro-2-metilfenoxi) acético
MN	Suelo arenoso de Becker (Minnesota)
(MN+AF)_L	Suelo MN enmendado con alperujo fresco en el laboratorio
M.O.	Materia orgánica
P2	Suelo franco arenoso de Coria del Río (Sevilla)
(P2+AC)_L	Suelo P2 enmendado en el laboratorio con alperujo compostado
(P2+AF)_L	Suelo P2 enmendado en el laboratorio con alperujo
rpm	Revoluciones por minuto
$t_{1/2}$	Vida media
$1/n_f$	Constante considerada medida de la intensidad de adsorción



1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas en suelos agrícolas para conseguir mayor rendimiento de las cosechas es muy elevado en España, así como en Europa. Si bien en los últimos años se está tendiendo hacia una disminución en su uso, su consumo sigue siendo elevado. En España se mantiene el consumo total de plaguicidas, y aunque ha disminuido la cantidad de fungicidas empleados en los últimos años, desde el año 1999 hasta el 2003 (Eurostat, 2007) ha aumentado el consumo de herbicidas e insecticidas. Es por ello que resulta necesario estudiar el comportamiento de estos compuestos en los suelos en los que se aplican, para reducir el impacto sobre la salud humana y el medio ambiente. Existen estudios previos que sugieren el uso de enmiendas orgánicas para reducir la cantidad de plaguicidas que por lixiviación pueden llegar a contaminar aguas subterráneas y por escorrentía alcanzar aguas superficiales. Estas enmiendas tienen como ventaja el aumento de la materia orgánica de los suelos, lo cual resulta muy útil en Andalucía, donde los suelos tienen un bajo contenido en materia orgánica. Este aumento favorece la adsorción de los plaguicidas, disminuyendo la disponibilidad de estos compuestos para los procesos de transporte y degradación. Entre otras ventajas que presenta la incorporación de enmiendas a los suelos se encuentran la mejora de la estructura de los suelos, su actividad microbiana y fertilidad, ayudando a la restauración de los suelos degradados. Si se utilizan residuos orgánicos como enmienda de los suelos agrícolas se consigue además la reutilización y eliminación de estos residuos.

Los primeros estudios sobre el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas al comportamiento de plaguicidas se remontan a finales de los años 80 (Azam et al., 1988). Las enmiendas orgánicas aplicadas al suelo pueden ser

muy variadas. Entre las estudiadas que afectan al comportamiento de plaguicidas en suelo se encuentran: compost de residuos sólidos urbanos (Sánchez-Camazano et al.; 1996, Barriuso et al.; 1997, Cox et al.; 2001, Morillo et al., 2002), lodos de depuradora (Celis et al., 1998a; Sluszný et al., 1999; Perrin-Garnier et al., 2001), restos de paja (Azam et al., 1988; Houot et al., 1998), bioproductos de la fermentación de maíz, serrín, compost de residuos de jardines municipales, abono de ganado madurado (Moorman et al., 2001), turba (Arienzo et al., 1994; Romero et al., 1998; Si et al., 2006), restos de madera (Menasserri et al., 2004), residuos líquidos de almazara (Cox et al., 1997a y 2001; Morillo et al., 2002; Fernandes et al., 2006) y recientemente se han publicado trabajos sobre el uso de residuos sólidos de almazara utilizados como enmiendas orgánicas en suelos (Albarrán et al., 2003 y 2004; Fernandes et al., 2006; Delgado Moreno y Peña, 2007; Delgado Moreno et al., 2007; Cabrera et al., 2007 y 2008).

En este trabajo de tesis hemos estudiado el efecto de la adición de residuos sólidos de almazara (alperujo y alperujo compostado) como enmiendas orgánicas al suelo, en el comportamiento de plaguicidas utilizados en el cultivo del olivar, comparándolo con el comportamiento de dichos plaguicidas en los mismos suelos no enmendados. Gran parte de los estudios han sido realizados en laboratorio, sin embargo se ha incluido un estudio de campo para conocer el efecto que la aplicación periódica de los residuos de almazara tiene en la persistencia y movilidad de los plaguicidas. Este último estudio aporta el grado de innovación a esta tesis, pues no nos consta la existencia de estudios previos del efecto de la aplicación de estos residuos en campo en el comportamiento de plaguicidas.

A continuación se describen los procesos más importantes que afectan a los plaguicidas en los suelos tras su aplicación y se hará una introducción sobre el cultivo del olivar, producción de aceite de oliva y características del residuo sólido generado en almazaras por el proceso de centrifugación en dos fases (alperujo) que hacen que este residuo sea considerado como enmienda orgánica de suelos agrícolas.

1.1 Dinámica de plaguicidas en suelos

El origen de los plaguicidas en los suelos puede ser variado, siendo el principal la aplicación directa al suelo o bien a las partes aéreas de las plantas, llegando a alcanzar el suelo por caída o por ser arrastrado por acción del viento o de agua de riego o de lluvia. Los plaguicidas también pueden llegar al suelo por restos vegetales que quedan en el suelo después de la recolección de la cosecha o que se desprenden durante el tratamiento.

Tabla 1.1. Clasificación de los procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo

Transferencia o transporte	Transformación o degradación
Adsorción-desorción	Degradación química
Lixiviación	Biodegradación
Escorrentía	Fotodegradación
Volatilización	
Absorción	

Una vez que el plaguicida está en el suelo, éste sufre una serie de procesos que determinan su dinámica (Figura 1.1) y se dividen en dos grandes

grupos: 1. Procesos de transferencia o transporte y 2. Procesos de transformación o degradación (Tabla 1.1). Los procesos de transferencia son aquellos en los que el plaguicida se mueve de una fase a otra del suelo o dentro de una misma fase, sin que se produzca ninguna transformación química, mientras que los procesos de transformación implican un cambio en la estructura del plaguicida (Cornejo y Moreno, 1998) dando lugar a la transformación o degradación del herbicida en otros compuestos que pueden ser de igual, mayor o menor toxicidad.

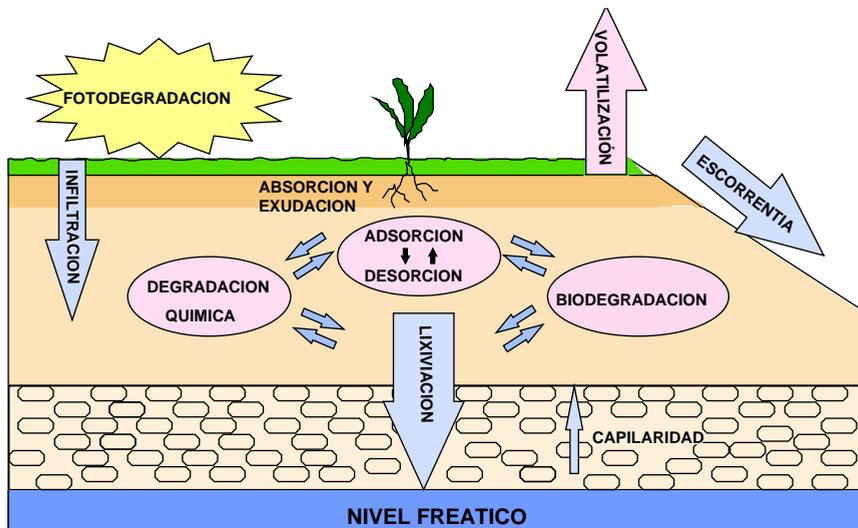


Figura 1.1. Procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo

De todos los procesos de transferencia son los procesos de adsorción-desorción los más importantes en la dinámica de los plaguicidas (Navarro Blaya, 1986), pues influyen en todos los demás (Bailey y White, 1970; Cornejo y Jamet, 2000), por ejemplo, los procesos de volatilización, lixiviación y biodisponibilidad disminuyen generalmente con la adsorción (Day et al., 1968; Guenzi y Beard 1974; Ferreira et al., 2002), mientras que la degradación

química o el transporte por partículas en suspensión pueden verse favorecidos (Armstrong et al., 1967; McCarthy y Zachara, 1989).

Como consecuencia de los procesos implicados en la dinámica de los plaguicidas en el suelo se produce una pérdida de eficacia de estos compuestos orgánicos y algunos procesos dan lugar a que estos plaguicidas o sus productos de degradación produzcan contaminación del suelo, aguas superficiales y subterráneas, incluso lejos del lugar donde se aplicaron. Resulta por tanto necesario conocer estos procesos para conseguir la máxima eficacia del plaguicida con el menor impacto ambiental y si es necesario establecer las estrategias de prevención y remediación más adecuadas.

1.1.1 Procesos de transferencia

1.1.1.1 Proceso de adsorción-desorción

El proceso de adsorción se define como el paso de un soluto desde una fase líquida o gaseosa a la superficie de una fase sólida sin producir cambios en esta misma (Osgerby, 1970). Los procesos de adsorción ocurren con mayor frecuencia entre la disolución del suelo y la fase sólida del suelo, ya que ésta está siempre rodeada de una fina capa de agua y sólo en casos de extrema aridez se produciría la adsorción sólido-gas (Pignatello, 1989). El proceso de adsorción se debe a la atracción o repulsión entre la superficie del adsorbente (macroporos y microporos del suelo) y las moléculas o iones del adsorbato (plaguicida) (Calvet, 1989). Los procesos de adsorción vienen determinados en gran parte por la cantidad de superficie de contacto del sólido, que es inversamente proporcional al tamaño. Son por tanto las fracciones más finas del

suelo, tanto orgánicas como inorgánicas, los principales componentes del mismo en la adsorción de plaguicidas (Bailey y White, 1970).

La desorción es el proceso inverso a la adsorción y se caracteriza porque las sustancias adsorbidas a la fase sólida del suelo vuelven a la disolución del suelo o a su fase gaseosa. En caso de desorción total de las moléculas adsorbidas se habla de adsorción reversible (Wauchope y Myers, 1985; Monkiedje y Spiteller, 2002), pero si las moléculas adsorbidas se desorben parcialmente se habla entonces de adsorción irreversible (Cox et al., 1995a; Fogg et al., 2003). La irreversibilidad o histéresis es un fenómeno importante ya que en gran medida determina la biodisponibilidad del plaguicida en el suelo.

Cuando el plaguicida se encuentra adsorbido a la fase sólida del suelo no está disponible para su transporte o biodegradación, mientras que la desorción provoca el efecto contrario.

1.1.1.1 a) Mecanismos de adsorción

La adsorción y retención de plaguicidas en la fase sólida del suelo se debe a una serie de mecanismos que implican fuerzas de atracción. Normalmente no se da un único mecanismo, ya que en la mayoría de los casos la retención de los plaguicidas se produce por una variedad de fuerzas y factores. Según Cornejo y Hermosín (1996) hay mecanismos favorecidos por cambios de entalpía y otros en los que la adsorción produce cambios de entropía, como son las interacciones hidrofóbicas. Entre los mecanismos relacionados con cambios de entalpía se encuentran el enlace iónico, el enlace

covalente, fuerzas de Van der Waals, puente de H, transferencia de carga y cambio de ligando.

Interacciones hidrofóbicas

La adsorción hidrofóbica fue propuesta como el principal mecanismo de retención de plaguicidas no polares a los sitios activos hidrofóbicos de las sustancias húmicas o de las arcillas del suelo. Los sitios hidrofóbicos activos incluyen cadenas laterales alifáticas o porciones lipídicas y derivados de grupos funcionales de lignina con alto contenido en carbono y bajo número de grupos polares de la macromoléculas de las sustancias húmicas (Senesi, 1992). Las moléculas de agua no compiten con las moléculas hidrofóbicas por los lugares activos.

La adsorción hidrofóbica es un mecanismo importante para los plaguicidas ionizables, como prometrina (Khan, 1982), pentaclorofenol (Lee et al., 1990), DDT e insecticidas organoclorados (Senesi, 1993), imazaquin (Ferreira et al., 2002), atrazina y simazina (Herwig et al., 2001).

La adsorción hidrofóbica se ha considerado generalmente como un mecanismo independiente del pH, pero Li et al. (2001) observaron que las interacciones hidrofóbicas aumentaban con el aumento del pH de la disolución.

Enlace iónico

Los compuestos orgánicos iónicos son atraídos electrostáticamente por las superficies de carga opuesta de los componentes del suelo, implica tanto formas aniónicas como catiónicas de los plaguicidas. Plaguicidas que están en forma catiónica en disolución o que pueden aceptar un protón se adsorben por

este mecanismo a las superficies con carga negativa de los minerales de la arcilla y de la materia orgánica (Li et al., 2001). Por este mecanismo se adsorben triazinas (Piccolo et al., 1998; Roy et al., 2000; Herwig et al., 2001). Este mecanismo puede verse afectado por impedimento estérico en casos de moléculas de gran tamaño (Senesi, 1992). Las superficies de los óxidos y oxihidróxidos metálicos cargados positivamente atraen a los aniones orgánicos (Cornejo et al., 2000). La adsorción de aniones orgánicos por los suelos mediante enlace iónico no es muy frecuente en climas templados, pues las arcillas y materia orgánica están negativamente cargadas o bien en forma neutra, siendo este tipo de interacción más frecuente en suelos de climas tropicales que contienen cantidades significativas de superficies de adsorción cargadas positivamente en forma de óxidos e hidróxidos de hierro.

En este tipo de interacción el pH del medio tiene un papel fundamental ya que puede determinar la existencia de carga en el compuesto orgánico o en la superficie de los coloides del suelo (Celis et al., 1999a y Li et al., 2001).

Enlace covalente

La formación de enlaces covalentes entre compuestos orgánicos y las sustancias húmicas del suelo, viene ayudada con frecuencia por procesos de catálisis química, fotoquímica o enzimática. Los plaguicidas con tendencia a participar en este tipo de interacciones son aquellos que en su estructura contienen grupos funcionales similares a los componentes del humus (Bollag y Myers, 1992; Bollag et al., 1992; Senesi, 1992). Además, plaguicidas con estructura semejante a los compuestos fenólicos pueden unirse covalentemente al humus.

Fuerzas de Van der Waals

Las fuerzas de van der Waals consisten en atracciones débiles, de pequeño alcance, entre dipolo-dipolo o dipolo-dipolo inducido, que pueden verse aumentadas por el efecto hidrofóbico. Las interacciones entre plaguicidas no polares y no iónicos y moléculas de ácidos húmicos son de particular relevancia. Son relativamente débiles y disminuyen rápidamente con la distancia. No obstante, al ser estas fuerzas aditivas (Senesi, 1992), su contribución aumenta con el mayor tamaño de la molécula que interacciona y su capacidad de adaptación a la superficie del adsorbente. La adsorción de picloran a sustancias húmicas parece que tiene lugar por este mecanismo (Nearpass, 1976). En el estudio de los mecanismos de adsorción de dietilftalato a ácidos húmicos, Schulten et al. (2001) sugirieron interacciones dipolo-dipolo entre grupos funcionales del tipo carboxílico y estructuras no cargadas como los anillos aromáticos. Este mecanismo también se ha propuesto que contribuye a la adsorción de imazetapir (Senesi et al., 1997) y fluoridona (Weber et al., 1986).

Puente de hidrógeno

Este mecanismo consiste en una interacción intra o intermolecular dipolo-dipolo más fuerte que las fuerzas de Van der Waals. El átomo de hidrógeno actúa de puente entre dos átomos electronegativos. Uno de los enlaces es covalente mientras que el otro se hace por fuerzas electrostáticas. Las sustancias húmicas, con muchos grupos funcionales que contienen oxígeno o nitrógeno, forman puentes de hidrógeno con grupos complementarios de las moléculas de plaguicida. Se puede producir competencia con las moléculas de agua por los sitios de adsorción (Senesi, 1992). Numerosos estudios han puesto de manifiesto la importancia de los enlaces de hidrógeno en la adsorción de

compuestos como 2,4-D (Johnson et al., 1995), tiazafurón (Cox et al., 1995b) e imazaquin (Ferreira et al., 2002).

Transferencia de carga

La presencia en las sustancias húmicas tanto de estructuras deficientes en electrones, como las quinonas y estructuras ricas en electrones, como los difenoles, sugiere la posible formación de complejos de transferencia de carga por mecanismos donador-aceptor de electrones. Hay plaguicidas que pueden actuar como donadores de electrones, por ejemplo los grupos amino o los átomos de nitrógeno de heterociclos de las *s*-triazinas, piridinas e imidazolinonas, o bien como aceptores de electrones, como el anillo bipyridílico desactivado de atrazina (Senesi, 1992). La transferencia de carga implica el solapamiento de los orbitales moleculares y un intercambio parcial de la densidad de electrones (Von Oepen et al., 1991). Senesi et al. (1987) observaron la formación de complejos de transferencia de carga entre centros aceptores de ácidos húmicos y ureas sustituidas y *s*-triazinas, con capacidad de donar electrones.

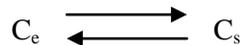
Cambio de ligando

La adsorción por cambio de ligando implica la sustitución de uno o más ligandos del adsorbente por la molécula orgánica, la cual debe ser un agente quelante más fuerte que los ligandos desplazados. Un ejemplo son las moléculas de agua que parcialmente atraen a los cationes polivalentes asociados a la materia orgánica, que son sustituidas por moléculas de adsorbentes como las *s*-triazinas y plaguicidas aniónicos (Nearpass, 1976; Senesi, 1992). Dubus et al. (2001) sugirieron que el cambio de ligando en superficies con óxidos es el principal mecanismo de adsorción de clofencet a los suelos estudiados. El

cambio de ligando también se ha propuesto como mecanismo de retención para compuestos iónicos bipolares o zwitteriones como imazaquin en suelos tropicales (Regitano et al., 2000) y glifosato en goetita (Sheals et al., 2002).

1.1.1.1 b) Medida de la adsorción

La medida y caracterización de la adsorción permite investigar los mecanismos de este tipo de interacción y obtener resultados comparativos, tanto entre adsorbatos (plaguicidas) como entre adsorbentes (suelos) diferentes y en diversas condiciones (Beck et al., 1993). La adsorción al suelo se caracteriza normalmente por una constante de reparto K , con el subíndice d para indicar distribución. Se define como la proporción entre la cantidad de moléculas adsorbidas y la cantidad de moléculas en disolución en el equilibrio.



Donde, C_e es la concentración de soluto en equilibrio con el suelo y C_s es la cantidad adsorbida por unidad de masa del sólido.

Frecuentemente se asume que C_s depende linealmente de C_e y se define un coeficiente de distribución, K_d , como:

$$K_d = C_s/C_e$$

No obstante, en la mayoría de los casos la relación entre la cantidad adsorbida y la cantidad en disolución no es lineal por lo que el valor de K_d depende de la concentración a la que se evalúe.

Isotermas de adsorción

Las isotermas de adsorción son representaciones de C_s en función de C_e a una determinada temperatura. Para ello se hacen interaccionar cantidades conocidas de sólido y disoluciones de plaguicida con diferentes concentraciones iniciales. Una vez alcanzado el equilibrio, se determina la cantidad de plaguicida en disolución C_e , así como la cantidad adsorbida, C_s , para las distintas concentraciones iniciales.

El valor de C_s se puede obtener directamente, determinando la cantidad de plaguicida que queda adsorbida en suelo, tras la extracción del mismo por técnicas adecuadas o indirectamente, por diferencia entre la cantidad inicial del plaguicida y la cantidad en equilibrio, asumiendo que la desaparición del plaguicida se deba a la adsorción. A pesar de que este último método pueda presentar errores al no tener en cuenta la pérdida de plaguicida por procesos como la volatilización o la degradación, su sencillez y rapidez hace que sea el habitualmente usado en la obtención experimental de las isotermas de adsorción.

La forma de las isotermas es una característica importante porque proporciona información acerca de los mecanismos de adsorción (Calvet, 1989) y está también relacionada con la naturaleza de la molécula a adsorber y de la superficie adsorbente. Según Giles et al. (1960) las isotermas de adsorción pueden ser clasificadas en cuatro tipos distintos, dependiendo de la pendiente del tramo inicial de la curva. En la Figura 1.2 se muestran los 4 tipos de isotermas de adsorción que a continuación se describen:

Isotermas tipo S

Estas isotermas son típicas de adsorbentes con una alta afinidad por el disolvente. La dirección inicial de la curvatura indica que la adsorción se ve facilitada a medida que aumenta la concentración del plaguicida. Estas isotermas indican: i) una interacción específica entre el soluto y el adsorbente; ii) una atracción intermolecular moderada y iii) competencia entre el soluto, el disolvente y las moléculas adsorbidas por los sitios específicos de adsorción. Ejemplos de sistemas mostrando este tipo de isoterma son interacciones entre solutos lipofílicos y superficies hidrofílicas, solutos hidrofóbicos y superficies lipofílicas y solutos hidrofílicos y superficies hidrofílicas.

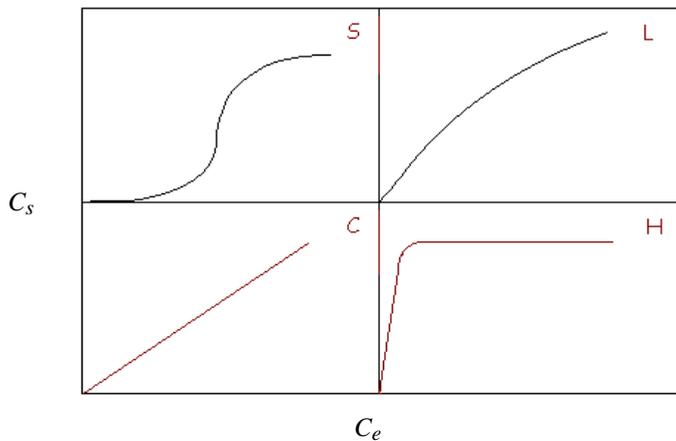


Figura 1.2. Tipos de isotermas de adsorción según Giles et al. (1960).

Isotermas tipo L

Son la más conocidas y muchas veces se les llaman isotermas normal o de Langmuir, esta última por seguir su ecuación de adsorción. Representan una alta afinidad relativa entre el soluto y el adsorbente en la fase inicial de la curva. Mientras los sitios específicos de adsorción van siendo ocupados, le resulta más

difícil al soluto encontrar un lugar libre para adsorberse. Estas isothermas indican: i) múltiples interacciones entre el soluto y el adsorbente; ii) fuerte atracción molecular entre las moléculas de soluto y iii) poca competencia entre el soluto y el disolvente por los sitios de adsorción. Ejemplos de sistemas mostrando este tipo de isothermas son interacciones entre solutos lipofílicos y superficies lipofílicas, solutos ionizables y superficies de diferente carga y entre solutos moderadamente hidrofílicos y superficies hidrofílicas.

Isothermas tipo C

Estas isothermas resultan de los casos en que el soluto penetra en la fase sólida más rápidamente que el disolvente. Se caracterizan por un reparto constante del soluto entre la disolución y el adsorbente, hasta el máximo valor que se pueda llegar. Ejemplos de sistemas mostrando este tipo de comportamiento son las interacciones entre compuestos no-iónicos y superficies orgánicas y la mayoría de los compuestos químicos en un estrecho rango de concentraciones.

Isothermas tipo H

Son isothermas muy poco comunes y representan un caso especial de las isothermas tipo L. Se observan cuando hay una afinidad muy elevada entre el soluto y la superficie adsorbente que, a bajas concentraciones de soluto, todo o prácticamente todo, queda adsorbido en la superficie. La parte inicial de la isoterma es por esta razón vertical. Es poco habitual y suele darse para adsorbatos de elevado peso molecular como micelas iónicas o especies poliméricas. Ejemplos de estas isothermas son interacciones entre cationes orgánicos y arcillas o ácidos húmicos.

Ecuaciones de adsorción

Para la descripción cuantitativa de los procesos de adsorción, las isothermas obtenidas experimentalmente suelen ajustarse a diferentes ecuaciones matemáticas o modelos de adsorción.

Ecuación de Langmuir

La ecuación de Langmuir está basada en una serie de consideraciones teóricas. Fue inicialmente desarrollada para la adsorción de gases a sólidos en base a una serie de suposiciones: la superficie del adsorbente posee un número fijo de sitios de adsorción, siendo la energía de adsorción idéntica para todos los sitios de la superficie del adsorbente e independiente del recubrimiento superficial. Cada sitio puede ser ocupado por una única molécula de adsorbato y no existen interacciones entre las moléculas adsorbidas en los distintos sitios, por lo que la máxima adsorción corresponde a una monocapa sobre la superficie.

La ecuación de adsorción de Langmuir puede ser expresada en función de la concentración de la siguiente forma:

$$C_e/C_s = C_e/C_m + 1/C_m \times L$$

Siendo C_e la concentración del plaguicida en el equilibrio, C_s la cantidad de plaguicida adsorbido, C_m representa la cantidad máxima de adsorbato correspondiente a una monocapa adsorbida sobre la superficie y L es una constante que depende de la energía de adsorción y nos informa de la afinidad del adsorbente por el adsorbato. Los valores de C_m y L pueden obtenerse del ajuste lineal de los datos de C_e/C_s frente a C_e .

Ecuación de Freundlich

Es una ecuación empírica que relaciona la cantidad de soluto adsorbido con la concentración en equilibrio existente en disolución. Se expresa como:

$$C_s = K_f \times C_e^{1/n_f}$$

Donde C_s es la cantidad de plaguicida adsorbido, C_e la cantidad de plaguicida en el equilibrio y K_f y $1/n_f$ son constantes características que pueden obtenerse del ajuste lineal de los datos de $\log C_s$ frente a $\log C_e$.

El valor de K_f corresponde a la cantidad de plaguicida adsorbido cuando la concentración del plaguicida en el equilibrio es la unidad y es considerada como una medida de la capacidad de adsorción del suelo para el plaguicida en cuestión. El parámetro $1/n_f$ es la pendiente de la representación lineal de $\log C_s$ frente a $\log C_e$ y se considera una medida de la intensidad de adsorción. Los valores de K_f permiten comparar la capacidad de adsorción de diferentes plaguicidas y de distintos suelos, siempre y cuando se hayan utilizados condiciones experimentales similares (Bowman y Sans, 1985) y los valores de $1/n_f$ sean similares (Hance, 1967). También es importante que el valor de $C_e=1$ esté dentro o muy cerca del intervalo de concentraciones experimentales (Hermosín y Cornejo, 1987).

Cuando $1/n_f$ es igual a 1, la ecuación de Freundlich se expresa como: $C_s=K_f \times C_e$, se cumple la relación lineal entre C_s y C_e y K_f coincide con el coeficiente de distribución K_d , y en este caso sería independiente de la concentración. Cuando $1/n_f$ difiere de la unidad el error introducido al asumir una relación lineal entre C_s y C_e depende del valor de $1/n_f$ y de la concentración. A medida que $1/n_f$ se aleja de la unidad las diferencias entre K_f y K_d se hacen

mayores, especialmente para valores de C_e muy diferentes de la unidad (Hamaker y Thompson, 1972; Green y Karichoff, 1990).

Debido a la importancia que tiene la materia orgánica en la adsorción de muchos plaguicidas, fundamentalmente los pocos solubles en agua (Chiou, 1989) se suele expresar el coeficiente de distribución K_d en función del contenido en carbono orgánico (C.O.) del suelo (Lambert, 1968) a través de la ecuación:

$$K_{OC} = K_d/C.O.(%)$$

La desorción se suele medir después de la adsorción por medio de lavados sucesivos del suelo con las moléculas de plaguicida adsorbidas. Las isothermas de desorción se construyen representando la cantidad que permanece adsorbida por el suelo, en las distintas y sucesivas desorciones, frente a la concentración del plaguicida en la solución de equilibrio. También estas isothermas se pueden ajustar a las ecuaciones de Langmuir o de Freundlich.

Cuando la isoterma de desorción es diferente a la de adsorción, se dice que existe un fenómeno de histéresis. La diferencia entre las cantidades de plaguicida adsorbidas en la desorción y en la adsorción indica el grado de histéresis. Los coeficientes de histéresis se pueden calcular como el cociente entre los valores de $1/n_f$ de la desorción y la adsorción $H = 1/n_{fd} / 1/n_f$ (O'Connor et al.; 1980, Barriuso et al., 1994). Los fenómenos de histéresis pueden deberse a la presencia de plaguicidas fuertemente adsorbidos o atrapados en los poros de la materia orgánica o de las partículas de la arcilla, y

por tanto irreversiblemente adsorbido a los coloides del suelo. (Wauchope y Myers, 1985).

1.1.1.1 c) Factores que influyen en la adsorción-desorción

Los factores que influyen en los procesos de adsorción desorción pueden agruparse en:

- Propiedades físico-químicas del plaguicida
- Composición coloidal del suelo
- Características de la disolución del suelo
- Otros factores: temperatura, humedad

Propiedades físico-químicas del plaguicida

Las características físico-químicas del plaguicida pueden indicarnos su comportamiento en la adsorción. Entre las características más determinantes destacan la estructura, carga y tamaño molecular, además de su solubilidad en agua.

Según Bailey y White (1970), los factores estructurales que determinan el carácter químico de los plaguicidas, y por tanto, su influencia en la adsorción son: la naturaleza de los grupos funcionales del compuesto orgánico, la naturaleza y posición de los grupos sustituyentes respecto al grupo funcional y la presencia y magnitud de insaturaciones en la molécula que puede afectar al balance hidrofílico-hidrofóbico.

La carga molecular del plaguicida y su distribución son factores a tener en cuenta en el proceso de adsorción. Los compuestos que existen en disolución

como cationes son rápidamente atraídos por las superficies con carga negativa de los minerales de la arcilla y de las sustancias húmicas. Los plaguicidas aniónicos son repelidos por estos constituyentes, aunque son atraídos por las superficies de carga positiva como los óxidos metálicos. En el caso de que existan electrones π , la naturaleza y posición de los grupos funcionales determina la deslocalización de la carga en la molécula, lo que puede afectar en gran medida a otros mecanismos de interacción tales como los enlace de H o los enlaces por transferencia de carga (Calvet,1989).

En algunos casos la carga puede ser débil, produciéndose entonces una simple polaridad de la molécula y la interacción con la superficie adsorbente puede darse entre dipolos inducidos o permanentes. En disolución acuosa los plaguicidas con baja polaridad tienen gran dificultad en competir con las moléculas de agua por las superficies polares y, por ello, las interacciones hidrofóbicas parecen jugar un papel fundamental en la adsorción.

El tamaño de la molécula de plaguicida puede influir en la adsorción por diferentes razones. Por una parte tiene una relación directa con las fuerzas de van der Waals, por lo que en moléculas voluminosas este tipo de interacción puede ser importante en la adsorción. Por otro lado, el mayor tamaño puede impedir que la molécula llegue a los microporos de los óxidos metálicos, minerales de la arcilla y otros componentes del suelo. Además, el tamaño molecular influye en la solubilidad en agua (a mayor tamaño menor solubilidad) y, por tanto, de una forma indirecta en la magnitud de la adsorción.

De acuerdo con Calvet (1989), parece haber una correlación negativa entre la solubilidad de los plaguicidas en agua y la adsorción a suelos,

especialmente para moléculas apolares o de escasa polaridad. Por otro lado, Bailey y White (1970) y Bailey et al. (1968) encontraron una relación directa entre la solubilidad en agua y la adsorción de s-triazinas y ureas sustituidas a Na-montmorillonita, aunque no observaron el mismo comportamiento en el caso de anilinas, fenilcarbamatos, anilida y amidas. Para una familia de plaguicidas, muchos factores pueden interactuar para determinar si hay o no una relación directa entre adsorción y solubilidad; éstos pueden incluir propiedades tales como la acidez de la superficie y la polaridad.

Composición coloidal del suelo

De los distintos componentes del suelo, los minerales de la arcilla, los óxidos metálicos y la materia orgánica (componentes coloidales del suelo) aportan gran parte de la superficie involucrada en los procesos de adsorción. La importancia relativa de cada uno de estos componentes depende en gran medida de las características de carga del compuesto a adsorber. La fracción coloidal o arcilla del suelo se define como aquella que engloba las partículas de diámetro inferior a 2 μm . Por su elevada superficie específica y reactividad superficial, se considera a los componentes de la fracción arcilla como los principales responsables de las interacciones que tienen lugar entre la fase sólida del suelo y los compuestos orgánicos e inorgánicos que a él llegan, principalmente cuando están en disolución. Por eso es conocido también como la fracción activa del suelo y está formada por dos tipos de componentes: los componentes inorgánicos o minerales y los componentes orgánicos.

Componentes inorgánicos

La fracción coloidal inorgánica del suelo está compuesta en su mayoría por minerales de la arcilla o filosilicatos y por óxidos, hidróxidos y

oxihidróxidos metálicos, fundamentalmente de Fe, Al y Si. El término arcilla se refiere generalmente al material inorgánico de tamaño inferior a 2 μm , mientras que mineral de la arcilla se refiere a un tipo específico de minerales que se encuentran en la fracción de tamaño arcilla ($< 2\mu\text{m}$) de los suelos (Moore y Reynolds, 1987).

Los minerales de la arcilla están constituidos por láminas de unidades estructurales sobrepuestas, constituyendo los iones un retículo regular en el que figuran las dos unidades siguientes: octaedro, constituido por un ión metálico (Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}) en el centro y en los vértices por iones O^{2-} o OH^- y el tetraedro formado por un ión Si^{4+} que ocupa el centro y los vértices ocupados por iones O^{2-} o excepcionalmente OH^- . Estas unidades se repiten formando unas capas octaédricas o tetraédricas, respectivamente. Las unidades estructurales (láminas) están en general formadas por la conexión de dos o tres capas (una o dos tetraédricas, respectivamente, y una octaédrica). La estructura global de los minerales resulta del apilamiento de láminas tridimensionales, existiendo entre ellas lo que se define como el espacio interlamilar, que contribuye a la elevada superficie específica de estos minerales.

Entre dos láminas adyacentes pueden intervenir fuerzas de van der Waals o fuerzas electrostáticas. En diversos minerales de la arcilla, la estructura está desequilibrada electrostáticamente como resultado de la sustitución de iones durante la formación de los minerales, sin alterar sus dimensiones. Estas alteraciones son denominadas sustituciones isomórficas. Es el caso de la sustitución del ión Si^{4+} por el ión Al^{3+} , del Al^{3+} por Fe^{2+} o Mg^{2+} , que originan un exceso de cargas negativas permanente. Este desequilibrio queda compensado por cationes, hidratados o no. Cuando en la disolución del suelo existen otros

cationes se da el cambio de los que existen en la fase interlaminar por los que existen en la disolución hasta llegar a un equilibrio, esta propiedad se denomina capacidad de cambio catiónico (CCC).

Como la montmorillonita y la vermiculita tienen mayor superficie específica y CCC, su capacidad de adsorción de compuestos orgánicos es mayor que en el caso de otros minerales de la arcilla no expansibles (Cox et al., 1993; Hermosín et al., 1993). Según Green (1974), el grado en que estas superficies adsorben moléculas orgánicas depende principalmente de la naturaleza de los cationes de cambio, del grado de hidratación de la arcilla y de las propiedades de la molécula orgánica en cuestión.

La adsorción de plaguicidas a los minerales de la arcilla puede ocurrir fundamentalmente en los cationes de cambio (bien directamente o por medio de moléculas de agua coordinadas a los cationes de cambio) o por interacción con los grupos OH basales de la caolinita y los de los bordes de las láminas de los silicatos (Calvet, 1989). Laird (1996) y Celis et al. (1997a), pusieron de manifiesto la existencia de micrositos hidrófobos situados entre las cargas de los espacios interlaminares que pueden adsorber moléculas orgánicas neutras por simple interacción hidrofóbica. También en este espacio interlaminar, los plaguicidas se pueden adsorber por interacción donador-aceptor de electrones (Hederlain y Schwarzenbech, 1993).

Los óxidos metálicos coloidales que incluyen hidróxidos, oxihidróxidos y óxidos propiamente dichos son componentes muy importantes de la arcilla, siendo los de aluminio, silicio y sobre todo los de hierro especialmente abundante (Schwertmann y Taylor, 1989). En estos minerales los centros

activos de adsorción son los hidroxilos superficiales que, según el pH del medio en que se encuentren, se pueden comportar como aceptores o donadores de electrones, es decir, tienen cargas dependientes del pH (Hingston et al., 1972). En suspensión acuosa, los átomos metálicos terminales del óxido completan su esfera de coordinación con grupos hidroxilos y moléculas de agua que adsorben H^+ o OH^- dependiendo del pH de la disolución. El pH al cual las cantidades adsorbidas de H^+ y OH^- es la misma se denomina punto de carga cero del óxido.

Los óxidos y oxihidróxidos poseen una elevada superficie específica, lo que significa que pueden ser buenos adsorbentes de compuestos orgánicos, fundamentalmente aniónicos (Hermosín y Cornejo, 1991; Madrid y Díaz Barrientos, 1991; Celis et al., 1999b; Dubus et al., 2001).

En general los compuestos orgánicos de baja polaridad no son capaces de competir con las moléculas de agua, que solvatan las superficies hidrofóbicas de los coloides minerales, por posibles sitios de adsorción. Además, la concentración del compuesto orgánico en la disolución del suelo suele ser demasiado pequeña, para competir eficazmente con las moléculas de agua por los sitios de adsorción (Calvet, 1989). Por ello, frecuentemente se considera que los coloides minerales tienen un papel secundario en la adsorción de plaguicidas no iónicos salvo en el caso de suelos de muy bajo contenido en carbono orgánico. Para estos compuestos muy hidrofóbicos y en suelos con un contenido en materia orgánica mayor que el 2%, la adsorción ocurre fundamentalmente debido a la materia orgánica (Senesi, 1992; Schulten et al., 2001; Nemeth-Konda et al., 2002).

Muchos autores han puesto de manifiesto las limitaciones de considerar a la materia orgánica como la única responsable de la adsorción en el caso de compuestos polares (Weber et al., 1986; Reddy y Gambrell, 1987; Calvet, 1989; Hermosín y Cornejo, 1991; Cox et al., 1995a y b; Cox et al., 1996a; Wauchope et al., 2002; Fernandes et al., 2003). En muchos casos se ha encontrado una mayor correlación entre la adsorción y el contenido de arcilla de los suelos que con el de materia orgánica (Hermosín et al., 1991; Hermosín y Cornejo, 1991; Cox et al., 1993; Cox et al., 1994; Aguer et al., 2000; Hermosín et al., 2000). En estos casos el compuesto orgánico considerado tenía siempre características polares, iónicas o ionizables. Para estas condiciones Hermosín y Cornejo (1994) proponen el uso de un coeficiente de adsorción normalizado al contenido de arcilla, K_{clay} , similar al coeficiente de adsorción normalizado al contenido de carbono orgánico, K_{OC} , que resalta la importancia de los coloides minerales en la adsorción y reduce la variabilidad en la adsorción.

Componentes orgánicos

La fracción orgánica en el suelo está compuesta por organismos vivos y sus restos no descompuestos, parcialmente descompuestos y completamente descompuestos. La materia orgánica en el suelo es la terminología usada para referirse más específicamente a los componentes no vivos, siendo una mezcla heterogénea compuesta de un gran número de productos resultantes de las transformaciones químicas y microbianas de desechos orgánicos. Esta transformación, conocida en su conjunto como “proceso de humificación,” origina el humus, una mezcla de sustancias que posee resistencia a ataques posteriores de microorganismos (Hayes y Swift, 1978). La materia orgánica del suelo puede ser separada en dos grupos mayoritarios: I) material inalterado, que incluye desechos frescos y componentes no transformados de desechos más

antiguos; II) productos transformados, o humus, muy diferentes a las estructuras de las que derivan. Estos compuestos transformados son usualmente referidos como productos humificados, aunque en realidad están constituidos por sustancias húmicas y no húmicas (Kononova, 1966). Los productos humificados o humus constituyen la fracción coloidal orgánica del suelo y se dividen en sustancias no húmicas y sustancias húmicas.

Sustancias no húmicas

Son compuestos pertenecientes a los polisacáridos, polipéptidos, ácidos grasos y otros compuestos de bajo peso molecular procedentes de restos animales y vegetales y para los que es posible asignar una fórmula molecular precisa de las subunidades que los componen. Son, en general, fácilmente atacados o degradados por los microorganismos, lo que hace que el tiempo de vida media de estas sustancias en el suelo sea relativamente corto (Khan, 1980).

Sustancias húmicas

Grupo de compuestos orgánicos que se forma a partir de las sustancias no húmicas a través de procesos de biodegradación y de síntesis. Son mucho más estables, por lo que constituyen el grueso de la materia orgánica de la mayoría de los suelos (Khan, 1980).

Las sustancias húmicas se caracterizan por tener una estructura química compleja y amorfa, carácter ácido, color oscuro y elevado peso molecular. Se considera que están formadas por un esqueleto fundamentalmente aromático, a base de heterociclos nitrogenados, quinonas, fenoles y ácidos benzoicos, con cadenas alifáticas laterales. Más que polímeros tridimensionales, las sustancias

húmicas son predominantemente lineales con puentes de unión entre diferentes puntos de los tramos lineales (Oades, 1989).

Según su solubilidad las sustancias húmicas se dividen en tres grupos (Aiken et al., 1985):

- a) huminas, fracción de las sustancias húmicas que es insoluble en agua a cualquier pH;
- b) ácidos húmicos, fracción de sustancias húmicas que es insoluble en ácido, pero soluble a pH más elevados;
- c) ácidos fúlvicos, fracción que es soluble en cualquier pH.

Estructuralmente los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos son muy similares, diferenciándose sólo en el peso molecular y en el contenido en grupos funcionales. Las huminas pueden consistir, según Stevenson (1985), en: (i) ácidos húmicos íntimamente ligados a la fracción mineral que no pueden ser separados, y (ii) materia húmica altamente condensada con un contenido elevado en carbono (>60%) y por eso insoluble en álcalis.

Se supone que todos los suelos contienen un largo espectro de sustancias húmicas, sin embargo, el patrón de distribución varía espacialmente: de suelo en suelo (Zech et al., 1994a) y con la profundidad en el perfil del suelo (Zsolnay y Steindl, 1991; Zech et al., 1994b; Kalbitz et al., 1997; Xing y Pignatello, 1997; Zysset y Berggren, 2001) y temporalmente (Zsolnay, 2003). El contenido de materia orgánica del suelo es diferente en suelos considerados naturales (bajo bosque, poco o nada labrados) y en suelos alterados por la actividad humana (agricultura) según el cultivo y el grado de mecanización

aplicado. En los primeros, el porcentaje de materia orgánica es en general mayor que en los segundos dado que el continuo laboreo origina un aumento de la mineralización de la materia orgánica y cantidades más o menos grandes, son sustraídas del ciclo natural del Carbono en forma de cosecha útil para el hombre (Gallardo Lancho, 1982).

Los grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas son muy numerosos y variados. Incluyen grupos carboxilos, carbonilos, hidroxilos, sulfhidrilos, aminos, sulfónicos, etc. Los grupos carboxilos e hidroxilos son los principales responsables de su elevada capacidad de intercambio catiónico (CCC), dependiente del pH, así como de su capacidad para complejar metales. Se considera que los grupos hidroxilos y carboxilos están directamente implicados en la interacción con compuestos orgánicos catiónicos y otros componentes como los óxidos metálicos y los minerales de la arcilla (Theng, 1974; Cornejo y Hermosín, 1996).

Por su naturaleza aromática y contenido en grupos funcionales polares, las sustancias húmicas tienen un doble carácter hidrófobo e hidrófilo. Así, las estructuras lineales pueden adoptar en disolución acuosa una conformación esférica de forma que las regiones hidrófobas quedan hacia el interior mientras que la mayoría de los grupos polares quedan próximos a la periferia (Wershaw, 1986; Oades, 1989). Los grupos periféricos polares son los responsables del hinchamiento de las sustancias húmicas en disolución acuosa, donde pueden llegar a adsorber de 2 a 6 veces su propio peso de agua (Ahlrichs, 1972). Existen, no obstante, grupos internos responsables de una cierta capacidad de cambio iónico que ocurre lentamente en comparación con los grupos periféricos (Oades, 1989).

Los compuestos orgánicos apolares interaccionan fundamentalmente con las regiones hidrofóbicas de la materia orgánica del suelo de forma que la adsorción es menor al aumentar el contenido en grupos funcionales polares (Rutherford et al., 1992). Por el contrario, las regiones hidrofílicas contribuyen a la retención de solutos polares, más aún teniendo en cuenta que la saturación en agua de la materia orgánica del suelo en disolución aumenta aún más su polaridad, y por tanto su compatibilidad con los solutos polares (Rutherford y Chiou, 1992; Negre et al., 2001).

Excepto en el caso de solutos polares o suelos con bajo contenido en materia orgánica se considera que los coloides orgánicos del suelo juegan un papel prioritario en los procesos de adsorción. Es frecuente obtener una correlación bastante alta adsorción-contenido de materia orgánica (Wolfe et al., 1990; Ferreira et al., 2002), lo que según Chiou et al. (1985) es una consecuencia de la alta afinidad de las moléculas de agua por las superficies minerales, quedando por tanto excluidas para la adsorción de compuestos orgánicos.

Características de la disolución del suelo

Es importante tener en cuenta el efecto del pH y de la fuerza iónica de la disolución del suelo. Numerosos trabajos han puesto de manifiesto la importancia del pH en los procesos de adsorción (Weber, 1982; Hermosín et al., 1987; Sarmah et al., 1998; Li et al., 2001). El pH de la disolución del suelo determina la carga superficial de los componentes con carga variable del suelo y la ionización de los plaguicidas con propiedades ácidas o básicas.

La variación de la carga superficial de los coloides del suelo influye directamente en su capacidad de interactuar con especies iónicas. Así, por ejemplo, la adsorción de compuestos aniónicos a óxidos metálicos aumenta al disminuir el pH como consecuencia del aumento del número de centros positivos en la superficie del óxido. La adsorción de compuestos catiónicos a sustancias húmicas disminuye con la disminución del pH debido a la protonación de los grupos -COO^- y O^- del polímero orgánico. El pH también afecta a la ionización de los plaguicidas con características ácidas o básicas e influye directamente en el proceso de adsorción. El efecto del pH depende del carácter ácido o básico del compuesto así como de la carga de la superficie adsorbente.

La fuerza iónica asume un papel importante en los procesos de adsorción por fuerzas electrostáticas, ya que con el aumento de la fuerza iónica disminuye la adsorción debido a la competencia por los sitios de adsorción entre el soluto y los iones en solución (Watson et al., 1973). Según Calvet (1989), en el caso de moléculas neutras se observa que un aumento de la fuerza iónica por encima de la unidad da lugar a un aumento de la adsorción, mientras que para valores por debajo de la unidad no existe una tendencia general.

Otros factores

Temperatura

Los procesos de adsorción son exotérmicos, mientras que los de desorción son endotérmicos (Clark, 1974), por lo que un incremento de temperatura dará lugar a una disminución de la adsorción y a un aumento de desorción. Por otra parte, la temperatura afecta a la solubilidad de los plaguicidas afectando también indirectamente a la adsorción. Según Hamaker y

Thompson (1972), el efecto de la temperatura en la adsorción depende de la fuerza de la interacción entre el soluto y la superficie; a mayor fuerza de interacción mayor es la influencia de la temperatura.

Humedad

La importancia del contenido de humedad del suelo en la adsorción del plaguicida puede ser explicada por dos mecanismos, uno se relaciona con la solubilidad del plaguicida, ya que la solubilidad varía con el contenido de agua (Bailey y White, 1970). Cuando este contenido es bajo, debido a la baja solubilidad que generalmente presentan la mayor parte de los plaguicidas, tienden a quedar en estado sólido y, por tanto, difícil de adsorberse. El otro mecanismo tiene que ver con la competencia del plaguicida por los lugares de adsorción a diferentes niveles de humedad. El agua está adsorbida muy fuertemente en los lugares de adsorción del coloide por ser un compuesto muy polar. Por ello los contenidos bajos en humedad provocan una fuerte retención del agua, que deja pocos sitios activos libres para que el plaguicida pueda adsorberse (Navarro Blaya, 1986).

De acuerdo con Chiou y Shoup (1985), la retención de los compuestos orgánicos por los constituyentes minerales y orgánicos depende de la humedad del suelo. En suelos secos, la adsorción de compuestos orgánicos resulta fundamentalmente de las interacciones del plaguicida con los componentes minerales, mientras que en suelos húmedos, es la materia orgánica la que tiene un papel más importante. Esto es debido a la fuerte interacción de dipolo entre la fracción mineral del suelo y las moléculas de agua, la cual excluye a los compuestos orgánicos, especialmente los pocos solubles en agua de esta

fracción del suelo. Así, la solubilidad del plaguicida en el agua sería uno de los principales factores que afectan al fenómeno de adsorción (Chiou et al., 1983).

1.1.1.2 Procesos de lixiviación

La lixiviación es el proceso por el cual el agua, procedente de lluvia o de riego, arrastra o disuelve moléculas de plaguicidas dando lugar a un movimiento vertical a lo largo del perfil del suelo, lo cual incide en la efectividad biológica del plaguicida y en la contaminación de aguas subterráneas. El riesgo de contaminación de acuíferos por el movimiento vertical de plaguicidas depende fundamentalmente de la velocidad de transporte a través del suelo y de su adsorción y degradación a lo largo del perfil del suelo, ya que ambos procesos disminuyen el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas (Bowman, 1989).

1.1.1.2 a) Factores que afectan la movilidad de plaguicidas en el suelo

Los principales factores que afectan a los procesos de movilidad de plaguicidas en suelos son las propiedades físico-químicas del plaguicida, la adsorción por los coloides del suelo, las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, la estructura del suelo, el clima, la forma y época de aplicación y prácticas culturales (riego, laboreo, etc.). De forma resumida se hará referencia, en las siguientes páginas, a los factores que mayor importancia tienen.

Adsorción por los coloides del suelo

La movilidad de los plaguicidas a lo largo del perfil del suelo es directamente proporcional a la solubilidad del plaguicida e inversamente proporcional a la adsorción (Beck et al., 1993). Los coloides minerales y la materia orgánica son los principales componentes del suelo responsables por los procesos de adsorción. En los horizontes más superficiales, la materia orgánica es, en general, el factor determinante de la adsorción, impidiendo o reduciendo los procesos de lixiviación (Bouchard y Lavi, 1985), mientras que al aumentar la profundidad, es la fracción mineral, arcillas y óxidos metálicos, los que controlan los procesos de adsorción-desorción (Beck et al., 1993).

Cuando se produce el fenómeno de desorción, el plaguicida puede movilizarse a lo largo del perfil por los procesos de percolación (Worrall et al., 1999). Asimismo, es importante referir que los coloides en suspensión pueden dar lugar al llamado “transporte facilitado”, que desde el punto de vista medioambiental, será relevante en el caso de: partículas coloidales en suspensión abundantes, plaguicidas fuertemente adsorbidos y plaguicidas con baja solubilidad en agua (Roy y Dzombak, 1997; Graber et al., 2001; McGechan y Lewis, 2002). Las moléculas de plaguicida adsorbidas a los coloides del suelo pueden ser transportadas hacia el agua superficial o subterránea. Los coloides en el agua actúan como una fase sólida móvil que puede adsorber moléculas orgánicas de la misma manera que la fase sólida inmóvil, aumentando así el transporte de contaminantes (McCarthy y Zachara, 1989; McGechan y Lewis, 2002).

La interacción de las moléculas de plaguicida con la materia orgánica disuelta o soluble también afecta a la lixiviación mediante mecanismos de

transporte facilitado. Estas interacciones en disolución han demostrado incrementar la solubilidad del compuesto, dando lugar a un aumento de su lixiviación (Nelson et al., 1998; Cox et al., 2000a; Graber et al., 2001). Se ha visto cómo la interacción del plaguicida en disolución depende de la naturaleza y fuente de la materia orgánica soluble (Clapp et al., 1996), siendo de especial importancia en los suelos tratados con enmiendas orgánicas (Celis et al., 1998b; Cox et al., 2001; Flores et al., 2001).

Características físico-químicas del plaguicida

Las principales características del plaguicida que van influir en el fenómeno de lixiviación a través del perfil del suelo son aquellas que determinan el grado de retención del plaguicida por los coloides del suelo, principalmente su ionizabilidad, solubilidad en agua, presión de vapor y carácter hidrofóbico (Weber et al., 1980). Estas características, como se dijo anteriormente, también influyen en la adsorción de plaguicidas al suelo. Por esta razón, mientras mayor sea la adsorción menor será el riesgo de lavado, aunque si el lavado es continuo el plaguicida puede desorberse y así aumentar la concentración de plaguicida en el lixiviado.

Los herbicidas catiónicos, como es el caso del paraquat y el diquat, son poco móviles, debido a los fuertes enlaces iónicos que forman con el complejo de cambio catiónico de los coloides del suelo. Herbicidas con propiedades básicas como las s-triazinas, presentan una movilidad de baja a moderada, dependiente del pH de los suelos: teniendo en cuenta que existe una relación inversa entre el pH y la adsorción, la movilidad será mayor bajo condiciones neutras o alcalinas que en condiciones ácidas. En cambio, los herbicidas ácidos, como es el caso del picloram, dicamba, 2,4-D, bentazona, son muy móviles

debido a su baja adsorptividad. Los herbicidas no iónicos, poco solubles en agua, como la trifluralina, son muy poco móviles en disolución, debido a su baja solubilidad (Calderón et al., 1999), pero pueden ser móviles en estado gaseoso debido a su alta presión de vapor, lo cual conlleva pérdidas por volatilización (Glotfelty y Caro, 1975). Los herbicidas muy solubles, como la hexazinona y el fenurón (Bouchard y Lavi, 1985) son muy móviles por su baja adsorptividad.

Estructura del suelo

El suelo posee un conjunto de características estructurales denominadas macroporos, donde están incluidos los conductos animales, canales de raíces, roturas y fisuras que se forman por el efecto del agua o por expansión y contracción del suelo, congelamiento y deshielo y conductos formados por la acción erosiva del agua, y que pueden existir a profundidades considerables del perfil del suelo. El movimiento de plaguicidas en el suelo se ve influenciado por la presencia de esos macroporos, originando flujos preferenciales sin pasar por la masa del suelo (Beven y Germann, 1981; Larsson et al., 1999). En este caso se habla de transporte hidrodinámico, mientras que el movimiento del plaguicida a través de la masa del suelo se da por difusión.

En sistemas con macroporos de gran diámetro y longitud, una gran parte del soluto puede ser transportado a lo largo del perfil del suelo sin entrar en contacto con la masa del suelo. De este modo, plaguicidas de muy baja solubilidad en agua que se adsorben fuertemente y en grandes cantidades en el suelo, pueden llegar a contaminar aguas subterráneas (White et al., 1986).

En los microporos del suelo el movimiento vertical de los plaguicidas en el suelo ocurre lentamente y predominan los procesos de difusión, adsorción y degradación.

Se ha demostrado que un mismo compuesto puede comportarse de forma diferente en suelos con distinta porosidad (Cox et al., 1997).

Intensidad y frecuencia de lluvia y/o riego

El aporte de agua al suelo, ya sea procedente de lluvia o de agua de riego, es un factor de gran importancia en lo que se refiere a la persistencia y lixiviación de plaguicidas en suelos. La intensidad, frecuencia, distribución y estacionalidad del agua aplicada afectan enormemente al movimiento y distribución de los plaguicidas en el suelo. La retención de plaguicidas en el suelo aumenta progresivamente con el tiempo tras su aplicación (Pignatello et al., 1993), por tanto las lluvias al principio de la aplicación tendrán gran influencia en la cantidad de herbicida lavada (Wauchope, 1978) y, consecuentemente, en la contaminación. Así, cuando se aplican plaguicidas en el otoño, el riesgo de lavado es mayor que si se aplica en primavera, ya que en este último caso, el plaguicida permanecerá más tiempo en el horizonte superficial donde su degradación se verá favorecida por las altas temperaturas (Nicholls, 1988).

Prácticas culturales

Las prácticas culturales tienen un efecto directo en la lixiviación de plaguicidas por distintos aspectos, la presencia de rutas preferenciales, la naturaleza y actividad microbiana del suelo y en la estructura del suelo.

En lo que se refiere a la existencia de rutas de flujo preferencial y, por lo tanto, al riesgo de contaminación por plaguicidas de aguas subterráneas, se sabe que el laboreo convencional tiende a destruir los canales y macroporos conectados con las superficies (Ehlers, 1975). Por otra parte, la utilización de un mínimo laboreo aumenta la microfauna y microflora del suelo, con lo que puede favorecer la biodegradación y, consecuentemente, una disminución en el riesgo de contaminación al reducirse la cantidad de plaguicida en la solución del suelo (Cox et al., 1996b; Calderón et al., 1999; Cox et al., 1999a). Estos efectos son inversos, y el alcance de cada uno de ellos depende de las características del compuesto en sí, del suelo y de las condiciones climáticas (Gish et al., 1995; Cox et al., 1999a). También se ha encontrado que en laboreo de conservación la materia orgánica en los primeros milímetros del suelo es mayor que en suelos con laboreo convencional (Calderón et al., 1999), por lo que la adsorción se puede ver favorecida y la lixiviación reducida.

Otro aspecto a considerar es la adición de enmiendas orgánicas al suelo de cultivo. Este procedimiento, además de aumentar el contenido en materia orgánica, también conlleva una alteración de la estructura del suelo. Por una parte, el aumento en materia orgánica del suelo tras la enmienda podría llevar a un aumento de adsorción de plaguicidas y/o a una mayor degradación dando lugar a una menor lixiviación (Guo et al., 1993; Cox et al., 2000b). Por otra parte, el cambio en la estructura del suelo puede dificultar o favorecer el desplazamiento del plaguicida (Sánchez-Camazano et al., 1996; Cox et al., 1997a). También puede haber un transporte facilitado del plaguicida cuando está adsorbido a los coloides (Cox et al., 2000b; Williams et al., 2002). Worrall et al. (2001), al estudiar el efecto de la adición de materia orgánica en la reducción de lixiviación de carbofurano, encontraron que la histéresis tiene un

papel más importante que la presencia de coloides orgánicos para la disminución del plaguicida en los lixiviados a largo plazo.

1.1.1.3 Otros procesos de transporte

Otros procesos de transporte que pueden tener una gran importancia en la dinámica y comportamiento de los plaguicidas en el medio ambiente en determinadas circunstancias son los procesos de volatilización, de escorrentía y la adsorción por plantas y microorganismos.

1.1.1.3 a) Volatilización

La volatilización es el proceso físico-químico por el cual un compuesto es transferido a la fase gaseosa. Puede resultar de la evaporación de la fase líquida, sublimación de la fase sólida, evaporación de una solución acuosa o desorción de la matriz del suelo (Bedos et al., 2002). La transferencia de los compuestos de un compartimento (suelo o planta) hacia la atmósfera conlleva distintos pasos, incluyendo no sólo la transformación de fase sino también los procesos de transporte. Los factores que influyen en la volatilización son: propiedades físico-químicas del plaguicida, las características del suelo, las condiciones climáticas y las prácticas de cultivo (Bedos et al., 2002).

Las características físico-químicas del compuesto juegan un papel fundamental en la determinación del comportamiento del plaguicida después de su aplicación. La presión de vapor, solubilidad en agua (y, consecuentemente, el coeficiente de Henry, o coeficiente de reparto entre la fase gaseosa y la fase acuosa) y el coeficiente de adsorción son los más relevantes. La importancia de

estos factores puede ser predicha por medio del modelo de monitorización desarrollado por Jury et al. (1983). Según estos autores, la duración y la intensidad del proceso de volatilización en suelos húmedos depende mayoritariamente de la constante de la ley de Henry, K_n .

La alta temperatura favorece la volatilización, porque la presión de vapor de un compuesto en una disolución acuosa depende exponencialmente de la temperatura. Sin embargo, la combinación temperatura del suelo y humedad puede limitar este efecto. La velocidad del viento y la humedad también afectan a la velocidad de volatilización. Según Grass et al. (1994), al estudiar la influencia del viento, temperatura y humedad del aire en la volatilización de trifluralina del suelo observaron que la menor tasa de volatilización tenía lugar en condiciones climáticas intermedias (temperatura de 21 °C, velocidad del viento de 1.0 m s⁻¹ y 49% de humedad relativa).

La temperatura, la humedad y las características del suelo también influyen en la volatilización. A un incremento en la temperatura del suelo, se espera un aumento de la volatilización. Sin embargo, este comportamiento está limitado por la sequía del suelo, ya que se puede favorecer la adsorción del plaguicida a la matriz del suelo, limitando así el transporte hacia la superficie del suelo. Álvarez-Benedi et al. (1999), al estudiar la volatilización de terbutrina en dos suelos diferentes (arenoso y arcilloso) y a dos temperaturas (15 y 25 °C) en una cámara de volatilización, encontraron que la tasa de volatilización aumentó con el incremento de temperatura y que a 25 °C la evaporación fue mayor en los suelos arenosos que en los suelos arcillosos, debido a la mayor adsorción del plaguicida en este último suelo.

Las prácticas de cultivo, en lo que concierne a la fecha y dosis de aplicación, la elección de la formulación, el tamaño de la gota del spray, la irrigación, la incorporación del plaguicida y el tipo de laboreo también influyen en la volatilización. Wienhold y Gish (1994), al estudiar el efecto del laboreo y de la formulación en la volatilización de atrazina y alacloro, observaron que el laboreo de conservación conlleva una menor pérdida de ambos plaguicidas y que con la formulación encapsulada hay una menor pérdida del plaguicida en los dos sistemas de laboreo.

1.1.1.3 b) Escorrentía

El proceso de escorrentía tiene lugar cuando la precipitación o el riego superan la tasa de infiltración de agua en el suelo. Según Wauchope (1978), las pérdidas de plaguicidas por escorrentía tienen lugar en disolución en el caso de plaguicidas relativamente solubles en agua, plaguicidas con solubilidades mayores de 2 mg L^{-1} , o con el plaguicida adsorbido a los coloides del suelo para plaguicidas con solubilidades inferior a 2 mg L^{-1} . Los factores más importantes que determinan las pérdidas por escorrentía son las condiciones climáticas, las características del suelo y del plaguicida y las prácticas culturales. La presencia de plaguicidas en las aguas superficiales lejos del lugar de aplicación es un hecho indicativo de este proceso. Cuando las precipitaciones o los riegos se producen en el momento en el que el plaguicida se encuentra en la superficie del suelo, el riesgo de contaminación de aguas superficiales se incrementa. En nuestro país, donde la mayor parte del agua de consumo humano procede de pantanos, este problema tiene una gran importancia. La dificultad para predecir este proceso hace que los modelos actuales no predigan de forma absoluta las concentraciones de plaguicida en las aguas de escorrentía sino más bien

establecen las condiciones que disminuyen las pérdidas y sugieren las medidas más apropiadas para minimizar el proceso, como la incorporación del plaguicida a una cierta profundidad o el empleo de formulaciones de liberación controlada.

1.1.1.3 c) Absorción por plantas y organismos

El proceso de absorción por plantas y organismos de los plaguicidas que se encuentran en el suelo está determinado en gran medida a la fijación del plaguicida por los coloides del suelo y constituye la finalidad de la aplicación de los productos fitosanitarios a los suelos. Las plantas y microorganismos asimilan plaguicidas, acumulándolos y metabolizándolos. La gran variedad de plantas y organismos resistentes a determinados plaguicidas lo son porque lo metabolizan a compuestos no tóxicos, lo que constituye un vía natural de descontaminación (Schmidt y Fedtke, 1977).

1.1.2 Procesos de degradación

Los plaguicidas se ven afectados en el suelo por diferentes transformaciones que son las responsables de su desaparición, generalmente con formación de compuestos de menor toxicidad (Cheng y Lehman, 1985) y que, por tanto, reducen la contaminación de plantas y aguas superficiales y subterráneas. Los procesos de degradación o transformación se suelen dividir, según su origen, en tres grupos: 1.- degradación química, mediadas por gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, 2.- degradación microbiana o biodegradación, catalizada exclusivamente por enzimas y 3.- procesos de fotodegradación. Los factores que, de forma general, afectan a estos procesos

son: la estabilidad química de la molécula, la adsorción a componentes del suelo, el efecto del plaguicida en cuestión sobre la microflora del suelo, factores ambientales como la humedad del suelo, la radiación solar y temperatura y las propiedades físico-químicas de los suelos.

1.1.2.1 Procesos de degradación química

Los procesos de degradación química más frecuentes son las reacciones de hidrólisis y oxidación y los que presentan mayor variedad de transformaciones (Armstrong y Konrad, 1974). Todas estas reacciones suelen ser catalizadas en mayor o menor grado por la superficie de las arcillas, óxidos metálicos, iones metálicos, superficies de sustancias húmicas y materiales orgánicos diversos (Cornejo et al., 1983). Las reacciones hidrolíticas son catalizadas por ácidos, bases y/o metales de transición, por lo que afectan en gran medida a las tasas de hidrólisis. Factores determinantes de las tasas de degradación química son el mecanismo de reacción y la estructura química del plaguicida. Entre los factores más importantes que afectan a los procesos de degradación química se encuentran el pH, el potencial red-ox, la temperatura y la composición de la disolución y de la fracción coloidal del suelo.

La adsorción del plaguicida a los coloides del suelo puede tener un efecto doble ya que puede proteger al plaguicida de la degradación química, pero también puede potenciarla, como en el caso de reacciones catalizadas por la superficie de los componentes coloidales. Los cationes de cambio de los minerales de la arcilla y el agua de hidratación participan en muchas reacciones de degradación catalizadas por la superficie (Russell et al., 1968; Laird, 1996). Walker y Blacklow (1994) confirmaron la hidrólisis química de simazina y

atrazina mediante la esterilización del suelo, observando una relación positiva entre el tiempo de vida media de la triazina y la proporción de herbicida aplicado que fue adsorbido por los suelos. Por otra parte, Briggs y Dawson (1970) observaron para el pesticida diclobenil, una relación inversa entre el grado de hidrólisis no biológica y el de adsorción, en un estudio con 34 suelos.

En general, las reacciones químicas de degradación de plaguicidas, salvo en casos puntuales, tienen menos importancia medioambiental que las biológicas, pues la tasa de reacción es más lenta debido a la competición de los oxidantes por la materia orgánica.

1.1.2.2 Biodegradación

Los procesos de biodegradación se deben fundamentalmente a la microflora del suelo (bacterias y hongos). Los microorganismos capaces de degradar a los plaguicidas se encuentran tanto en los suelos y medios acuáticos como en aguas residuales de tratamiento de plantas, además de que un gran número y diversidad de microorganismos pueden ser encontrados en suelos de cultivo (Bordjiba et al., 2001).

La extensión del metabolismo microbiano puede ir desde transformaciones menores que no afectan significativamente a las propiedades químicas o toxicológicas del herbicida, hasta procesos de mineralización, como es la degradación del plaguicida hasta la obtención de CO_2 , H_2O y NH_4^+ . La tasa de metabolismo puede oscilar entre extremadamente lenta, con una vida media de años, hasta rápida, con vida media de días.

En general, la tasa de biodegradación aumenta con la temperatura y con el aumento de la humedad del suelo hasta capacidad de campo (Parker y Doxtader 1983; Allen y Walker, 1987; Yen et al., 2003), debido a un aumento de la población microbiana. La adsorción reduce la biodegradación, ya que las moléculas adsorbidas no suelen estar disponibles para los microorganismos. El efecto de la materia orgánica en los procesos de biodegradación es doble. Por una parte, al adsorber el plaguicida reduce la biodegradación (Shea y Weber, 1983; Mersie y Foy, 1985; Walker et al., 1989; Ainsworth et al., 1989; Barriuso et al., 1997; Guo et al., 2000). Por otra parte, la materia orgánica puede ser un sustrato nutritivo para la microflora, dando lugar un aumento de ésta a un aumento de la población microbiana y por tanto a una mayor tasa de degradación de plaguicidas biodegradables (Walker y Welch, 1989; Nair y Schnoor, 1994; Cox et al., 1999b; Hole et al., 2001).

De acuerdo con Scow y Hutson (1992), la adsorción influye en la cinética de la biodegradación, no sólo modificando la concentración del compuesto químico en la disolución del suelo, sino también mediante una inducción directa de las respuestas regulatorias de los microorganismos dependientes de la concentración del plaguicida en el medio. Sin embargo, en algunos casos, se ha visto que la toxicidad ha sido el principal factor controlador de la biodegradación (Martins y Mermoud, 1998). En estos casos, la adsorción reduciría la concentración del producto químico en la disolución del suelo hasta niveles no tóxicos e, indirectamente, favorecería la biodegradación (Van Loosdrecht et al., 1990). Prado y Airoidi (2001a), al estudiar la biodegradación de 2,4-D en suelos observaron que el herbicida aplicado hasta una concentración de 2.67 mg g^{-1} fue utilizado como fuente de carbono para el crecimiento de la población microbiana, sin embargo, para concentraciones

mayores del plaguicida observaron una disminución de la población microbiana debido a la toxicidad ejercida por el herbicida.

La modificación del comportamiento de plaguicidas varía con la naturaleza y reactividad de la enmienda orgánica utilizada y sus efectos en la actividad microbiana del suelo (Alvey y Crowley, 1995; Abdelhafid et al., 2000; Perrin-Ganier et al., 2001). Otro fenómeno de gran interés en lo que respecta a la biodegradación de plaguicidas es el fenómeno de “degradación acelerada” de plaguicidas en suelos que se puede definir como una adaptación de los microorganismos del suelo dando lugar a una metabolización rápida tras tratamientos repetitivos (Felsot y Shelton, 1993; Cox et al., 1996c; Davison y McKay, 1999; Beigel et al., 1999; Abdelhafid et al., 2000). Por ejemplo, Santiago-Mora et al. (2005) obtuvieron una cinética de mineralización de simazina típica de suelos adaptados al herbicida y aislaron bacterias de un suelo dedicado al cultivo de olivos, capaces de degradar simazina.

Las transformaciones enzimáticas de la mayoría de los plaguicidas son generalmente debidas a reacciones de oxidación, reducción o de hidrólisis. Las reacciones hidrolíticas y de oxidación pueden ser producidas por hongos y bacterias, mientras que las de reducción son reacciones más típicas de bacterias. Las reacciones oxidativas tienen lugar únicamente en presencia de oxígeno, las reductivas en condiciones anaerobias y las hidrolíticas bajo ambas condiciones.

1.1.2.3 Fotodegradación

La fotodegradación consiste en la degradación del plaguicida como consecuencia de la energía de la luz solar. Esta reacción es importante en los

primeros centímetros del suelo, en la superficie de las plantas y en ecosistemas acuáticos, donde los plaguicidas pueden ser transportados en disolución o bien adsorbidos a la materia particulada. A medida que el plaguicida penetra en el suelo, los procesos de fotodegradación son menos frecuentes, debido a que la radiación solar puede llegar a atenuarse hasta un 90% en los primeros 0.2 mm del suelo.

Según Burrows et al. (2003) la fotodegradación de plaguicidas se puede dar por cuatro procesos: fotodegradación o fotólisis directa, degradación por fotosensibilización, degradación fotocatalizada y degradación por reacción con radicales hidroxilos.

La fotodegradación directa resulta de la absorción de las bajas longitudes de ondas de luz UV (principalmente UV-A, y cantidades variables de UV-B, ≥ 290 nm). La radiación de la luz UV promueve los electrones de los plaguicidas para su estado excitado singlete que a su vez, pueden producir estados excitados tripletes. Estas especies excitadas pueden sufrir entre otros procesos: homólisis, heterólisis o fotoionización. Ejemplos: Pusino et al. (1999); Samanta et al. (1999); Silva et al. (2001). La degradación por fotosensibilización se basa en la absorción de luz por una molécula, que puede transferir la energía de su estado excitado a las moléculas de plaguicidas que sufren, a su vez, procesos diferentes como los indicados para la fotólisis directa. En este proceso puede estar asociado a procesos red-ox, la principal ventaja es la posibilidad de usar radiación con longitudes de onda mayores que las que corresponden a la absorción característica del plaguicida (Cox et al., 1996d; Kamiya et al., 2001). La degradación fotocatalítica es un fotoproceso cíclico por el cual el plaguicida se degrada y donde la regeneración espontánea

del catalizador ocurre hasta que todo el sustrato se agote (Topalov et al., 1999, Sanjuán et al., 2000). La degradación por reacción con radicales hidroxilo (HO^*) se puede hacer por distintas vías: adición de peróxido de hidrógeno que sufre homólisis, fotólisis del ozono, fotólisis acuosa de Fe^{3+} y radiólisis del agua (Mazellier et al., 1997; Acero et al., 2000).

El proceso de fotodescomposición depende de factores como la intensidad y tiempo de exposición del plaguicida a la radiación solar, la presencia de catalizadores fotoquímicos, que pueden favorecer la descomposición, el pH del suelo, el grado de aireación del suelo, el estado en el que se encuentra el plaguicida (sólido, en disolución, vapor, etc.), el grado de adsorción y la estructura química del plaguicida.

Los principales compuestos que pueden sufrir los procesos fotolíticos en suelos son aquellos solubles en agua, débilmente adsorbidos a la superficie de los suelos y que presentan baja presión de vapor, ya que este tipo de compuestos son los que presentan unas características más apropiadas para ascender por capilaridad y llegar a la interfase suelo-atmósfera donde tienen lugar los procesos de fotodegradación.

1.2 Enmiendas orgánicas y su influencia en la dinámica de plaguicidas

La adición de enmiendas orgánicas a los suelos agrícolas es una práctica recomendada para mejorar las propiedades físicas y químicas de los suelos, como por ejemplo el aumento de su contenido en materia orgánica. Este efecto es especialmente beneficioso en los suelos de Andalucía, que se caracterizan por tener un bajo contenido en materia orgánica. Por otra parte, la aplicación de enmiendas orgánicas a los suelos puede disminuir la cantidad de plaguicida disponible para la lixiviación, reduciendo el riesgo de contaminación de aguas subterráneas y de llegar a aguas superficiales por el fenómeno de escorrentía (Cox et al., 1997a). Este efecto amortiguador sobre la lixiviación se consigue por el aumento de la adsorción de los plaguicidas a la materia orgánica del suelo, como consecuencia del aumento de materia orgánica proporcionado por la enmienda (Cox et al., 1999b; Fernandes et al., 2003). El aumento de la adsorción de los plaguicidas al suelo, como se ha descrito anteriormente, también protege a estos compuestos de los procesos de degradación.

Por reducir la movilidad de los plaguicidas al aumentar su adsorción, numerosos autores han propuesto el uso de determinadas enmiendas orgánicas para prevenir la contaminación de suelos, sedimentos y acuíferos (Guo et al., 1993; Arienzo et al., 1994; Barriuso et al., 1997; Cox et al., 1997a y 1999b; Sánchez-Camazano et al., 2000). Por ejemplo Si et al. (2006) obtuvieron un aumento de la adsorción y descenso de la lixiviación del herbicida etametsulfurón metilo en un suelo enmendado con turba comercial, al compararlo con el mismo suelo enmendado con ácidos húmicos y Majumdar y Singh (2007) observaron que con la aplicación de estiércol y cenizas finas se producía una disminución en la movilidad de metribuzin en columnas

empaquetadas con un suelo arenoso. No obstante, el uso de enmiendas orgánicas no siempre es garantía del control y disminución de la lixiviación de plaguicidas, especialmente de aquellos que son compuestos muy solubles en agua o cuya degradación es pH dependiente (Worrall et al., 2001).

El uso de residuos orgánicos como el estiércol ha sido considerado tradicionalmente un enmendante que mejora la fertilidad física y química de los suelos. Una alternativa a este residuo es el uso de residuos orgánicos procedentes de industrias agroalimentarias, residuos sólidos urbanos y lodos de depuradora. Celis et al. (1998a) obtuvieron un aumento de la adsorción de atrazina en suelos enmendados con lodos de depuradora, debido a la elevada capacidad de adsorción de la fracción orgánica insoluble de los lodos de depuradora. Sin embargo, cuando sólo aplicaron la materia orgánica soluble de este residuo al suelo disminuyó la adsorción de atrazina, sugiriendo que debido al pequeño peso molecular de la materia orgánica soluble, podría competir con las moléculas de atrazina por los sitios de adsorción en la superficie del suelo. En el caso del uso de compost de residuos sólidos urbanos como enmendantes del suelo Barriuso et al. (1997) y Houot et al. (1998) obtuvieron una disminución en la mineralización de herbicidas al compararlos con el control (suelo no enmendado) y consideraron que la enmienda aumentaba la adsorción de los herbicidas, disminuyendo su disponibilidad a la microflora del suelo. También se ha considerado la aplicación de enmiendas orgánicas para conseguir el efecto contrario, aumentar la biodegradación de herbicidas en suelos contaminados. Moorman et al. (2001) estudiaron el efecto de una serie de enmiendas sobre la mineralización de herbicidas y obtuvieron un aumento en la mineralización de atrazina con las enmiendas de turba, tallos de maíz y estiércol. La degradación de metolaclor aumentó cuando se aplicaron tallos de

maíz, subproductos de la fermentación de maíz, estiércol y serrín, pero las enmiendas de compost y turba no producían ningún efecto en su mineralización. Ninguna enmienda modificó la degradación del herbicida trifluralina respecto al control.

Dentro de los residuos de la industria agroalimentaria, los residuos de la producción de aceite de oliva vienen siendo estudiados como enmiendas orgánicas a los suelos, por ejemplo el alpechín, residuo líquido generado en la obtención de aceite de oliva. Piotrowska et al. (2006) estudiaron cómo afectaba la aplicación de alpechín a dos dosis distintas a las propiedades del suelo a corto plazo tras su aplicación, observaron que aumentaba el C orgánico total, la cantidad de N y C extraíble, el P disponible y el contenido en Fe y Mg extraíble. También aumentó la respiración del suelo y la masa microbiana, pero el suelo pasó a tener efecto fitotóxico, medido por la capacidad de germinar semillas de tomate, si bien este efecto se redujo con el tiempo, demostrando que el suelo tiene capacidad tampón y es capaz de resistir cambios producidos por agentes externos. Se estudió también el efecto de este residuo líquido como enmendante de suelos en el comportamiento de herbicidas, con el resultado de una disminución en la lixiviación de clopiralid y nula lixiviación de metamitrón en columnas empacadas manualmente con un suelo arcilloso, en comparación con el mismo suelo sin enmendar (Cox et al., 1997a). Los autores consideraron como causa probable de este fenómeno un aumento en la adsorción y degradación de los herbicidas por la disminución del tamaño y volumen total de los poros del suelo, al incorporar el residuo líquido que tiene un elevado contenido en C orgánico soluble y en suspensión, además de sales. No obstante, Undabeytia et al. (2004) obtuvieron una disminución en la adsorción de imazaquin en 3 de 4 suelos estudiados enmendados con un producto comercial

derivado del residuo líquido de almazara. Últimamente se está estudiando la influencia del residuo sólido de almazaras, conocido como alperujo en el comportamiento de plaguicidas (Albarrán et al., 2003 y 2004; Fernandes et al., 2006; Cox et al., 2007; Delgado Moreno y Peña, 2007; Delgado-Moreno et al. 2007). La adición de alperujo y alperujo extractado a un suelo arenoso produjo un aumento en la adsorción y persistencia del herbicida simazina y disminución de la lixiviación y mineralización respecto al suelo no enmendado o control (Albarrán 2003 y 2004). Sin embargo, la adición de alperujo, a pesar del aumento en C orgánico, no siempre implica un aumento en la adsorción de plaguicidas, como informaron Fernandes et al. (2006), quienes no observaron ningún aumento en la adsorción del fungicida metalaxil en suelos enmendados con alperujo respecto al suelo sin enmendar, y lo atribuyeron a las moléculas de bajo peso molecular y no humificadas de la fracción soluble del alperujo que se absorbían a los componentes minerales de la fracción arcilla del suelo y competían con el fungicida por los sitios de adsorción. Sí observaron una disminución de la lixiviación y aumento del fungicida al compararlo con el control. Cox et al. (2007) tampoco observaron cambio en la adsorción del herbicida diurón en un suelo arcilloso enmendado con alperujo.

1.3 El olivar, el aceite de oliva y los residuos de la producción de aceite de oliva

1.3.1 Origen y extensión del cultivo del olivo

El origen del olivo se remonta a la antigüedad a 12.000 años a.C. Se han encontrado fósiles de hojas de olivo en depósitos del Plioceno en Mondragino (Italia), también en el norte de África se han encontrado restos fosilizados correspondientes al Paleolítico Superior y en España restos de olivos silvestres en excavaciones datadas en la edad de Bronce. (Consejo Oleícola Internacional). El cultivo del olivo se cree que se originó en Asia Menor hace 6000 años y desde ahí se extendió hacia Anatolia y Egipto. En el siglo XVI a.C. los fenicios llevaron el olivo por el Mediterráneo, llegando a Trípoli, Túnez y Sicilia, de donde pasó al sur de Italia. Los romanos continuaron con la expansión del olivo en los países del Mediterráneo.

En España el cultivo del olivo fue introducido por los fenicios (1.050 a.C.), pero no fue hasta la llegada de los romanos cuando consiguió mayor desarrollo. Los árabes introdujeron especies cultivadas en el norte de África e influenciaron la difusión de su cultivo.

A partir del descubrimiento de América se introduce el olivo en el continente americano y hoy en día también se cultiva en países como Australia, Japón, China y Sudáfrica.

1.3.2 Importancia medioambiental del olivar

El cultivo de olivos contribuye a la sostenibilidad de los recursos naturales porque favorece la conservación de los suelos y necesita aportes limitados (Loumou y Giourga, 2003). Según recoge la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía en el Manual de buenas prácticas agraria en los diferentes sistemas productivos del olivar andaluz, la importancia medioambiental del olivar radica en que si la cubierta vegetal está bien manejada puede aportar una serie de ventajas: protección del suelo del impacto directo de la lluvia, mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, aumenta la velocidad de infiltración del agua, reduce las pérdidas de suelo por erosión, reduce las pérdidas de agua por evaporación , aumenta el contenido de materia orgánica de las capas superficiales, favorece la biodiversidad, reduce los problemas de lavado y lixiviación de nutrientes y mejora el balance hídrico en los olivares al evitar la escorrentía. Si además los olivares se manejan correctamente se obtienen buenas producciones e incluso se mejora la productividad a largo plazo. De Prado y de Prado (2003) también señalan la importancia que tiene la cubierta vegetal en el olivar como medio de lucha para el control de las malas hierbas y de la erosión en superficies con elevada pendiente.

1.3.3 Empleo de herbicidas en el olivar

Las razones que han llevado a utilizar herbicidas sobre el suelo del olivar han sido la necesidad de eliminar las malas hierbas, mejorar la estructura del suelo y obtener una mayor producción. La presencia de malas hierbas conlleva una serie de inconvenientes como la competencia por el agua y

nutrientes en primavera y verano y la dificultad en las tareas de recolección en otoño-invierno. De Prado et al. (2003) recomiendan tener un buen conocimiento de la flora de la parcela del olivar para un buen manejo del suelo y obtener un rendimiento eficaz de los herbicidas.

El olivar mediterráneo ocupa grandes superficies de forma continua en terrenos con pendientes a veces elevadas, y por tanto, con dificultad para la aplicación de los herbicidas. El agua de escorrentía de los olivares que están en pendiente puede transportar a los herbicidas que pueden acabar en desagües naturales si no se utilizan barreras apropiadas. La presencia de plaguicidas en suelos y aguas, si no se toman medidas, pueden llegar a constituir un problema de degradación y contaminación de los suelos y acuíferos.

Los riesgos derivados de la erosión y del arrastre de partículas de nutrientes y productos fitosanitarios provocó que la Dirección General de Agricultura del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación revisara en Agosto de 2003 las autorizaciones de los herbicidas utilizados en el olivar y se restringió el uso de diurón y terbutilazina a las franjas de los ruedos de los olivos y una única aplicación por año, siendo la dosis máxima permitida de 1.5 kg ha⁻¹ de sustancia activa. El tratamiento debe realizarse con pulverizadores de baja presión, con pulverización dirigida verticalmente al suelo y como plazo límite se puede aplicar hasta tres semanas antes de la recolección de la aceituna y siempre que no se hayan caído frutos al suelo. En Julio de 2005 la Dirección General de Agricultura del MAPA acordó la suspensión temporal de las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan terbutilazina, diurón o mezclas de ambas sustancias activas, así como los que contengan simazina o mezclas en zonas de protección de aguas superficiales embalsadas

que se destinen a aguas de consumo humano, así como en plantaciones de ribera y parcelas de frutales u otras especies leñosas irrigadas mediante sistemas de inundación y que disten menos de 50 m de cursos de aguas naturales.

Para maximizar la efectividad de los herbicidas empleados en el olivar y reducir su impacto ambiental Prado et al. (2003) recomiendan una serie de prácticas:

- Elección adecuada del producto, su dosis y fecha de aplicación
- Equipo pulverizador adecuado y en buen estado
- Respeto al medio ambiente
- Reducción del área tratada
- Utilización de la dosis mínima recomendada
- Elección del herbicida de actividad similar que presente menor toxicidad, menor dosis y menor lixiviación
- Conocimiento de las características físico-químicas de los herbicidas

Los herbicidas autorizados por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía en el cultivo del olivar a 11 de Septiembre de 2008 son: alquitrán de hulla, amitrol, diclobenil, diflufenican, diquat, flazasulfuron, fluometuron, fluroxipir, glifosato, glufosinato amónico, MCPA ácido, oxifluorfen, paraquat, quizalop-p-etilo, terbutilazina, tiocianato amónico y tribenuron-metilo.

1.3.4 Producción del aceite de oliva y residuos generados

La mayor parte de la producción mundial de aceite de oliva se registra en los países del Mediterráneo, siendo España el principal productor de aceite

de oliva, seguido de Italia y Grecia (Luchetti, 2002). En el año 2006, según los datos publicados en el Anuario de Estadística Agroalimentaria 2007, en España se produjo un total de 1.092.602 Tm de aceite de oliva virgen, y se exportaron 509.677 Tm. En ese mismo año en Andalucía la cantidad total de aceite de oliva obtenido fue de 924.620 Tm, lo que corresponde a un 85% de la producción nacional de aceite de oliva.

La obtención del aceite de oliva implica una serie de procesos. Comienza con el lavado de la aceituna, molienda, batido y la propia extracción que constituye el paso básico de todo el proceso. La cantidad y propiedades físico-químicas de los residuos que se producen dependen del método de extracción utilizado. Hay dos maneras de extraer el aceite. Una, la forma tradicional por presión que se ha usado durante siglos y que sólo ha sufrido modificaciones menores y la otra forma por centrifugación que es el método de extracción que las industrias oleícolas vienen utilizando en las últimas décadas (Roig et al., 2006). En España la tecnología para la extracción del aceite de oliva ha progresado notablemente desde los años setenta, cuando apareció el sistema de centrifugación de 3 fases. Este sistema utiliza agua caliente que se añade a la masa de aceitunas antes de entrar en el decantador para conseguir fluidificar la masa, tras la centrifugación se obtienen 3 productos que salen independientemente del decantador: el aceite de oliva, un residuo líquido (alpechín), constituido por el agua de vegetación más agua añadida, y un residuo sólido (orujo) formado por los huesos y restos de las aceitunas. Las ventajas de este proceso respecto al sistema de presión tradicional son: una completa automatización del proceso, mejor calidad del aceite y necesidad de menor espacio. Entre los inconvenientes está: mayor gasto de agua y energía, instalaciones más caras y la generación de una gran cantidad de alpechín en un

corto periodo de tiempo, de Noviembre a Febrero. Este residuo líquido con un elevado contenido en materia orgánica y fitotoxicidad era vertido ilegalmente a ríos y arroyos, constituyendo un problema medioambiental. Para evitar estos problemas de contaminación se obligó a las almazaras a gestionar estos residuos, almacenándolos en balsas para su evaporación natural, se desarrollaron plantas para su tratamiento y se usaron como fertilizantes del suelo. Sin embargo, estos sistemas no se han consolidado en el sector oleícola por razones técnicas y económicas.

A principio de los años 90 se desarrolló un nuevo sistema de extracción de aceite de oliva, conocido como sistema de centrifugación de dos fases, que a diferencia del de tres fases no utiliza agua caliente a la entrada de la masa de aceitunas en el decantador que tiene dos salidas. Los productos que se generan son el aceite de oliva y un residuo sólido con un elevado contenido en humedad (56-75%) (Alburquerque et al., 2004) llamado alperujo y que está constituido por mezcla de aguas de vegetación, partes sólidas de la aceituna y restos grasos. Este sistema reduce en un 75% los residuos generados por el sistema de tres fases y consume menos agua, por lo que se le denominó sistema ecológico. En España el sistema de dos fases rápidamente sustituyó al de tres fases y según los datos de IMPEL 2003 el 98% de las almazaras en España utilizan el nuevo sistema de centrifugación para la extracción del aceite de oliva, sin embargo en Italia y Grecia se sigue utilizando mayoritariamente el sistema de tres fases. El nuevo residuo generado en el sistema de centrifugación en dos fases, alperujo, fue caracterizado por Alburquerque et al. (2004) con muestras procedentes de distintas almazaras de Andalucía y el este de España durante tres campañas sucesivas comprendidas entre los años 1997 y 2000. El residuo alperujo está constituido fundamentalmente por lignina, celulosa, hemicelulosa, grasas,

proteínas, hidratos de carbono hidrosolubles y fenoles hidrosolubles y las características físico-químicas de este residuo se muestran en la Tabla 1.2.

Según estos autores el contenido en materia orgánica y en Carbono orgánico total (COT) es mucho mayor en el alperujo que en el alpechín, lodos de alpechín o cualquier otro residuo orgánico utilizado como enmienda. Respecto al contenido de nutrientes, alperujo es rico en K (2%), sin embargo las cantidades de P, Ca y Mg son inferiores a las de otros residuos, como los lodos de depuradora o los residuos sólidos urbanos. La concentración de metales pesados en el alperujo es casi inexistente en comparación con otros residuos orgánicos propuestos como fertilizantes o enmendantes agrícolas.

Tabla 1.2. Características físico-químicas del alperujo (Albuquerque et al., 2004).

	pH	CE (dS m ⁻¹)	Cenizas (%)	COT (%)	M.O. (%)	C/N	N total (%)
Media	5.3	3.4	6.7	52	93	48	1.1
Intervalo	(4.9-6.5)	(0.9-4.8)	(2.4-15.1)	(50-54)	(85-98)	(28-73)	(0.7-1.8)

1.3.4.1 Procesos para la reutilización del alperujo

Debido al elevado contenido en humedad del alperujo y su consistencia pastosa su manejo y transporte resulta complicado. Para la gestión de este residuo se han propuesto distintos procesos, como han recogido Roig et al. (2006), y los divide en tratamientos físico-químicos, aplicación directa, transformaciones biotecnológicas, extracción de productos y otras opciones.

1.3.4.1 a) Tratamientos físico-químicos

Secado y segunda extracción

Entre estos tratamientos se encuentran el secado y segunda extracción de aceite como se hacía con el orujo obtenido en el sistema de centrifugación en tres fases, pero el alto contenido en agua del alperujo producía problemas técnicos durante el proceso de secado en las almazaras. Estos problemas dieron lugar al desarrollo de nuevos métodos de secado, pero por el aumento del coste del proceso, por consumir más energía y la baja demanda de aceite de orujo no es una alternativa que se utilice mucho.

Después de la segunda extracción el residuo sólido que queda: orujillo se puede utilizar como combustible para obtener energía térmica o eléctrica, porque tiene un elevado poder calorífico (400 Kcal kg^{-1}). Parte de la energía obtenida puede utilizarse para el secado del alperujo fresco (Azbar et al., 2004) y Jurado et al. (2003) proponen usar alperujo para obtener un gas sintético para la producción de energía.

1.3.4.1 b) Aplicación directa

La aplicación de alperujo como enmienda de suelos es otra alternativa para la eliminación de este residuo. Proporciona materia orgánica y K y aunque es menos fitotóxico que el alpechín produce desequilibrios nutricionales debido a la elevada relación C/N que modifica el ciclo del N, por lo que se recomienda añadir N mineral al alperujo antes de aplicarlo como enmienda (Thompson y Nogales, 1999). Lopez Piñeiro et al. (2008) aplicaron alperujo y orujillo como enmiendas en olivares para estudiar su efecto en las propiedades del suelo y en

el rendimiento de los olivos, observando un aumento en la estabilidad de los agregados y en el contenido en M.O., N total y P y K disponibles. Observaron que la aplicación repetitiva de estos residuos no causó deficiencias de N ni de P y ejerció un efecto positivo en el rendimiento de los olivos, aunque la menor dosis de enmienda (30 Mg ha^{-1}) tuvo mayor efecto sobre la producción de los olivos que la dosis mayor (60 Mg ha^{-1}), concluyendo que alperujo y orujillo pueden aplicarse directamente y servir de fuente de C en suelos mediterráneos, contrarrestando el proceso continuo de degradación al que están estos suelos sometidos.

1.3.4.1 c) Transformaciones biotecnológicas

Dentro de las transformaciones biotecnológicas a las que se puede someter el alperujo se encuentra la digestión anaeróbica, fermentación y compostaje.

Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica presenta una serie de ventajas sobre la aeróbica: se consigue un alto grado de purificación, bajo requerimiento de nutrientes, se generan pequeñas cantidades de lodo residual y se genera biogas como combustible. Borja et al. (2006) estudiaron la digestión anaerobia de alperujo a temperatura mesofílica ($35 \text{ }^\circ\text{C}$) obteniendo una eficiencia de la eliminación de la demanda química de oxígeno (DQO) del residuo del 83-97%.

Fermentación

La fermentación del alperujo por microorganismos en un medio sólido proporciona alimento para el ganado ya que este proceso aumenta las

propiedades nutricionales del residuo, al aumentar el contenido en proteínas (Haddadin et al., 1999). Este proceso también genera combustible y enzimas.

Compostaje

El compostaje consiste en la descomposición biológica en condiciones aerobias y controladas de residuos orgánicos en dióxido de carbono y agua y resulta ser una buena alternativa para la eliminación del alperujo como residuo y su reutilización como fertilizante porque aporta nutrientes. Presenta además la ventaja frente a la aplicación directa de alperujo, el menor contenido en fenoles, mayor valor de pH y mejor relación C/N. Trataremos en más profundidad el compostaje del alperujo en el siguiente apartado.

1.3.4.1 d) Extracción de otros productos

El alperujo también puede utilizarse para la extracción de productos con valor comercial, por ejemplo para extraer pectinas que se utilizan en la industria alimentaria como agentes gelificantes, estabilizantes y emulgentes. O para la extracción de compuestos fenólicos que tienen propiedades antioxidantes, cardioprotectoras, antimicrobianas, antihipertensivas y anticancerígenas, por lo que podría utilizarse en las industrias farmacéuticas, alimentarias y de cosmética.

1.3.5 Compostaje

El compostaje según Gray et al. (1971a) puede definirse como la descomposición de M.O. heterogénea, por acción de una mezcla de microorganismos en un ambiente húmedo, templado y aeróbico que puede dividirse en cuatro fases de actividad microbiana: mesofílica, termofílica,

enfriamiento y maduración. Por este proceso se consigue la transformación de un residuo orgánico en un producto estable, libre de patógenos, semillas y malas hierbas y de gran valor agronómico (Haug, 1993). Cuando la materia orgánica se oxida por microorganismos, una parte de la energía liberada es capturada y usada para la síntesis de nueva materia celular. Cuando los microorganismos mueren el material celular se convierte en alimento para otros microorganismos y tiene lugar una nueva transformación en dióxido de carbono, agua y materia celular nueva. Este proceso se va repitiendo hasta que la porción de materia orgánica remanente es muy resistente al ataque microbiano. A medida que avanza el proceso de compostaje, los compuestos orgánicos más fácilmente biodegradables se van oxidando y gradualmente van siendo reemplazados por materiales húmicos cada vez menos biodegradables. Los compuestos más estables que quedan después del compostaje son todavía degradables, pero a una velocidad mucho más pequeña comparada con la velocidad de degradación inicial.

Los factores que más influyen en el proceso de compostaje son la temperatura, humedad, pH, aireación, balance de nutrientes y presencia de población microbiana adecuada (Gray et al., 1971a). El control de la temperatura es importante para saber si el proceso de compostaje se está desarrollando adecuadamente. La temperatura aumenta como consecuencia de la actividad de los microorganismos mesófilos, sigue aumentando hasta llegar a inhibir a estos microorganismos y se desarrolla una microflora termófila hasta que comienza a disminuir la actividad metabólica. Las altas temperaturas alcanzadas eliminan patógenos y humedad. A medida que disminuye la cantidad de material biodegradable la temperatura desciende hasta valores de temperatura ambiente.

El proceso de compostaje es un proceso aerobio por lo que la aireación es fundamental para que los microorganismos aerobios no sean sustituidos por microorganismos anaerobios. Los microorganismos también necesitan agua para su metabolismo y para el transporte de nutrientes y materiales de deshecho. No obstante si la humedad es escasa se priva a los microorganismos de su metabolismo y si es excesiva se favorecen condiciones anaerobias al estar los poros del material llenos de agua.

El pH también influye en los microorganismos, los hongos toleran valores comprendidos entre 5 y 8 y las bacterias entre 6 y 7.5. También determinados valores de pH pueden dar lugar a la precipitación de nutrientes de los microorganismos. Entre los nutrientes es muy importante la relación C/N que debe estar comprendida entre 25 y 30 (Nakasaki et al., 1992; Gray et al., 1971b y 1973) y la de N/P entre 5 y 20.

Los sistemas de compostaje se pueden dividir en dos tipos: Sistemas abiertos o en pilas y sistemas cerrados en reactores. Los sistemas cerrados son más fáciles de controlar, pero también resultan más caros, por eso son los sistemas abiertos los más utilizados. A su vez los sistemas abiertos o en pila pueden dividirse en sistemas de pilas dinámicas con volteo o en sistemas de pilas estáticas.

En el sistema de pilas dinámicas con volteo el material a compostar se coloca en montones formando filas paralelas, siendo la altura el parámetro crítico porque si el montón es muy alto el material puede comprimirse por su propio peso y dar lugar a condiciones anaeróbicas y si es muy bajo es vulnerable a las condiciones climáticas y puede producirse pérdida de calor, disminuyendo la temperatura y no alcanzarse las condiciones termófilas (Kuhlman, 1990). El volteo

se recomienda que se realice con mayor frecuencia al principio del proceso para favorecer el crecimiento y actividad de los microorganismos. En los sistemas de pilas estáticas el material no se voltea y el aire se suministra por un sistema de aspiración de aire desde el suelo, pero no se controla la temperatura. Este método recibe el nombre de la Universidad donde se creó Belltsville. El método con ventilación forzada, creado en la Universidad de Rutgers, de donde recibe su nombre sí permite el control de la temperatura. El sistema de pilas con volteo o dinámicas es el más barato y sencillo, por lo tanto es también el método más utilizado.

Los sistemas cerrados o en reactores se clasifican según el movimiento del material a compostar en: reactores de flujo vertical, reactores de flujo horizontal y reactores sin flujo. Otra clasificación es de sistemas estáticos, cuando no se produce mezcla de los materiales durante el proceso o sistemas dinámicos cuando sí se produce mezcla de materiales.

1.3.5.1 Compostaje de alperujo

Debido a la consistencia pastosa y semisólida del alperujo varios autores han propuesto la adición de agentes de carga antes de iniciar el proceso de compostaje. Entre los agentes de carga se han utilizado paja (Madejón et al., 1998), residuos animales mezclados con paja (Cegarra et al., 2006), residuos de algodón (Alburquerque et al., 2006a) e incluso Alburquerque et al. (2006b) han estudiado el efecto de los pedúnculos de uvas y de hojas de olivo usados como agentes espesantes en el compostaje de alperujo, con el resultado de mejor avance del proceso de compostaje con el residuo de uva que con las hojas de

olivo. Aunque en ambos casos los composts maduros estaban libres de fitotoxicidad y tenían una composición similar.

El proceso de compostaje se puede realizar en pilas estáticas con ventilación forzada o a demanda, en pilas con volteo dinámico, y en balsas o en biorreactores. Como se ha visto anteriormente la aireación es necesaria para que se produzca oxidación aeróbica por los microorganismos. Cayuela et al. (2006) estudiaron dos tipos de aireación en el proceso de compostaje de alperujo: la ventilación forzada y el volteo mecánico. En el caso de la ventilación forzada se formaban flujos preferenciales a través de la pila debido a la consistencia pastosa y a la falta de porosidad del residuo, como consecuencia el material de la pila se iba secando de forma heterogénea y se formaban agregados que paralizaban el proceso de compostaje, por lo que fue necesario voltear las pilas de residuos para reactivar el proceso y mejorar la homogeneidad.

En las pilas dinámicas con volteo mecánico el proceso termófilo duraba más tiempo y se alcanzaban temperaturas más elevadas, por lo que se conseguía mayor degradación de fibras y mayor pérdida de nitrógeno que con el sistema de aireación forzada.

La calidad de los productos finales obtenidos con ambos métodos era muy similar, aunque la materia orgánica del compost preparado en pilas con volteo presentaba mayor grado de humificación y menor contenido en N. En el caso de las pilas con volteo dinámico los autores recomiendan, para un mejor control de la temperatura, optimizar el tamaño de las pilas y la frecuencia de volteo del material. Baeta-Hall et al. (2005) también recomiendan el proceso de

pilas con volteo mecánico frente a las pilas con aireación forzada para el compostaje de alperujo, por ser un proceso que consume menos energía.

El alperujo también puede mezclarse con otros residuos de diverso origen con el fin de proporcionar N u otros nutrientes, en este caso el proceso recibe el nombre de co-compostaje. Paredes et al. (2000) estudiaron tres residuos orgánicos distintos: abono avícola, lodos de depuradoras y residuos de la extracción de zumo de naranja, obteniendo mejores aportes de N con los dos primeros residuos.

Los valores de las características físico-químicas del alperujo compostado se muestran en la tabla 1.3. Estos datos se han recogido de los datos publicados en los trabajos de varios autores (Cegarra et al., 2006; Albuquerque et al., 2006a; Albuquerque et al., 2006b; Cayuela et al., 2006; Alfano et al., 2008).

Para que el compost pueda usarse con seguridad en agricultura se debe comprobar su estabilidad y madurez (Albuquerque et al., 2006c). La estabilidad se define en términos de biodisponibilidad de la materia orgánica, como la resistencia de la materia orgánica a degradarse más (Brewer y Sullivan, 2003). La madurez se define como la idoneidad del material para el crecimiento de las plantas y con frecuencia se asocia con el grado de humificación del compost (Cooperband et al., 2003). Albuquerque et al. (2006c), determinaron la madurez y detoxificación del compost de alperujo durante el proceso de compostaje con la medida del índice de germinación y su correlación con los parámetros utilizados como indicadores de la estabilidad y madurez del compost: relación C/N, NH_4^+ , NO_3^- , relación celulosa/lignina, pérdida de

materia orgánica, CCC, COT y CO hidrosoluble, concluyendo que la detoxificación del compost contribuye a su madurez y que los distintos composts preparados alcanzaban un grado de madurez y estabilidad aceptables, aunque los valores de la relación C/N, CCC y CO hidrosoluble eran distintos respecto a los valores de otros tipos de compost.

Tabla 1.3. Características físico-químicas del alperujo compostado (Cegarra et al., 2006; Albuquerque et al., 2006a; Albuquerque et al., 2006b; Cayuela et al., 2006; Alfano et al., 2008)

	pH	CE (dS m ⁻¹)	COT (%)	M.O. (%)	C/N
Media	8.4	4.4	37	67	28
Intervalo	(5.4-9.5)	(2.4-7.3)	(21-49)	(35-91)	(17-54)

Últimamente también se ha estudiado el efecto que tiene la aplicación de compost de alperujo en cultivos, en concreto en acelgas (Paredes et al., 2005), en pimientos (Albuquerque et al., 2006a). En el estudio de Paredes et al. (2005) se comparó la aplicación del compost elaborado con residuos de alperujo con otro elaborado de igual manera, pero sin alperujo y también se comparó con abono mineral, en el cultivo de acelgas. El alperujo compostado no ejercía ningún efecto tóxico sobre las plantas y se conseguía un rendimiento similar que con el compost sin alperujo y con el abono inorgánico. También observaron que la aplicación del alperujo compostado aumentaba las propiedades físico-químicas y de fertilidad del suelo. Albuquerque et al. (2006a) compararon la aplicación del compost de alperujo con la aplicación de abono animal y con compost de lodos de depuradora y aunque el rendimiento del cultivo de pimientos fue similar con las tres enmiendas, obtuvieron una disminución en el contenido de materia orgánica del suelo con el compost de los lodos de

depuradora y con el abono animal, mientras que con el alperujo compostado permaneció prácticamente invariable. La aplicación de alperujo compostado se ha propuesto también para la recuperación de minas de Pb y Zn porque consiguen mantener y estimular la actividad microbiana, además de los ciclos biogeoquímicos en las minas, siempre que no se pretenda inmovilizar estos metales, porque aumentan su solubilidad y su extracción (Romero et al., 2005).

Puede por tanto concluirse que, someter el alperujo al proceso de compostaje previo a la aplicación al suelo como enmienda, mejora las propiedades agronómicas del suelo y reduce y evita algunos de los inconvenientes que tiene la aplicación directa del alperujo, como son los efectos fitotóxicos y propiedades antimicrobianas por el contenido en compuestos fenólicos y lipídicos (Linares et al., 2003).

1.3.5.2 Vermicompostaje

El vermicompostaje es un proceso biotecnológico por el que por medio de lombrices o gusanos las sustancias orgánicas se convierten en productos húmicos estabilizados. Normalmente el proceso de vermicompostaje es más eficiente que el de compostaje porque las lombrices se alimentan de la materia orgánica y crean condiciones que favorecen la colonización y degradación por los microorganismos del material orgánico parcialmente descompuesto y fragmentado y como consecuencia de la acción combinada de los microorganismos y las lombrices, una gran cantidad de materia orgánica se mineraliza en el proceso de vermicompostaje.

Este proceso ha sido propuesto por diversos autores como un sistema eficiente para la biorremediación de residuos de la industria agroalimentaria, con bajo contenido en lignina (Romero et al., 2006), como por ejemplo es el caso de los residuos de la producción de aceite de oliva (Nogales et al., 1999; Benítez et al., 2002). Y se ha estudiado el efecto de su aplicación en el comportamiento de herbicidas. Romero et al. (2006) observaron que la adsorción de herbicidas hidrofóbicos en residuos sin tratar o vermicompostados era mayor que para los herbicidas aniónicos y Delgado Moreno et al. (2007), observaron un aumento en la adsorción de triazinas en el suelo enmendado con alperujo vermicompostado en comparación con el suelo no enmendado, de forma similar a la aplicación de alperujo compostado, pero en menor medida que la aplicación de alperujo fresco que era la enmienda con la que se obtenía mayor adsorción de los herbicidas.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

El objetivo global de esta Memoria es estudiar el comportamiento de cuatro herbicidas utilizados en el cultivo del olivar, diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol, en suelos de olivar y en estos mismos suelos enmendados con residuos de almazara. Se han seleccionado dos suelos de olivar, uno perteneciente a la finca experimental del IRNAS en Coria del Río (Sevilla) y otro perteneciente al IFAPA en Mengíbar (Jaén), y dos residuos de almazara, uno sin compostar y otro compostado. Un conocimiento global y simultáneo de los diversos procesos que afectan al comportamiento de estos herbicidas en suelos de olivar es fundamental tanto desde el punto de vista agronómico como medioambiental. Este objetivo global se concreta en la consecución de los siguientes objetivos generales:

- I. Examinar, a escala de laboratorio, la relevancia de las propiedades físico-químicas de los suelos de olivar en los procesos de adsorción, disipación, movilidad y biodisponibilidad de los herbicidas estudiados, procesos que determinan el destino final de plaguicidas poco volátiles en el suelo.
- II. Examinar la influencia que tiene la adición de residuos de almazara al suelo en los procesos anteriores.
- III. Estudiar, en condiciones reales de cultivo, el efecto que la enmienda con residuos de almazara tiene en la persistencia de dos herbicidas ampliamente utilizados en el olivar, diurón y terbutilazina.

El alcance de estos tres objetivos ha supuesto su división en los siguientes subobjetivos concretos:

1. Estudio de la adsorción-desorción de diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol en suelos de olivar enmendados y sin enmendar con alperujo fresco y alperujo compostado.
2. Estudios de disipación de diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol en suelos enmendados y sin enmendar en condiciones de laboratorio y su relación con los estudios de adsorción-desorción en dichos suelos.
3. Evaluación de la influencia de la adición de residuos de almazara en la mineralización de los herbicidas diurón y terbutilazina.
4. Estudios de lixiviación en columnas de suelo enmendado y sin enmendar de los herbicidas diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol, y su relación con los estudios de adsorción-desorción y lixiviación en esos mismos suelos.
5. Evaluación de la influencia de la adición de residuos de almazara y del tiempo de residencia de los herbicidas en el suelo en la disponibilidad de diurón y terbutilazina mediante extracciones con disolventes acuosos y orgánicos.
6. Estudio de la influencia del envejecimiento y de la adición de residuos de almazara en la biodisponibilidad de herbicidas del grupo de las

triazinas (terbutilazina y atrazina) mediante la utilización de la bacteria *Pseudomonas* sp cepa ADP.

7. Teniendo en cuenta los resultados de los objetivos previos, el último objetivo será evaluar en la finca experimental del IFAPA Venta del Llano (Mengíbar, Jaén) cómo afecta la aplicación continuada de residuos de almazara, uno fresco y otro compostado, a las cantidades de los herbicidas diurón y terbutilazina presentes en el suelo mediante dos ensayos en condiciones de campo durante las campañas 2005/2006 y 2006/2007.



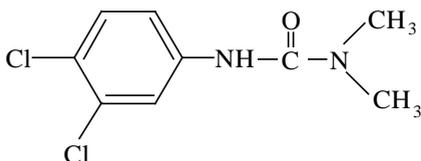
3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

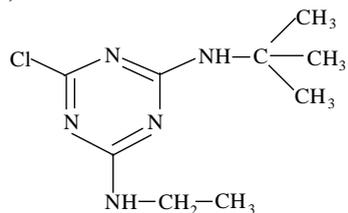
3.1 Herbicidas

Los herbicidas utilizados en los estudios recogidos en esta memoria son herbicidas ampliamente utilizados en el olivar tanto en Andalucía como en Extremadura, cuyas estructuras químicas se indican en la Figura 3.1. Atrazina se ha utilizado únicamente en los estudios de disponibilidad y biodisponibilidad por tratarse de una molécula modelo en estudios de dinámica de plaguicidas y porque las bacterias empleadas en el estudio son específicas de la degradación de atrazina. Las características de este herbicida se describen en el apartado 3.4.6 de este capítulo.

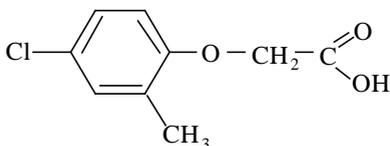
a)



b)



c)



d)

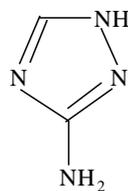


Fig. 3.1 Estructura molecular de los herbicidas a) diuron, b) terbutilazina, c) MCPA y d) amitrol.

3.1.1 Diurón

Diurón, 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea (Figura 3.1.a) es un sólido cristalino e incoloro. De peso molecular 233.1 g mol^{-1} , punto de fusión 158-159 °C, presión de vapor $1.1 \times 10^{-3} \text{ mPa}$ (25 °C), coeficiente de reparto octanol agua $\log P = 2.85 \pm 0.03$ (25 °C) y densidad $1.48 \text{ g (cm}^3\text{)}^{-1}$. La solubilidad en agua a 25 °C es 37.4 mg L^{-1} y en acetona a 27 °C 53 g kg^{-1} , a la misma temperatura (27 °C) en butil estearato la solubilidad de diurón es 1.4 g kg^{-1} y 1.2 g kg^{-1} en benceno (Tomlin, 2007-08). Es estable en medio neutro a temperaturas normales, pero se hidroliza a altas temperaturas. Es hidrolizado por ácidos y álcalis y se descompone a 180-190 °C. Diurón es un herbicida sistémico que se absorbe principalmente por las raíces y se transporta por el xilema. Interfiere en el proceso fotosintético a nivel de la reacción de Hill (Liñán, 2006). Se utiliza para el control selectivo de hierbas en germinación, así como de malas hierbas de hoja ancha en muchos cultivos, además del olivo, a una dosis que oscila entre $0.6\text{-}4.8 \text{ kg ha}^{-1}$.

El compuesto empleado ha sido el producto técnico adquirido a Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburgo, Alemania) (99% de pureza). El producto marcado con ^{14}C fue suministrado por IZOTOP Institute of Isotopes Co. (Budapest, Hungría) con una actividad de 5.43 MBq mg^{-1} y >95% de pureza radioquímica. El producto comercial empleado en los estudios de campo, Anibal (Aragonesas Agro, S.A. Madrid, España) contiene diurón 28.5% y terbutilazina 28.5% p/v.

La asociación de diurón y terbutilazina se ha visto que resulta altamente eficaz sobre numerosas monocotiledóneas y dicotiledóneas anuales cuando se

aplica a baja presión, en pre-emergencia o post-emergencia temprana. Resulta selectiva en plantaciones de más de 4 años de cítricos, manzano, olivo, peral y vid. La dosis máxima de aplicación en el olivar es de 5 L de producto por hectárea realmente tratada o bien de 3.5 L de producto por hectárea física. Se aplica sólo a la banda de los ruedos de los olivos, al comienzo de la primavera o del otoño, una vez haya transcurrido más de un año desde la última aplicación y que la parte tratada no alcance los 2/3 de la superficie de la parcela. Para facilitar la absorción del herbicida es necesario que quede incorporado a la primera capa del suelo mediante lluvia o riego.

3.1.2 Terbutilazina

Terbutilazina, (N^2 -tert-butil-6-cloro- N^4 -etil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) es un polvo incoloro con peso molecular 229.7 g mol^{-1} (Figura 3.1.b), punto de fusión $177\text{-}179 \text{ }^\circ\text{C}$, presión de vapor 0.15 mPa a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, coeficiente de reparto octanol agua $\log P = 3.21$ (no ionizado) y densidad $1.188 \text{ g (cm}^3\text{)}^{-1}$ ($20 \text{ }^\circ\text{C}$). Su solubilidad en agua es 8.5 mg L^{-1} a pH 7 y $20 \text{ }^\circ\text{C}$. A $25 \text{ }^\circ\text{C}$ la solubilidad de terbutilazina, expresada en g L^{-1} , en acetona es 41, 14 en etanol, 12 en n-octanol y 0.36 en n-hexano. Terbutilazina es estable en medio neutro, débilmente ácido y débilmente básico. Se hidroliza en medio ácido o básico, su pKa es 2.0, tratándose de una base débil.

Terbutilazina es un herbicida inhibidor del transporte de electrones fotosintéticos en el receptor fotosistema II. Inhibe la reacción de Hill y la absorción de CO_2 . Se absorbe principalmente por las raíces. Tiene amplio espectro como herbicida de pre- o post-emergencia para el control de malas hierbas en cultivos de maíz, sorgo, vides, árboles frutales, cítricos, olivos,

patata, caña de azúcar. Persiste en la parte superior del suelo, controlando una amplia variedad de malas hierbas a dosis de 0.6-3 kg de sustancia activa por ha. En olivos no se puede aplicar más de 1 kg de ingrediente activo por hectárea y año.

Se ha utilizado el producto técnico adquirido a Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburgo, Alemania) (99% de pureza) y el producto marcado radiactivamente fue suministrado por Syngenta (Basilea, Suiza) actividad 1.99 MBq mg⁻¹ y 94.3% de pureza radiactiva.

3.1.3 MCPA

El ácido (4-cloro-2-metilfenoxi) acético tiene un peso molecular 200.6 g mol⁻¹ (Figura 3.1.c). Es un sólido constituido por cristales de color marfil, con un suave olor fenólico. Tiene un punto de fusión de 119-120.5 °C, presión de vapor 2.3 x 10⁻² mPa (25 °C), coeficiente de reparto octanol agua log P = 2.75 a pH 1, 0.59 a pH 5 y -0.71 a pH 7 (25 °C) y densidad 1.41 g (cm³)⁻¹ (23.5 °C). Su solubilidad en agua es 0.395 g L⁻¹ a pH 1 y 25 °C, a la misma temperatura y con las mismas unidades, 26.2 a pH 5, 293.9 a pH 7 y 320.1 a pH 9. Solubilidad en dietil éter 770 g L⁻¹ (25 °C), 26.5 en tolueno, 49 en xileno, 5 en heptano, 478.8 en acetona, 775.6 en metanol, 69.2 en diclorometano, 0.323 en n-hexano y 218.3 en n-octanol.

El ácido es químicamente muy estable. Forma sales hidrosolubles álcali-metal y con aminas, aunque puede producirse la precipitación de sales cálcicas o magnésicas en agua dura. pKa 3.73 a 25 °C.

El MCPA es un herbicida tipo hormonal, sistémico y selectivo. Se absorbe por vía foliar y radicular con traslocación por toda la planta. Se acumula en los tejidos meristémicos, donde inhibe su crecimiento. Interfiere en la división y diferenciación celular, así como en la síntesis de proteínas (Liñán, 2006). Se utiliza para el control de post-emergencia de malas hierbas anuales y perennes de hoja ancha en cereales, lino, arroz, vides, guisantes, patatas, espárragos, olivo, a una dosis de 0.28-2.25 kg ha⁻¹. Con frecuencia se usa en combinación con otros herbicidas. Sus éteres y sales constituyen un grupo de herbicidas fácilmente absorbibles por las hojas y raíces, resultan selectivos diversos cultivos, entre ellos el olivo. Los mejores resultados se obtienen cuando se aplican a baja presión, con temperatura ambiente de 12-20 °C. No se deben realizar los tratamientos cuando se prevean lluvias inmediatas, ni cuando las plantas se encuentren con rocío, ni durante periodos prolongados de sequía. Debe aplicarse en el intervalo de temperatura de 5-33 °C, obteniéndose los mejores resultados entre 12-20 °C.

El producto empleado ha sido el herbicida técnico adquirido a Sigma Aldrich GmbH (Seelze, Alemania) y con una pureza de 98.8%.

3.1.4 Amitrol

Antes conocido como aminotriazol, (1H-1,2,4-triazol-3-ilamina) (Figura 3.1.d)). Su peso molecular es de 84.1 g mol⁻¹. Está formado por cristales incoloros, con un punto de fusión de 157-159 °C, presión de vapor 3.3 x 10⁻⁵ mPa (20 °C), coeficiente de reparto octanol agua log P = 0.97 (pH 7 y 23 °C) y densidad 1.138 g (cm³)⁻¹ (20 °C). Solubilidad en agua >1380 g L⁻¹ a 20 °C y pH 4, a la misma temperatura 530 g L⁻¹ a pH 7 y 261 g L⁻¹ a pH 10. En n-heptano y

p-xileno es muy poco soluble ($\ll 0.1 \text{ g L}^{-1}$). Moderadamente soluble en diclorometano $< 0.1 \text{ g L}^{-1}$. En etil acetato su solubilidad es de 1 g L^{-1} y de 150 en MeOH. Estable en medio neutro, básico y ácido. Es un agente quelante potente de $\text{pK}_{a1} 4.2$ y $\text{pK}_{a2} 10.7$.

Inhibe la biosíntesis de carotenoides, inhibiendo la enzima licopeno ciclasa. Es un herbicida sistémico no selectivo, se absorbe vía foliar y radicular, sufre traslocación en el xilema y el floema, acumulándose en los órganos de reserva con lo que se impide su posterior regeneración. Es efectivo contra un amplio espectro de hierbas perennes y anuales y de malas hierbas de hoja ancha que crecen alrededor de árboles frutales, incluidos los cítricos, y en arbustos hortícolas, en viñedos y olivares. El producto que cae al suelo inhibe y destruye las plántulas procedentes de las semillas que germinan en la zona superficial del suelo. En el suelo es poco móvil y se degrada con rapidez por vía química y biológica a urea y amoníaco, no acumulándose y siendo bajo su riesgo de contaminación por lavado. Su acción es progresiva, lo que facilita su traslocación y acumulación en los órganos de reserva. Las plantas afectadas dejan pronto de competir con el cultivo. Su acción se frena, pero no sus efectos finales si se aplica en épocas de heladas. Se recomienda aplicar en post-emergencia temprana, sobre hierbas en vegetación activa. Sobre perennes ya establecidas conviene aplicarlo al final de verano o en otoño, cuando se produce la acumulación de sustancias de reserva. Tanto amitrol como sus mezclas con otros herbicidas están autorizados en diversos cultivos leñosos tales como el olivo, de 4 o más años. Su persistencia depende de la dosis aplicada, pudiendo alcanzar 4 meses.

Se ha trabajado con el producto técnico adquirido a Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburgo, Alemania), cuya pureza es de 98%.

3.2 Suelos

Las muestras de suelos proceden de dos olivares, uno de ellos del centro IFAPA Venta del Llano de Mengíbar (Jaén) (suelo BJ) y otro de la finca experimental del IRNAS, La Hampa, situada en Coria del Río (Sevilla) (suelo P2). En los estudios de disponibilidad y biodisponibilidad de atrazina y terbutilazina se ha utilizado un suelo MN que se describe en el apartado 3.4.6 de este capítulo.

Tabla 3.1. Propiedades físico-químicas de los suelos originales y los suelos enmendados.

Suelo	pH	M.O. (%)	Arcilla (%)	Limo (%)	Arena (%)	CaCO₃ (%)
BJ	8.24	1.84	51.6	42.1	6.33	33
P2	8.39	0.63	20.4	8.9	70.7	0.6
(BJ+AF) _L	7.91	4.27	47.3	38.2	14.4	28.7
(BJ+AC) _L	7.90	4.51	48.4	27.1	24.4	27.5
(BJ+AF) _C	8.47	2.82	45.3	40.4	14.3	35
(BJ+AC) _C	7.92	2.38	54.9	28.9	16.1	30.1
(P2+AF) _L	6.82	1.77	23.8	1.8	74.3	<0.5
(P2+AC) _L	8.02	3.04	22.2	4.7	73.1	<0.5

Las muestras se tomaron a una profundidad 0 a 20 cm, fueron secadas al aire, molidas y tamizadas con un tamiz de 5 mm y almacenadas a temperatura ambiente. Las propiedades físico-químicas fueron determinadas por el Servicio

de Análisis de Suelos del IRNAS siguiendo la metodología habitual. La Tabla 3.1 muestra las propiedades físico-químicas de los suelos. El contenido en materia orgánica se determinó por oxidación con dicromato según Nelson y Sommers (1982). El pH del suelo se midió en una mezcla de suelo/agua destilada con relación 1:2 (p/p) y la textura del suelo se determinó por sedimentación.

El suelo BJ es un suelo arcillo limoso con bajo contenido en M.O. (Tabla 3.1). y el suelo P2 se trata de un suelo franco arenoso con muy bajo contenido en materia orgánica (M.O.) (Tabla 3.1), se ha clasificado como Typic Rhodoxeralf según la clasificación de la USDA.

3.3 Enmiendas

Se ha trabajado con 2 enmiendas orgánicas: alperujo y alperujo compostado. El contenido en M.O. se determinó por oxidación con dicromato, según Nelson y Sommers (1982) (Tabla 3.2).

3.3.1 Alperujo

Alperujo es el residuo sólido que se produce en el proceso de extracción de aceite de oliva en 2 fases. Este proceso se desarrolló durante los años 90 para sustituir al proceso de extracción de 3 fases, que además de aceite de oliva, generaba un residuo sólido: orujo y un residuo líquido muy contaminante: alpechín. En cambio, en el sistema de centrifugación en 2 fases, que se diferencia del de 3 fases en que el decantador del proceso de centrifugación es de 2 fases en vez de 3, sólo se genera aceite de oliva y alperujo como residuo

sólido. El contenido en humedad del alperujo es elevado, es un residuo rico en lignina, celulosa y hemicelulosa. También contiene fenoles. El alperujo fresco utilizado tanto en los estudios de campo como de laboratorio, procede de la almazara del centro IFAPA Venta del Llano en Mengíbar (Jaén). Para disminuir su humedad se secó al aire libre mediante volteo con máquina pala.

Tabla 3.2. Propiedades físico-químicas de las enmiendas orgánicas aplicadas, alperujo fresco y alperujo compostado.

Temporada	Enmienda	M.O. (%)	N (%)	C/N
05/06	AF	93.22 ± 1.00	1.10 ± 0.25	48.99 ± 12.13
	AC	67.16 ± 5.30	1.38 ± 0.08	26.46 ± 3.26
06/07	AF	92.21 ± 1.00	1.31 ± 0.08	39.26 ± 2.00
	AC	71.17 ± 2.65	1.05 ± 0.07	36.70 ± 2.48

3.3.2 Alperujo compostado

El alperujo compostado se obtuvo dejando el alperujo fresco en un tanque para que se secase al aire, favoreciendo el proceso de fermentación y consiguiendo reducir el contenido en polifenoles que son fitotóxicos. Posteriormente se añadieron restos de poda y hojas de los olivos con el objetivo de favorecer la aireación. Antes de aplicar el alperujo compostado al suelo se controló la relación C/N, añadiendo urea como fuente de N para que la relación C/N fuera inferior a 20, como marca la legislación vigente, R.D. 824/2005. El tiempo que dura el proceso de compostaje del alperujo puede oscilar entre 4 y 6 meses.

3.4 Estudios de laboratorio

3.4.1 Estudios de adsorción

Las adsorción de los herbicidas en los suelos originales y enmendados se realizó haciendo interaccionar 5 g de suelo con 10 mL de una disolución de concentración inicial (C_i) de 5, 10, 20, 40 y 50 μM de herbicida (duplicado). Las disoluciones de los herbicidas se prepararon utilizando CaCl_2 0.01M como disolvente, para mantener constante la fuerza iónica. Se utilizaron tubos de centrífuga de 50 mL de capacidad y de polipropileno (Figura 3.2). Se dejó en agitación en volteo durante 24 horas, tiempo suficiente para que se alcanzara el equilibrio y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. Se filtró el sobrenadante con filtros de fibra de vidrio de 0.45 μm y se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), obteniéndose los valores de concentración de los herbicidas en el equilibrio (C_e). En el caso de diurón, terbutilazina y MCPA se utilizó el detector de fotodiodos y para amitrol el detector de espectroscopía de masas. Las condiciones utilizadas se describirán en la sección 3.6 de técnicas analíticas.

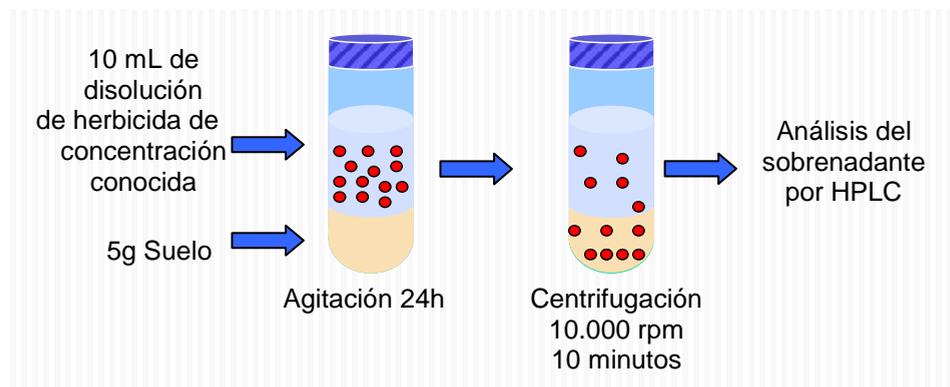


Figura 3.2. Esquema del proceso de adsorción de los herbicidas en las muestras de suelo.

Se asumió que las diferencias entre C_i y C_e se debían a procesos de adsorción de los herbicidas en los suelos. Las isothermas de adsorción se obtuvieron representando las cantidades de herbicida adsorbido (C_s) frente a las concentraciones de equilibrio (C_e) correspondientes a cada concentración inicial.

$$C_s = \frac{(C_i - C_e) V}{m}$$

Siendo V (mL) el volumen de la disolución de herbicida y m (g) el peso del suelo.

Las isothermas obtenidas experimentalmente se ajustaron a la ecuación de Freundlich

$$C_s = K_f C_e^{1/n_f}$$

Siendo K_f el coeficiente de distribución que corresponde a la cantidad de plaguicida adsorbido cuando C_e es igual a la unidad y $1/n_f$ es otra constante que indica la intensidad de la adsorción. Del ajuste lineal de la expresión logarítmica de la ecuación de Freundlich se obtienen los valores de K_f como la ordenada en el origen y de $1/n_f$ como la pendiente de la recta de la representación de $\log C_s$ frente a $\log C_e$.

$$\log C_s = \log K_f + 1/n_f \log C_e$$

3.4.2 Estudios de desorción

Tras la adsorción se realizaron tres desorciones sucesivas de la disolución de mayor concentración (50 μM) para cada herbicida. Una vez centrifugadas las muestras de suelo correspondientes a la adsorción, se retiraron 5 mL de sobrenadante y se añadieron 5 mL de CaCl_2 0.01 M, se resuspendió el suelo con la disolución y se dejó de nuevo en agitación durante 24 horas. Después de centrifugar a 10.000 rpm durante 10 minutos se retiraron 5 mL de sobrenadante (1^a desorción) y se añadieron 5 mL de CaCl_2 0.01M. Se repitió el mismo procedimiento hasta un total de 3 ciclos de desorción. La cantidad de herbicida en el sobrenadante (C_e) también se determinó por HPLC. Para obtener las isothermas de desorción se representó C_e frente a la cantidad de herbicida adsorbida por el suelo en la desorción (C_{sd}).

Los coeficientes de histéresis, expresados en porcentaje, se calcularon según la ecuación:

$$\%H = \frac{1/n_{f\text{ des}}}{1/n_{f\text{ ads}}} \times 100$$

El porcentaje de desorción se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%D = \frac{C_{SA\ 50} - C_{SD3\ 50}}{C_{SA\ 50}} \times 100$$

3.4.3 Estudios de disipación

Antes de comenzar con este estudio se determinó la capacidad máxima de retención de agua de los suelos originales y los suelos enmendados. Se realizó un duplicado de cada tipo de suelo. Se pesó un embudo con papel de filtro saturado con agua sobre un matraz erlenmeyer. Se colocaron 30 g de suelo en el embudo y se añadió agua destilada al suelo hasta que se saturó y comenzó a drenar el agua. Se dejó transcurrir 24 horas y pasado ese tiempo se volvió a pesar el conjunto de matraz y embudo con el suelo. La diferencia entre este peso y el peso inicial es la cantidad máxima de retención de agua de 30 g de suelo. Se calculó el porcentaje de capacidad máxima de retención de agua de cada suelo.

Para los estudios de disipación se pesaron 500 g de suelo original o enmendado por duplicado y se colocaron en bandejas. Se le añadió 10 mL de una disolución de herbicida en etanol, aplicándose diurón y terbutilazina a una dosis de 3 kg ha⁻¹, amitrol se aplicó a una dosis de 2 kg ha⁻¹ y de 1.5 kg ha⁻¹ para MCPA. A continuación se añadió agua destilada, la cantidad correspondiente al 40% de la capacidad máxima de retención de agua del suelo. Se tamizó 2 veces con un tamiz de 5 mm de luz de malla, para distribuir homogéneamente el herbicida en las muestras. Los suelos se pasaron a envases de vidrio y se pesaron, para controlar la humedad semanalmente y se guardaron en oscuridad. En caso de pérdida de humedad se reponía con agua destilada. Se tomaron muestras a tiempo 0 y a los 3, 10, 17, 24 y 31 días para diurón y terbutilazina. Para MCPA en los suelos P2 original y enmendado la toma de muestra se realizó a tiempo 0 y después de 4, 12, 19, 26, 33, 61 y 82 días de haber aplicado el herbicida. Para el mismo herbicida en los suelos de Jaén original y enmendado además del tiempo 0 se recogieron muestras tras 31, 59, 80, 101,

129 y 171 días de haber iniciado el estudio. Las muestras se congelaron hasta el momento de extracción de los herbicidas.

Las extracciones se realizaron con una relación 1:2 (p/v) de 5 g de suelo y 10 mL de extractante. Para diurón, terbutilazina y amitrol el agente extractante fue metanol y para MCPA una mezcla de ácido fosfórico (pH=2) y metanol en proporción (40:60) (v/v). La extracción se llevó a cabo mediante agitación durante 24 horas en un agitador de volteo, en el caso de amitrol se hizo por ultrasonidos durante 15 minutos, posteriormente se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos y el extracto o sobrenadante se filtró utilizando filtros de fibra de vidrio de 0.45 μm . Las cantidades de herbicida extraído se determinaron por HPLC. Ensayos previos de extracción mostraron que la recuperación de los herbicidas fue superior al 90%, excepto en el caso de amitrol que fue de un 55%.

Las curvas de disipación se ajustaron a una cinética de primer orden.

$$C = C_0 e^{-kt}$$

Siendo C_0 la concentración inicial de herbicida, C la concentración de herbicida en el tiempo t y k la constante de disipación.

La vida media se calculó utilizando la ecuación:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

3.4.4 Estudios de mineralización

Se estudió la mineralización de diurón y de terbutilazina en el suelo original de Jaén y el mismo suelo enmendado con alperujo en el laboratorio. Se colocaron 20 g de suelo sin enmendar o enmendado, por duplicado, en un matraz biométrico de 250 mL. Se añadió la disolución de herbicida marcado con ^{14}C para conseguir una radiactividad de 84 Bq g^{-1} y también se aplicó herbicida sin marcar para alcanzar una concentración de 3 kg ha^{-1} . Se esperó para que se evaporara el disolvente de la disolución, etanol, y después se añadió agua destilada al suelo para ajustar el contenido al 40% de la capacidad máxima de retención de agua del suelo. En el brazo del matraz biométrico se añadió 1 mL de NaOH 1N para atrapar el CO_2 que se fuera liberando de la mineralización del herbicida por los microorganismos del suelo y se colocó un tapón de goma. Se pesó el matraz y el peso se controlaba semanalmente para ajustar el contenido de humedad, en caso de que fuera necesario. El mL de NaOH se reemplazaba semanalmente. El mL de NaOH retirado se mezclaba con 5 mL de líquido de centelleo, se dejaba durante 24 horas en la oscuridad y después se medía en el contador de centelleo (Beckman LD 5000 TD).

3.4.5 Estudios de lixiviación

Se empaquetaron manualmente columnas de vidrio de 24 cm de longitud con los suelos originales y con los suelos enmendados. Las columnas tenían un diámetro interno de 3.1 cm y se llenaron hasta una altura de 20 cm. En la parte inferior se colocó lana de vidrio y sobre ella 10 g de arena de mar lavada para evitar la pérdida de partículas de suelo y otros 10 g de arena se colocaron en la parte superior de la columna sobre el suelo, con la finalidad de

distribuir uniformemente la disolución inicial del herbicida y las disoluciones de lavado aplicadas posteriormente, así como de evitar las pérdidas por evaporación (Figura 3.3).

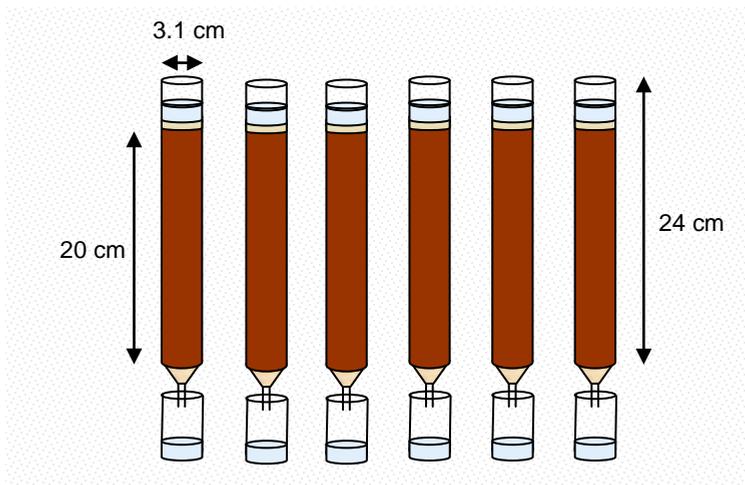


Figura 3.3. Dibujo de las columnas de suelo empacadas a mano y utilizadas para el estudio de lixiviación de los plaguicidas.

Antes de aplicar el herbicida se procedió a determinar el volumen de poro de los suelos originales y los suelos enmendados en las columnas de vidrio. Se añadieron 80 mL de CaCl_2 0.01 M y una vez transcurridas 24 h se midió el volumen lixiviado. La diferencia entre el volumen aplicado y el recogido corresponde al volumen de poro de la columna de suelo.

Los herbicidas se aplicaron disueltos en metanol, la dosis para diurón y terbutilazina aplicados individualmente fue de 3 kg ha^{-1} y cuando se aplicaron conjuntamente la dosis de cada herbicida fue de 2 kg ha^{-1} , la dosis de amitrol fue de 2 kg ha^{-1} y la de MCPA de 1.5 kg ha^{-1} . Después de 24 horas se procedió a aplicar diariamente 10 mL de CaCl_2 0.01M durante 30 días y diariamente se

recogían los lixiviados, se medía el volumen lixiviado y se mantenían refrigerados (4 °C) hasta el momento de ser analizados por HPLC, entonces se dejaban a temperatura ambiente y se filtraban con filtros de fibra de vidrio de 0.45 µm. Las concentraciones de herbicida medidas en los lixiviados se representaron frente al volumen de poro aplicado, obteniéndose las curvas de elución relativa. Las curvas de elución acumulativas resultaron de representar el porcentaje de plaguicida acumulado en los lixiviados frente al volumen de poro aplicado.

Una vez finalizado el experimento de lixiviación, se extrajo el suelo de las columnas. Una vez que el suelo se encontraba fuera de la columna de vidrio, se procedió a dividir el suelo en 4 fragmentos de 5 cm de longitud cada uno, que correspondían a las profundidades: 0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm. Cada fragmento se guardó en una bolsa identificada y se congeló hasta el momento de la extracción del herbicida y posterior análisis por HPLC.

La extracción se realizó de igual manera que se ha descrito en la sección correspondiente al estudio de disipación. Una vez filtrados los extractos se analizaron por HPLC.

3.4.6 Estudios de disponibilidad y biodisponibilidad

Se estudió la influencia que tiene la aplicación de alperujo fresco y el envejecimiento, es decir, el tiempo que permanece el herbicida en el suelo, en la disponibilidad de dos herbicidas pertenecientes a la familia de las triazinas, atrazina y terbutilazina, en dos suelos arenosos. El herbicida atrazina se ha

utilizado por ser una molécula muy estudiada y modelo en numerosos estudios sobre dinámica de herbicidas en suelos y aguas desde los años 60.

Atrazina (6-cloro-N²-etil-N⁴-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) es un sólido pulverulento e incoloro. Su peso molecular es 215.7 g mol⁻¹ y su solubilidad en agua 33 mg L⁻¹ a pH 7 y 22 °C. Presenta un coeficiente octanol-agua log P = 2.5 a 25 °C. El herbicida no marcado con ¹⁴C utilizado fue comprado a Chem Service (West Chester, PA) y presentaba una pureza del 98%. Atrazina marcada con ¹⁴C se adquirió a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), su actividad específica es de 1.63 MBq mg⁻¹ y pureza radioquímica 98.7%. El herbicida terbutilazina se ha descrito en el capítulo de Materiales y Métodos sección 3.1.2.

Los suelos empleados han sido el suelo P2, descrito en la sección 3.2.1. y Tabla 3.1. El otro suelo estudiado (MN) procede de Becker, Minnesota, se trata de un suelo franco arenoso con un pH de 5.8, contenido en arena 86%, limo 8% y arcilla 6% y 0.87% de M.O. Los suelos se han enmendado con alperujo fresco a un 10% (p/p), cuyas propiedades y características físico-químicas se describieron en la sección 3.3.1. de Materiales y Métodos y en la Tabla 3.2.

Se ha determinado el reparto de atrazina y terbutilazina entre el suelo, un extracto acuoso, un extracto orgánico y la fracción no extraíble ni con el extracto acuoso ni orgánico en función del tiempo. Diez gramos de suelo seco, enmendado o no enmendado se colocaron en tubos de centrífuga (triplicado) y se les añadió una disolución de atrazina o de terbutilazina para conseguir una concentración final de 1 µg g⁻¹ de herbicida y 168.2 Bq g⁻¹. La humedad se

ajustó al 40% de la capacidad máxima de retención de agua de los suelos y se colocó en cada tubo lana de vidrio sobre el suelo y un vial con 1 mL de NaOH 0.5 N para atrapar el $^{14}\text{CO}_2$ formado por la mineralización de los herbicidas. Los tubos se taparon y se dejaron en oscuridad a 25 °C, incubando durante 7, 14 y 28 días para los estudios de terbutilazina y 14 y 25 días para los de atrazina. El vial con 1 mL de NaOH se reemplazaba semanalmente y el vial retirado junto con 6 mL de líquido de centelleo se medía en un contador de centelleo Tri-Carb 1500 Packard.

A tiempo 0 y después de cada periodo de incubación, los herbicidas se extrajeron sucesivamente de las muestras de suelo, primero con 20 mL de una disolución acuosa de CaCl_2 0.01 N, se agitaron durante 20 horas en un agitador horizontal y se centrifugaron a 1500 g durante 30 minutos. Del sobrenadante se tomó 1 mL que se mezcló con 6 mL de líquido de centelleo y se analizó en el contador de centelleo para conocer la radiactividad total (^{14}C) en el extracto acuoso. El resto de sobrenadante acuoso se almacenó refrigerado a 4 °C hasta su posterior extracción con diclorometano (DCM) para el análisis por HPLC. El extracto acuoso se extrajo 2 veces con DCM con una relación 1:4 (diclorometano:extracto acuoso). Los dos nuevos extractos se mezclaron, se llevaron a sequedad con N_2 y calor (35 °C) Los residuos secos se resuspendieron con 1 mL de ACN:agua (40:60 v:v) y se analizaron por HPLC. Las condiciones se describen más adelante.

La segunda extracción del suelo incubado o a tiempo 0 se realizó con 20 mL de una disolución 80:20 (v:v) de metanol y agua, se dejó en agitación durante 20 horas y también se centrifugó a 1500 g durante 30 minutos. Del sobrenadante orgánico también se tomó 1 mL y se mezcló con 6 mL de líquido

de centelleo para su análisis por el contador de centelleo del ^{14}C total en el extracto orgánico. Tras la extracción acuosa y orgánica los suelos se congelaban a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se realizara su combustión para determinar la cantidad de ^{14}C no extraíble por estar fuertemente unido a los componentes del suelo. Para determinar la cantidad de compuesto original, es decir de atrazina o terbutilazina, en el extracto con metanol se evaporó el metanol y después se realizó una secuencia de dos extracciones líquido-líquido con DCM de los restos acuosos, una vez evaporado el metanol, con una relación 1:4 (DCM:extracto acuoso). Se combinaron las disoluciones de las dos extracciones con DCM y las muestras se llevaron a sequedad con N_2 y calor ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$). Los residuos secos se resuspendieron con 1 mL de acetonitrilo (ACN):agua (40:60 v:v) y se analizaron por HPLC, usando un cromatógrafo 1090 Hewlett-Packard y una columna Waters Spherisorb C8 $5\text{ }\mu\text{m}$ de 150 mm de longitud y 4.6 de diámetro interno. Como fase móvil se usó un gradiente de ACN:agua a un flujo de 1 mL min^{-1} . Se comenzó con un 40% de ACN hasta el minuto 15 y después aumentó hasta el 70% en el minuto 22. Para terbutilazina se recogieron las fracciones a los 10 minutos, después cada minuto hasta el minuto 16 y una última fracción desde el minuto 16 hasta el 22. Lo que se recoge desde el minuto 10 al 16 se considera terbutilazina original, por análisis previos por HPLC y el resto se consideran metabolitos o productos de degradación de terbutilazina. Para atrazina, la primera fracción se tomó desde el minuto 0 al 5, después cada minuto hasta el minuto 10 y la última fracción desde el minuto 10 al 15. La fracción correspondiente desde el minuto 5 al 10 se considera compuesto original y los compuestos que salen a distinto tiempo se consideran metabolitos de atrazina. Un mL de cada fracción se mezclaba con 6 mL de líquido de centelleo y se medía en el contador de centelleo para calcular el porcentaje de herbicida en los extractos. Los coeficientes de distribución (K_d) se

calcularon considerando que la cantidad de herbicida extraído con metanol era la cantidad de herbicida adsorbido por el suelo (C_s) y el herbicida extraído con la fase acuosa correspondía a la concentración de equilibrio del herbicida en la disolución (C_e).

$$K_d = \frac{C_s}{C_e}$$

Para medir la cantidad de ^{14}C no extraíble, se pesaron aproximadamente 0.33 g del suelo que quedaba después de las 2 extracciones, determinando previamente la humedad de los suelos. Las muestras se sometieron a combustión usando un oxidizador Packard 307. El $^{14}\text{CO}_2$ liberado se recogía en una mezcla de Carbo-Sorb E y Permafluor V y se medía en el contador de centelleo.

También se llevaron a cabo estudios para determinar el efecto de la adición de alperujo y del envejecimiento en la biodisponibilidad de los herbicidas con la bacteria *Pseudomonas* sp. cepa ADP, una bacteria específica de la degradación de atrazina, capaz de usar atrazina como única fuente de C y N. Se pesaron 10 g de suelo enmendado o no enmendado en tubos de centrífuga y se añadió una disolución de herbicida para alcanzar la misma concentración que en el estudio anterior.

Para ver el efecto de la concentración de microorganismos, los suelos se inocularon con 1 ó 2 mL de una suspensión de *Pseudomonas* sp. cepa ADP, que equivale a una concentración de 1×10^8 ó 2×10^8 microorganismos g^{-1} . Se colocó lana de vidrio sobre el suelo y un vial con un mL de NaOH 0.5 N sobre

la lana de vidrio y se incubaron los suelos en oscuridad y a 25 °C durante 7, 14 y 28 días para el estudio de terbutilazina en el suelo P2 y (P2+AF)_L; 10 y 26 días para el estudio de atrazina en los mismos suelos y 9, 17 y 26 días para el estudio de atrazina en el suelo MN y (MN+AF)_L. A tiempo 0 y a los días marcados de incubación se inocularon los suelos y se estudió la mineralización por *Pseudomonas* sp. cepa ADP durante 3 días seguidos, reemplazando cada 24 horas los viales con el mL de NaOH 0.5 N. El mL de NaOH de cada vial se mezclaba con 6 mL de líquido de centelleo y se analizaba por el contador de centelleo.

3.5 Estudios de campo

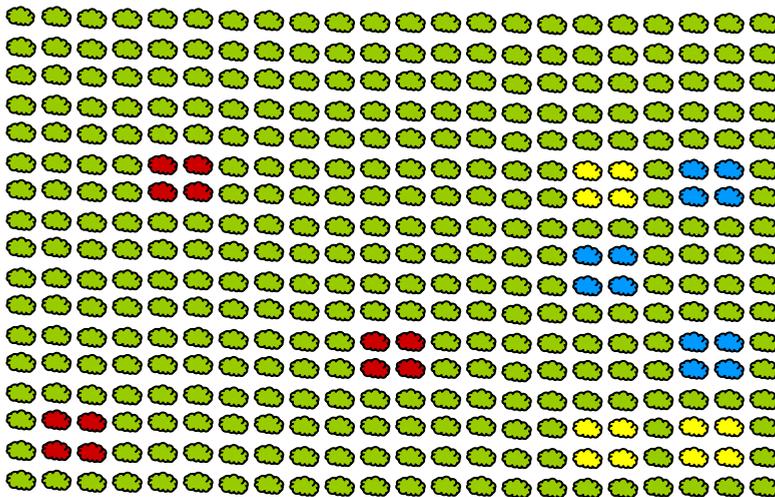


Figura 3.4. Esquema del olivar en Mengíbar (Jaén) de donde se tomaron las muestras de suelo para el estudio de campo. En azul las parcelas sin enmienda, en rojo las parcelas donde se aplicó alperujo fresco y en amarillo donde se aplicó alperujo compostado.

Se llevó a cabo en un olivar experimental en el IFAPA Venta del Llano de Mengíbar (Jaén). El marco de plantación era de 12 x 12 m. La parcela se subdividió en subparcelas de 4 olivos cada una. Se realizaron distintos tratamientos en los suelos, seleccionando por sorteo 3 subparcelas para cada tipo de tratamiento (Figura 3.4). Uno de los tratamientos consistió en añadir alperujo fresco al suelo desde el año 2001 al 2005 a una dosis de 17.920 kg ha⁻¹ cada año, para conseguir un aporte de 1.000 g de N, 164 g de P y 1.690 g de K por árbol. En la temporada 06/07 el aporte de alperujo fresco fue de 14.840 kg ha⁻¹. La enmienda se aplicó de forma manual al suelo y para facilitar su incorporación se utilizó la grada, llegando a unos 5 cm de profundidad. Otro tratamiento se realizó con alperujo compostado a la dosis que proporcionaba el mismo aporte de N por árbol que el alperujo fresco. El alperujo compostado aplicado se compró a la empresa García Morón en Arjona (Jaén). En la campaña 05/06 se aplicaron 7.700 kg de alperujo compostado ha⁻¹ y en la campaña 06/07 12.320 kg ha⁻¹. A otras 3 subparcelas no se le añadió ningún tipo de enmienda orgánica y sirvieron como blanco o testigo.

3.5.1 Estudios de persistencia

Durante 4 años consecutivos se ha aplicado a las subparcelas objeto de estudio un producto comercial llamado “Anibal” que contiene 28.5 % p/v de diurón y 28.5 % p/v de terbutilazina como ingredientes activos. El estudio de persistencia se ha llevado a cabo en las campañas 2005/06 y 2006/07. La dosis de aplicación fue de 6.9 L ha⁻¹ en Octubre de 2005 en todas las parcelas, dosis máxima permitida al comienzo del ensayo. Sin embargo, en años anteriores, a las parcelas enmendadas con alperujo fresco se le añadió 5 L ha⁻¹ del producto herbicida comercial porque los veranos habían sido muy secos y había menos malas hierbas. A partir del año 2005 se ha tratado anualmente con 6.9 L ha⁻¹.

Durante el primer año (campana 2005/06) se tomaron muestras tras 7, 14, 21, 49, 70 y 117 días después de la aplicación de los herbicidas el día 5 de Octubre de 2005. El segundo año de estudio se aplicó el herbicida comercial el día 20/10/06 y se tomaron muestras a tiempo 0 y los días 10, 52, 82, 111, 144 y 181 después del tratamiento.

Dentro de cada subparcela se tomaron seis replicados con barrena, a 3 profundidades: 0-10, 10-20 y 20-30 cm. Las muestras se congelaron para su posterior análisis.

En la Tabla 3.3 se muestra el contenido en C.O. y M.O. de los suelos de las parcelas de donde se tomaron las muestras para el estudio de persistencia.

Tabla 3.3. Contenido en M.O y C.O. de los suelos de las parcelas donde se realizó el estudio de persistencia. T: suelo testigo, no enmendado; AF: enmendado con alperujo fresco; AC: enmendado con alperujo compostado.

Suelo	05/06		06/07	
	% M.O.	% C.O.	% M.O.	% C.O.
T	1.84	1.07	1.82	1.06
AF	2.82	1.64	2.69	1.56
AC	2.38	1.38	2.56	1.48

Llegado el momento de la extracción de los herbicidas se descongelaron las muestras, en caso necesario se secaron al aire, se limpiaron de restos de hojas, ramas, piedras, etc. y se tamizaron con un tamiz de 5 mm de luz de malla. Por triplicado se pesaron 10 g de suelo en tubos de centrífuga de 50 mL de copolímero de polipropileno y se añadieron 10 mL de MeOH, se dejaron en

agitación en volteo durante 24 horas, se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos y se recogió el sobrenadante. El suelo se volvió a extraer con otros 10 mL de MeOH, se resuspendió el suelo con ayuda de una espátula y se agitó el tubo de centrifuga en un vortex durante 1 minuto, se centrifugó en condiciones iguales a las descritas con anterioridad y el sobrenadante se mezcló con el recogido anteriormente. Los 20 mL de extracto se llevaron a sequedad en un rotavapor, se añadieron 2 mL de MeOH al matraz para recoger los herbicidas, se filtró con filtro de fibra de vidrio de 0.45 μm y se analizó por HPLC. Los datos obtenidos se trataron con el programa estadístico SPSS para Windows v. 14.

3.6 Técnicas analíticas

Tabla 3.4. Condiciones utilizadas para el análisis de los herbicidas por HPLC con detector de fotodiodos.

Herbicida	Fase móvil (%)	λ Detección (nm)	Tiempo retención (min)
Diurón	Acetonitrilo-Agua (40:60)	250	4.5
Diurón +DCPMU+DCPU	Acetonitrilo-Agua (35:65)	250	6.8, 5.0, 3.5
Terbutilazina	Acetonitrilo-Agua (50:50)	220	3.8
Diurón + Terbutilazina	Acetonitrilo-Agua (40:60)	250 y 220	5.0 y 7.7
MCPA	Ácido fosfórico 1N - Metanol (40:60)	230	4.6

Los herbicidas se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Todos los herbicidas, excepto amitrol, se analizaron con un

cromatógrafo que consta de una bomba Waters 1525, autoinyector Waters 717 y detector de fotodiodos Waters 2996. La columna empleada fue Nova Pack C₁₈ de 150 mm de longitud y 3.9 mm de diámetro interno de Waters. El volumen de inyección fue de 25 µL y el flujo de la fase móvil de 1 mL min⁻¹. En la tabla 3.4 se muestran las condiciones de trabajo utilizadas.

Amitrol se analizó con un sistema cromatográfico Waters 2690, equipado con bomba y autoinyector. La detección se realizó con un espectrómetro de masas cuatro triple cuadrupolo de Micromass (Manchester, U.K.). La separación cromatográfica se realizó con una columna de fase reversa Purospher STAR RP-18 de 125 mm de longitud, 2 mm de diámetro interno y 5 µm de diámetro de partícula, precedida de una precolumna de 4x4 mm y del mismo material de relleno que la columna de Merck (Darmstadt, Alemania). La fase móvil empleada fue metanol-agua (20:80) (v/v) a un flujo de 0.2 mL min⁻¹ y el volumen de inyección fue de 10 µL. La energía del cono se fijó en 30V y la de colisión en 20 eV para la transición ~~85~~ y 30 eV para la transición 85→43. El tiempo de retención de amitrol era de 2 minutos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Estudios de adsorción-desorción

4.1.1 Diurón

4.1.1 a) Isotermas de adsorción

Tras hacer interaccionar el suelo con disoluciones de herbicida con distintas concentraciones, se determinaron las concentraciones en el equilibrio y se obtuvieron las isotermas de adsorción representando las concentraciones adsorbidas de diurón (C_s , $\mu\text{mol kg}^{-1}$) frente a las concentraciones de equilibrio (C_e , μM) (Figura 4.1). Posteriormente, los valores de C_e y C_s se ajustaron linealmente a la ecuación de Freundlich para así obtener los coeficientes K_f y $1/n_f$ de adsorción.

$$\log C_s = \log K_f + 1/n_f \log C_e$$

Tabla 4.1. Parámetros de Freundlich de adsorción de diurón y valores de K_{oc} .

Suelo	$K_{f\text{ ads}}$	$1/n_{f\text{ ads}}$	R^2	K_{oc}
BJ	4.31 (4.01-4.62)*	$0.839 \pm 0.033^{**}$	0.9954	404 (376-433)*
(BJ+AF) _L	10.28 (9.56-11.06)	0.964 ± 0.051	0.9916	415 (386-447)
(BJ+AC) _L	7.74 (7.21-8.31)	0.969 ± 0.044	0.9938	296 (276-318)
(BJ+AF) _C	3.69 (3.52-3.87)	0.877 ± 0.021	0.9982	226 (215-237)
P2	1.51 (1.20-1.91)	0.844 ± 0.089	0.9677	413 (328-523)
(P2+AF) _L	7.96 (7.27-8.71)	1.148 ± 0.065	0.9904	775 (708-848)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

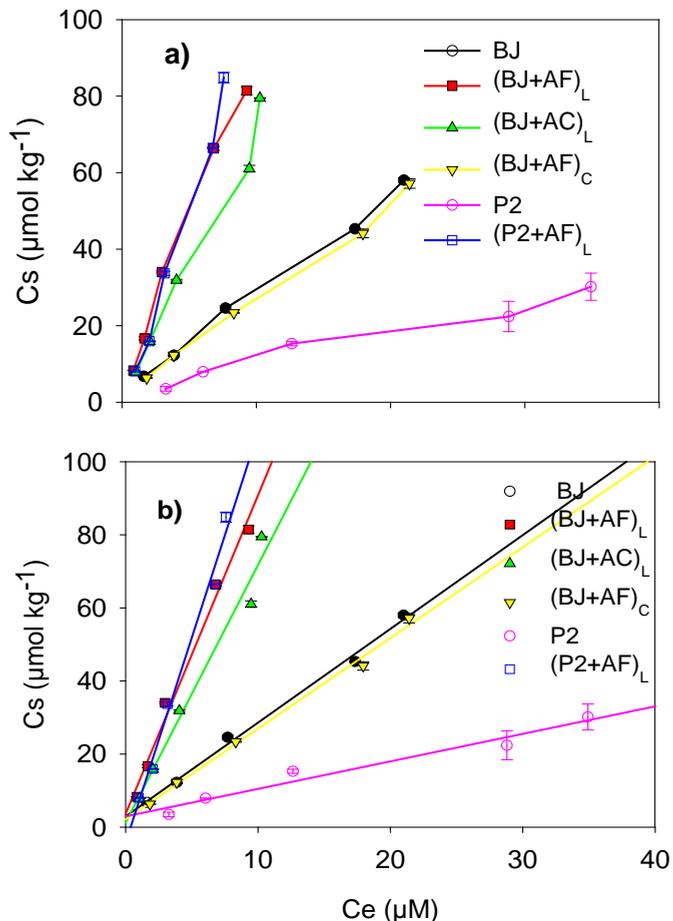


Figura 4.1. a) Isotermas de adsorción de diurón aplicado en los suelos originales y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción.

Los valores de $1/n_f$ obtenidos para diurón, tanto en los suelos originales, como en los enmendados, son en general menores que la unidad (Tabla 4.1), lo cual indica que la adsorción es altamente dependiente de la concentración inicial de la disolución, con mayores porcentajes de adsorción a menores concentraciones (Cox et al., 1997b). La mayoría de las isotermas son de tipo L,

según la clasificación de Giles et al. (1960): a medida van ocupando las moléculas de diurón los lugares de adsorción, se hace más difícil encontrar un sitio vacante disponible. En los casos del suelo arcilloso BJ enmendado con alperujo fresco (BJ+AF)_L y alperujo compostado en el laboratorio (BJ+AC)_L, el valor de la pendiente $1/n_f$ está próximo a la unidad. Se trata por tanto de una isoterma tipo C (Giles et al., 1960). Las curvas tipo C se caracterizan por un reparto constante del plaguicida entre la disolución y el suelo, especialmente la fracción orgánica (Patakioutas y Albanis, 2002). Sólo en el suelo P2 enmendado con alperujo fresco en el laboratorio se obtiene un valor de $1/n_f$ para diurón superior a 1 (Tabla 4.1). Se trata de una isoterma tipo S, indicándonos la existencia de competencia entre las moléculas de plaguicida y las de agua por los sitios de adsorción (Giles et al., 1960). Los valores de K_f de diurón han oscilado entre 1.51 en el suelo P2 original y 10.28 en el suelo BJ enmendado con alperujo fresco en el laboratorio (BJ+AF)_L. Los coeficientes de adsorción K_f de diurón en los dos suelos estudiados sin enmendar, P2 y BJ, pueden compararse porque los valores de $1/n_{f_{ads}}$ son similares (Hance, 1967; Bowman, 1981). Los valores obtenidos de $K_{f_{ads}}$ indican mayor adsorción de diurón en el suelo BJ que en el suelo P2. El suelo BJ tiene mayor contenido en materia orgánica (1.84%) y en arcilla (51.6%) que el suelo P2 (0.63% de M.O. y 20.4% de arcilla) (Tabla 3.1). Ambos componentes de los suelos se ha visto que se correlacionan positivamente con la adsorción del herbicida diurón (Alva y Singh, 1990; Inoue et al., 2006).

Tanto en el suelo arenoso P2, como el arcilloso BJ, los valores de K_f (Tabla 4.1) indican que la adsorción de diurón aumenta cuando los suelos se enmiendan con alperujo fresco y alperujo compostado en el laboratorio a razón de 10% en peso. Este aumento en K_f puede atribuirse al aumento en materia orgánica y carbono orgánico al aplicar la enmienda al suelo (Tabla 3.1). Estos

resultados concuerdan con otros publicados por autores como Cox et al. (1998); Sánchez-Camazano et al. (2000); Said Pullicino et al. (2004) y Dorado et al. (2005). En el suelo BJ, la materia orgánica aumenta de 1.84% a 4.27% y 4.51% cuando se enmienda con alperujo fresco y alperujo compostado, respectivamente. En el suelo P2, el porcentaje de M.O. de 0.63 en el suelo sin enmendar asciende a 1.77% cuando se enmienda con alperujo y a 3.04% cuando la enmienda está compostada. Sin embargo cuando el suelo se enmienda en el campo, aún aumentando el contenido en materia orgánica de 1.84 a 2.82% en el suelo BJ, no se observan diferencias significativas en la adsorción entre el suelo enmendado y el suelo original. Fernández-Bayo et al. (2008) tampoco encontraron correlación entre la cantidad adsorbida de diurón e imidacloprid con el contenido en C.O., en un estudio con 8 suelos agrícolas, atribuyendo este resultado al bajo contenido en C.O. de los suelos (entre 0.24% y 2.5%). Según estos autores, otras propiedades de los suelos, normalmente enmascaradas por el contenido en C.O., jugarían un papel importante en la dinámica de adsorción de diurón e imidacloprid. Cox et al. (2007) también observaron una menor adsorción de diurón en un suelo enmendado con una enmienda comercial líquida, que en el suelo original, pese al aumento del contenido total de C.O. tras la enmienda. La disminución en la adsorción de diurón se atribuyó a la interacción de la materia orgánica soluble de la enmienda líquida y el herbicida en disolución, así como a competencia por los sitios de adsorción. Por lo tanto, no sólo la cantidad de M.O., sino también la naturaleza de la misma pueden afectar a la adsorción de diurón. La aplicación de la enmienda en el laboratorio o en el campo también puede influir en los resultados obtenidos. En el primer caso, tras añadir la enmienda, el suelo se tamiza para conseguir una distribución lo más homogénea posible de la enmienda. Por el contrario, en el campo, pese a

pasar una pala tras la adición del alperujo, probablemente no se consiga un reparto tan homogéneo de la enmienda en el suelo.

Con objeto de disminuir la variabilidad en la adsorción entre distintos suelos, debido a la variedad en la cantidad y la calidad de los componentes del suelo, especialmente de la materia orgánica, también se han calculado los coeficientes de adsorción normalizados al contenido de carbono orgánico (C.O.) (K_{oc}) (Tabla 4.1):

$$K_{oc} = \frac{K_f}{\%C.O.} \times 100$$

Esta normalización asume que la M.O. es el componente principal de los suelos en el control de la adsorción y que las propiedades de adsorción de la M.O. son las mismas en todos los suelos (Seybold y Mersie, 1996). Según Green y Karickhoff (1990), K_{oc} es un coeficiente que describe la distribución de un plaguicida entre las fases acuosa y orgánica del suelo. Esta aproximación es más adecuada para plaguicidas hidrofóbicos, plaguicidas no iónicos con una solubilidad en agua inferior a 10^{-3} M, pero se puede aplicar prácticamente a muchos plaguicidas que son ligeramente polares y demasiado solubles en agua para ser considerados hidrofóbicos.

A pesar de la diferencia entre los valores de $K_{f_{ads}}$ en los suelos originales BJ y P2 no se han encontrado diferencias significativas en los valores de K_{oc} . (Tabla 4.1). Tampoco se han obtenido diferencias significativas en los valores de K_{oc} del suelo BJ original y el mismo suelo enmendado con alperujo fresco en el laboratorio (BJ+AF)_L (404 y 415 respectivamente) (Tabla 4.1). Sin embargo, cuando este suelo se enmienda con alperujo compostado en el laboratorio o con alperujo fresco en el campo, los valores de K_{oc} disminuyen

significativamente a 296 y 226 respectivamente. Estos valores más bajos de K_{oc} indican una menor capacidad de adsorción de la enmienda orgánica. Resultados similares fueron observados por González Pradas et al., (1998) en el caso de diurón y un suelo enmendado con turba. Por el contrario, en el suelo arenoso P2 es mayor el valor de K_{oc} en el suelo enmendado que en el suelo original, 775 frente a 413.

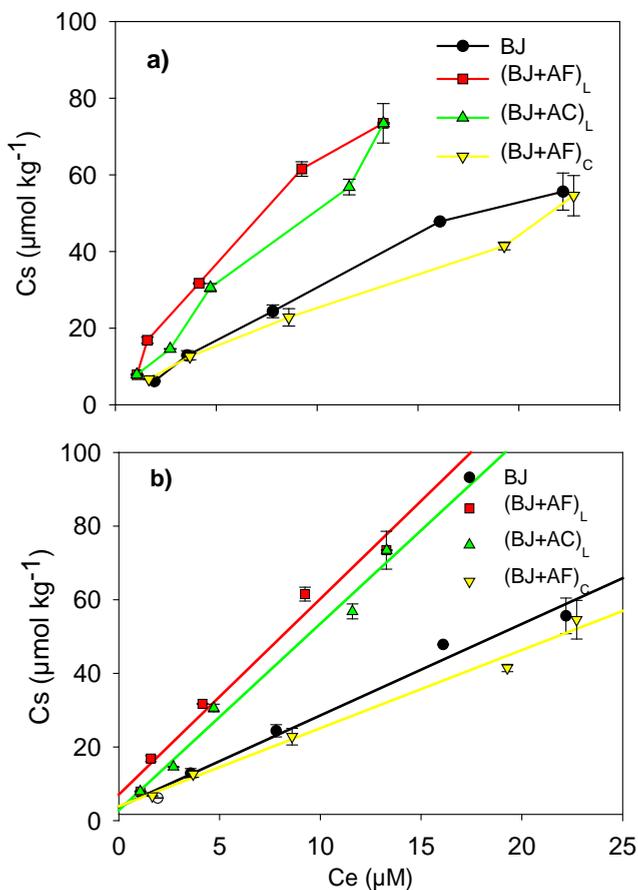


Figura 4.2 a) Isotermas de adsorción de diurón aplicado junto con terbutilazina en el suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de diurón coaplicado con terbutilazina.

La variabilidad en los valores de K_{oc} es indicativa de que tanto la cantidad como el origen de la materia orgánica afectan a la adsorción de diurón.

Tabla 4.2. Parámetros de Freundlich de adsorción de diurón coaplicado con terbutilazina y valores de K_{oc} .

Suelo	$K_{f\ ads}$	$1/n_{f\ ads}$	R^2	K_{oc}
BJ	3.72 (3.35-4.13)*	$0.900 \pm 0.048^{**}$	0.9914	349 (314-387)*
(BJ+AF) _L	9.16 (7.94-10.57)	0.840 ± 0.086	0.9696	370 (321-427)
(BJ+AC) _L	7.05 (6.34-7.83)	0.881 ± 0.059	0.9868	269 (242-299)
(BJ+AF) _C	4.50 (4.21-4.81)	0.773 ± 0.030	0.9955	275 (257-294)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

Las isothermas de adsorción de diurón cuando se coaplica con terbutilazina se representan en la Figura 4.2 y los parámetros de adsorción se muestran en la Tabla 4.2. Observamos que cuando diurón se coaplica con terbutilazina no existen diferencias significativas en la adsorción, los coeficientes de adsorción (K_f o K_{oc}) son similares, salvo en el caso del suelo BJ enmendado en el campo (BJ+AF)_C, en el que la adsorción es ligeramente mayor. Esta pequeña diferencia puede atribuirse a heterogeneidad de las muestras de suelo tomadas del campo. Estos resultados difieren de los encontrados por Turin y Bowman (1997), los cuales estudiaron la adsorción competitiva de tres herbicidas (bromacilo, napropamida y prometrina), y observaron la disminución de la adsorción de bromacilo y napropamida en presencia de los herbicidas, en comparación con la aplicación de los herbicidas solos. Sin embargo, la adsorción de prometrina no se vió afectada por la presencia de los otros herbicidas. Ebato y Yonebayashi (2005) tampoco observaron adsorción competitiva de los herbicidas linurón y atrazina en ocho

suelos distintos, atribuyéndolo a que el número de sitios de adsorción en la superficie del suelo era mucho mayor que el número de moléculas de los herbicidas, o bien en que linurón y atrazina no se adsorbían en forma de monocapas, sino a la superficie de moléculas de herbicidas adsorbidas a la superficie del suelo.

4.1.1 b) Estudios de desorción

Tras el estudio de adsorción se realizaron 3 desorciones sucesivas a partir de la adsorción de la disolución de diurón de concentración 50 μM en CaCl_2 0.01 M. La Figura 4.3 muestra la representación de las isothermas de adsorción-desorción de diurón en los suelos estudiados. El ajuste lineal de las isothermas de desorción a la ecuación de Freundlich (Tabla 4.3) fue muy bueno en general, excepto en el suelo $(\text{P2+AF})_L$.

Los valores de los coeficientes K_f de desorción son mayores que los K_f de adsorción de diurón cuando se comparan los mismos suelos, oscilando los valores de K_f de desorción entre 2.71 (suelo $(\text{P2+AF})_L$) y 34.44 en el suelo $(\text{BJ+AC})_L$. Por el contrario los valores de $1/n_f$ de desorción son menores que los valores de $1/n_f$ de adsorción, lo cual indica que la velocidad de desorción es más lenta que la de adsorción. Esto es debido al fenómeno de histéresis (Seybold y Mersie, 1996). Los porcentajes de histéresis sirven como medida de la reversibilidad del proceso de adsorción-desorción. Valores del 100% indican que la adsorción y la desorción son iguales y por lo tanto hay una alta reversibilidad. En caso de bajos porcentajes de histéresis los procesos de adsorción son altamente irreversibles. Como puede observarse en esta tabla, el suelo P2 es el que presenta un mayor porcentaje de histéresis y de desorción.

Este suelo tiene un contenido en M.O. muy bajo (0.63%) y la menor capacidad de adsorción de diurón de entre todos los suelos estudiados, enmendados y sin enmendar (Tabla 4.1).

Tabla 4.3. Parámetros de Freundlich de desorción de diurón y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\text{ des}}$	$1/n_{f\text{ des}}$	R^2	%H	% D
BJ	12.36 (11.99-12.74)*	$0.509 \pm 0.012^{**}$	0.9989	70.59	37.31
(BJ+AF) _L	25.59 (22.87-28.63)	0.524 ± 0.056	0.9774	54.36	20.92
(BJ+AC) _L	34.44 (33.26-35.65)	0.361 ± 0.017	0.9955	37.26	19.90
(BJ+AF) _C	9.22 (8.76-9.71)	0.592 ± 0.020	0.9978	67.54	41.30
P2	2.71 (2.67-2.75)	0.678 ± 0.005	0.9999	80.37	60.39
(P2+AF) _L	26.24 (17.04-40.41)	0.554 ± 0.227	0.7492	48.28	20.22

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

Puede observarse que para los dos suelos, BJ y P2, la enmienda orgánica da lugar a una disminución en el porcentaje de histéresis (Tabla 4.3). Cox et al. (1997b) y Koskinen et al. (2006) atribuyeron la menor desorción en los sistemas de mayor adsorción a la irreversibilidad de los fuertes enlaces químicos entre el plaguicida y los componentes coloidales del suelo, especialmente la M.O. Asimismo, nuestros resultados concuerdan con los de Delgado-Moreno y Peña (2008), quienes estudiaron el efecto de la aplicación de alperujo fresco y compostado en la adsorción y desorción de sulfonilureas. Estos autores atribuyeron los menores valores de histéresis en los suelos enmendados respecto al no enmendado, a la formación de fuertes enlaces de hidrógeno entre el herbicida bensulfurón y los grupos C=O y N-H de los grupos carboxílicos y amidas de la materia orgánica del alperujo.

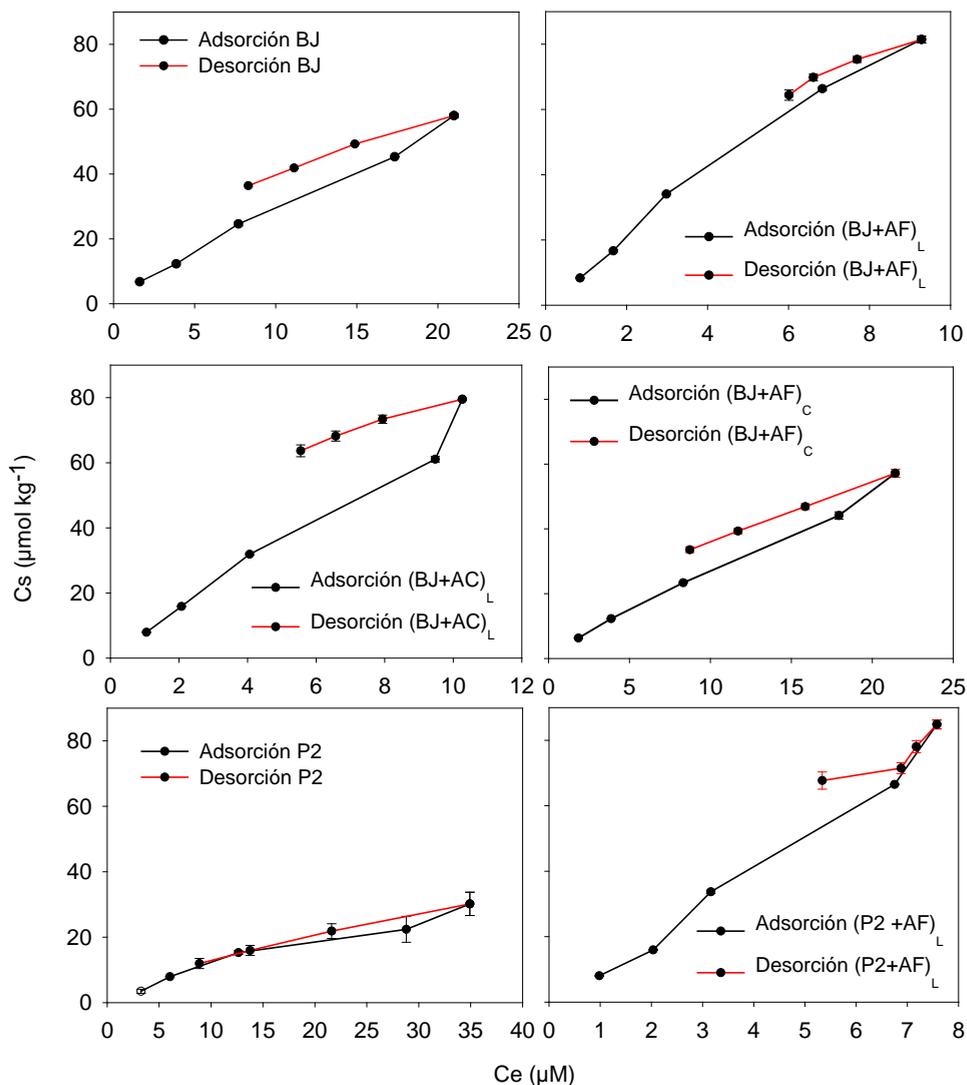


Figura 4.3. Isothermas de adsorción-desorción de diurón en los suelos originales y enmendados con alperujo.

Las isothermas de adsorción-desorción de diurón aplicado conjuntamente con terbutilazina en el suelo BJ sin enmienda y enmendado con alperujo se han

representado en la figura 4.4. En la tabla 4.4 se muestran los coeficientes de desorción de diurón coaplicado con terbutilazina. Por el contrario a lo que ocurría en los estudios de adsorción, en los que no vimos diferencias entre la aplicación conjunta y la aplicación por separado, existe un aumento generalizado de los porcentajes de histéresis de diurón cuando es aplicado con terbutilazina respecto a la aplicación de diurón solo, lo cual indica que la adsorción es más reversible cuando se coaplican los herbicidas. Esto es especialmente significativo en los sistemas menos adsorbentes (BJ y (BJ+AF)_C).

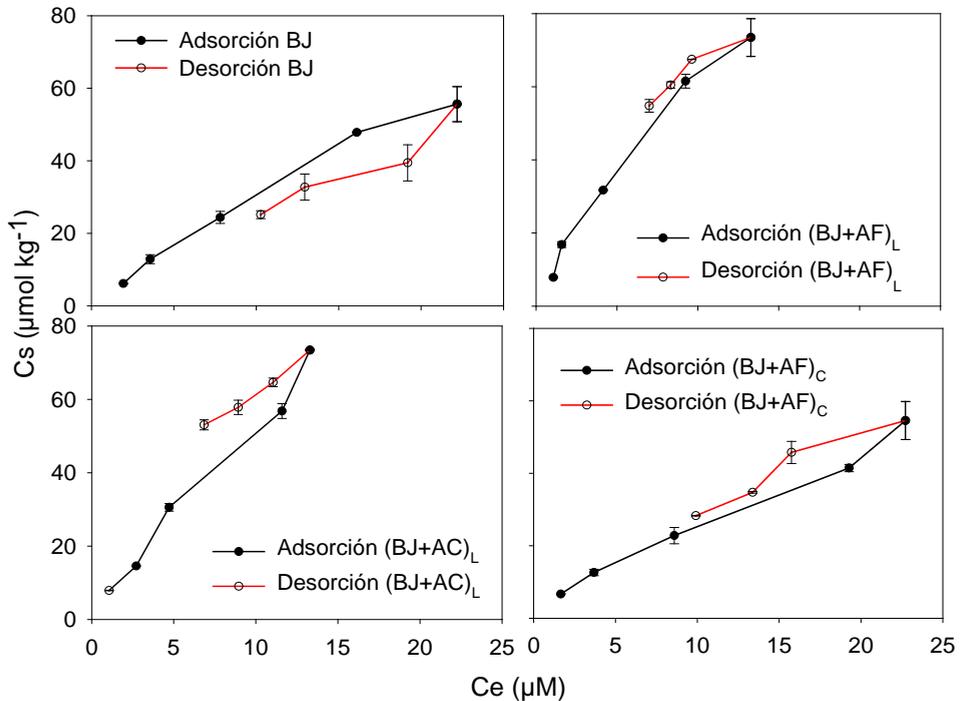


Figura 4.4. Isothermas de adsorción desorción de diurón aplicado con terbutilazina en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo.

Tabla 4.4. Parámetros de Freundlich de desorción de diurón coaplicado con terbutilazina y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\ des}$	$1/n_{f\ des}$	R^2	%H	% D
BJ	3.08 (1.86-5.11)*	$0.905 \pm 0.184^{**}$	0.9238	100.55	54.78
(BJ+AF) _L	22.91 (19.29-27.20)	0.458 ± 0.077	0.9470	54.54	25.41
(BJ+AC) _L	20.42 (17.88-23.31)	0.486 ± 0.058	0.9724	55.21	27.75
(BJ+AF) _C	4.34 (3.06-6.16)	0.821 ± 0.129	0.9527	106.21	48.12

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

4.1.2 Terbutilazina

4.1.2 a) Isotermas de adsorción

Las isotermas de adsorción de terbutilazina en los suelos seleccionados se representan en la Figura 4.5 y los parámetros de adsorción se muestran en la Tabla 4.5. Las isotermas se ajustan a una curva tipo C, la cual se caracteriza por un reparto constante del soluto entre la disolución y el sustrato (Giles et al., 1960), con valores de $1/n_{f\ ads}$ próximos a la unidad.

La adsorción de terbutilazina en el suelo arcilloso BJ sin enmendar, es muy inferior a la de diurón en este mismo suelo. Por el contrario, la adsorción en el suelo arenoso P2 es similar a la de diurón. Al igual que ocurría en la adsorción de diurón, cuando los suelos son enmendados en el laboratorio, la adsorción de terbutilazina aumenta notablemente respecto al suelo sin enmendar, como puede observarse por los valores de $K_{f\ ads}$ en la Tabla 4.5. Singh et al. (2001) estudiaron la adsorción de terbutilazina, metolaclor e isoproturón en distintos suelos, y observaron mayor adsorción de los herbicidas

en el suelo con mayor contenido en C.O., confirmando que la adsorción de estos tres herbicidas está controlada predominantemente por el contenido en M.O. de los suelos. Como en el caso de diurón, no se observa ningún cambio de adsorción de terbutilazina en el suelo arcilloso cuando éste se enmienda con alperujo fresco en el campo (BJ+AF)_C, al compararlo con el suelo original. Al igual que en el caso de diurón, esto puede atribuirse a que el aumento en M.O. (Tabla 3.1) tras la enmienda en el campo no es tan alto como en el laboratorio. La cantidad de enmienda aplicada corresponde a un 1.8% (p:p), respecto al 10% (p:p) de enmienda que se aplica cuando el suelo se enmienda en el laboratorio. El tiempo transcurrido desde que se aplicó la enmienda hasta que se realizó el estudio de adsorción (mayor en el campo que en el laboratorio), puede influir también en los resultados obtenidos, ya que según resultados de varios estudios al aumentar el tiempo de incubación de la enmienda en el suelo disminuye la adsorción de los herbicidas (Undabeytia et al., 2004; Delgado-Moreno et al., 2007).

Tabla 4.5. Parámetros de Freundlich de adsorción de terbutilazina y valores de K_{oc}.

Suelo	K _{f ads}	1/n _{f ads}	R ²	K _{oc}
BJ	2.58 (2.29-2.90)*	0.963 ± 0.051**	0.9916	241 (215-271)*
(BJ+AF) _L	12.02 (11.27-12.83)	1.150 ± 0.057	0.9927	485 (455-518)
(BJ+AC) _L	8.70 (7.65-9.89)	1.050 ± 0.090	0.9786	332 (292-378)
(BJ+AF) _C	2.56 (2.35-2.78)	0.982 ± 0.037	0.9958	156 (144-170)
P2	1.29 (1.07-1.57)	0.951 ± 0.075	0.9819	354 (292-430)
(P2+AF) _L	17.02 (16.29-17.79)	0.958 ± 0.040	0.9949	1658 (1587-1733)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de 1/n_f ± desviación estándar

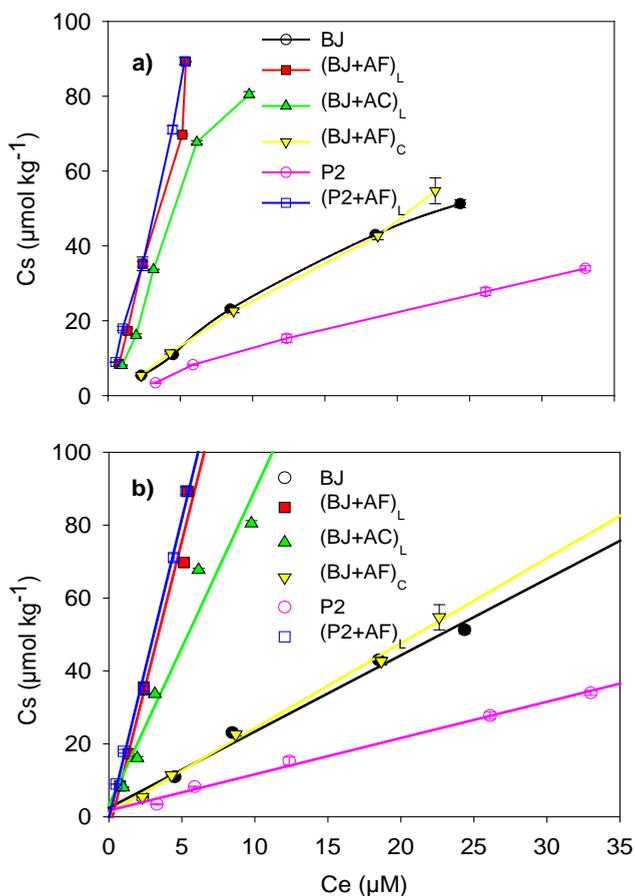


Figura 4.5 a) Isotermas de adsorción de terbutilazina en los suelos sin enmendar y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de terbutilazina.

En el suelo arenoso P2 es en el que se produce el mayor aumento en la adsorción de terbutilazina tras la enmienda en el laboratorio respecto al suelo no enmendado: el valor de $K_{f\ ads}$ es 13 veces superior en el suelo enmendado al compararlo con el suelo original (Tabla 4.5). Esto es indicativo de la importancia de la M.O. en la adsorción de terbutilazina. Dolaptsoglou et al. (2007) observaron un comportamiento similar en la adsorción de terbutilazina

cuando al suelo se le aplicaban distintas enmiendas orgánicas como: compost de residuos avícolas, paja y especialmente con residuos sólidos urbanos. Delgado-Moreno et al. (2007) también observaron un aumento en la adsorción de cuatro triazinas, entre ellas terbutilazina, cuando el suelo se enmendaba con alperujo fresco, compostado y vermicompostado. Cuando los coeficientes de adsorción se expresan en función de C.O. (K_{oc}), no observamos una reducción en la variabilidad de la adsorción. Se observa un aumento en K_{oc} en los suelos en los que la adsorción aumenta tras la enmienda, especialmente en el suelo (BJ+AF)_L, en el que $K_{f ads}$ aumenta de 2.6 a 12. En el caso del suelo arenoso P2 también observamos este aumento tan significativo en K_{oc} . Esta alta variación de los valores de K_{oc} de las triazinas con el tratamiento de los suelos, es indicativo de que la adsorción de estos herbicidas no depende sólo de la cantidad de M.O., sino también de la calidad de la M.O. Delgado-Moreno et al. (2007) observaron que los herbicidas más hidrofóbicos, como atrazina y prometrina, presentan mayores valores de K_{oc} y mayor afinidad por los suelos enmendados con residuos de almazara que contienen ácidos húmicos con grupos alifáticos y elevado contenido en lípidos constituidos por mezclas de n-alcános, n-alcánolos y ácidos grasos. Estos constituyentes de la matriz del suelo favorecen la adsorción de las triazinas por la formación de enlaces hidrofóbicos. También según estos autores cabe destacar que las superficies macromoleculares de estructuras alifáticas son más flexibles que las estructuras aromáticas asociadas con impedimentos estéricos y la adsorción de atrazina puede explicarse por la retención por el C alifático de las sustancias húmicas que le confiere mayor grado de flexibilidad estereoquímica y le permite la adsorción del herbicida dentro de una matriz macromolecular tridimensional.

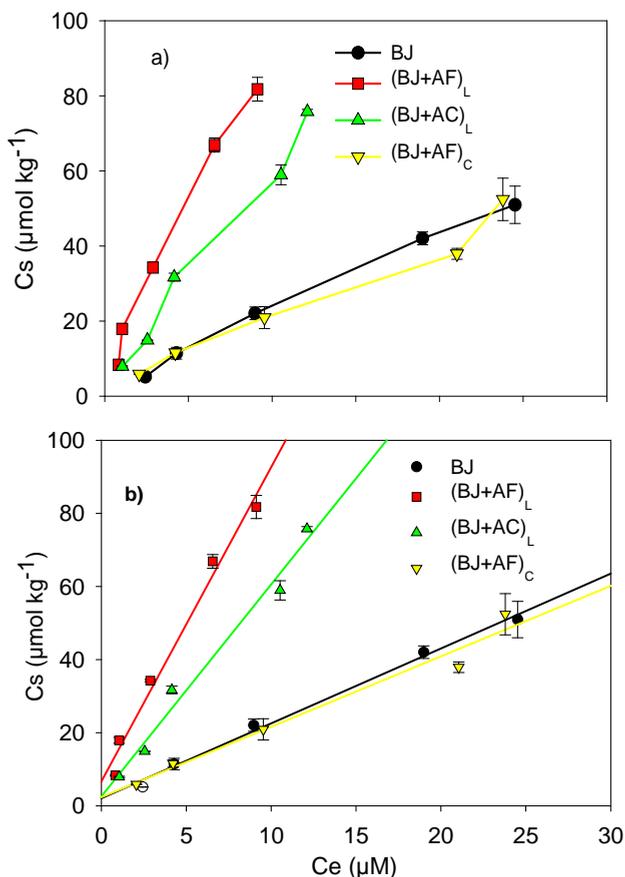


Figura 4.6 a) Isotermas de adsorción de terbutilazina aplicado con diurón en el suelo BJ original y enmendado con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de terbutilazina coaplicado con diurón.

La Figura 4.6 muestra las isotermas de adsorción de terbutilazina aplicado junto con el herbicida diurón en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con residuo sólido de almazara y los parámetros de adsorción se presentan en la Tabla 4.6. Al igual que sucedía con diurón, no existen diferencias significativas en la adsorción de terbutilazina con la coaplicación con diurón, ni en los valores de K_f ni en los valores de K_{oc} . Estos resultados difieren de los observados por Businelli (1997), quien observó una disminución

en los valores de K_f para atrazina cuando se coaplicaba con terbutilazina y prometrina en comparación a la aplicación de atrazina como único herbicida, atribuyendo este resultado a la competencia entre los herbicidas por los mismos sitios de adsorción.

Tabla 4.6. Parámetros de Freundlich de adsorción de terbutilazina coaplicada con diurón y valores de K_{oc} .

Suelo	$K_{f\ ads}$	$1/n_{f\ ads}$	R^2	K_{oc}
BJ	2.48 (2.16-2.84)*	$0.965 \pm 0.059^{**}$	0.9889	232 (202-266)*
(BJ+AF) _L	13.03 (11.18-15.18)	0.861 ± 0.110	0.9530	526 (452-613)
(BJ+AC) _L	7.33 (6.53-8.22)	0.920 ± 0.067	0.9841	280 (249-314)
(BJ+AF) _C	3.27 (2.93-3.65)	0.840 ± 0.047	0.9907	200 (179-223)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

4.1.2 b) Estudios de desorción

Las isotermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los suelos estudiados se han representado en la Figura 4.7. No se han obtenido buenos ajustes lineales de las isotermas de desorción de terbutilazina en los suelos enmendados con alperujo fresco en el laboratorio ($R^2 \leq 0.685$). En cambio, en el resto de los suelos, las correlaciones para el ajuste lineal de las isotermas de desorción sí han sido buenos ($R^2 \geq 0.962$) (Tabla 4.7).

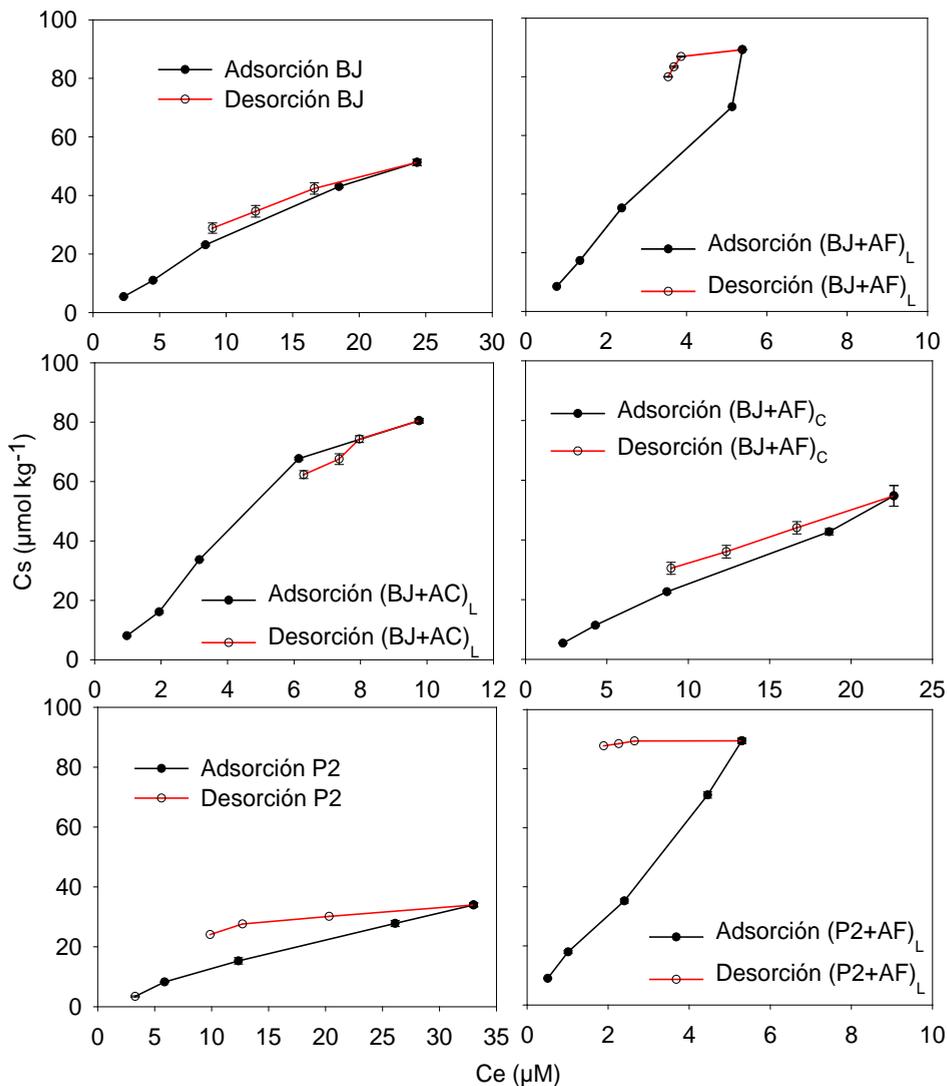


Figura 4.7. Isothermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los suelos originales y enmendados con alperujo.

Los valores obtenidos de $1/n_{f_{des}}$ son menores que los obtenidos para $1/n_{f_{ads}}$, al igual que ocurría con el herbicida diurón. Este hecho nos indica que se

produce el fenómeno de histéresis en el proceso de adsorción-desorción de terbutilazina en los suelos estudiados. Otros autores también han observado el fenómeno de histeresis en el caso de los herbicidas del grupo de las triazinas (Dousset et al. 1994; Chefetz et al. 2004; Delgado-Moreno et al. 2007). Llama la atención que en el suelo arenoso P2 sin enmendar la reversibilidad es menor que en el suelo arcilloso BJ, en el que se producía mayor adsorción de terbutilazina. Esto difiere de lo observado con diurón, en el que el porcentaje de histéresis de los suelos sin enmendar es similar (Tabla 4.3), y vuelve a poner de manifiesto los diferentes mecanismos de adsorción-desorción implicados en el caso de cada herbicida.

Tabla 4.7. Parámetros de Freundlich de desorción de terbutilazina y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\text{ des}}$	$1/n_{f\text{ des}}$	R^2	%H	%D
BJ	8.07 (7.58-8.58)*	$0.583 \pm 0.023^{**}$	0.9969	60.53	43.77
(BJ+AF) _L	63.53 (55.27-73.04)	0.206 ± 0.099	0.6854	17.93	10.36
(BJ+AC) _L	20.85 (17.60-24.69)	0.598 ± 0.082	0.9633	56.90	22.54
(BJ+AF) _C	7.49 (6.88-8.15)	0.633 ± 0.032	0.9950	64.49	44.30
P2	13.46 (12.07-15.00)	0.267 ± 0.039	0.9615	28.12	29.15
(P2+AF) _L	87.30 (86.42-88.18)	0.016 ± 0.009	0.6001	1.67	1.92

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

Cuando se estudia la desorción de terbutilazina coaplicada con diurón, se produce en el suelo original BJ el fenómeno de histéresis negativo, que se caracteriza porque la isoterma de desorción está por debajo de la isoterma de adsorción (Figura 4.8), $H > 100\%$ y $K_{\text{ads}} > K_{\text{des}}$. Barriuso et al. (1994) y Celis et al. (1997b) también observaron el fenómeno de histéresis negativo para la

desorción de atrazina y simazina. Barriuso et al. (1994) consideraron este resultado como "aberrante" porque implica que la cantidad de herbicida desorbido es superior a la cantidad adsorbida. Esto lo atribuyeron al efecto de la concentración de sólidos, por el cual la adsorción disminuye cuando aumenta la concentración de sólidos en la suspensión y el proceso de centrifugación produciría un aumento temporal en la relación sólido/disolución que favorecería el proceso de desorción. Otra explicación al fenómeno de histéresis negativa según apuntan estos autores es que en los experimentos de desorción sólo se elimina el agua externa y permanece retenida el agua interlaminar de las arcillas. Este fenómeno sólo se observa cuando el proceso de adsorción-desorción es altamente reversible y en suelos con alto contenido en arcillas con elevados coeficientes de adsorción. La reversibilidad del proceso de adsorción-desorción en este caso es muy elevada, como puede comprobarse por el alto valor de %H (Tabla 4.8). Cuando la enmienda se aplica al suelo en el campo también se obtiene una alta reversibilidad, pero en cambio si el suelo es enmendado en el laboratorio con alperujo aumenta la irreversibilidad en la adsorción-desorción de terbutilazina. Es decir, al igual que ocurría con diurón la irreversibilidad en el suelo arcilloso aumenta con el aumento en la adsorción.

Tabla 4.8. Parámetros de Freundlich de desorción de terbutilazina aplicada junto a diurón y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\text{ des}}$	$1/n_{f\text{ des}}$	R^2	%H	%D
BJ	0.93 (0.45-1.90)*	$1.215 \pm 0.251^{**}$	0.9213	125.91	66.33
(BJ+AF) _L	40.27 (35.18-46.10)	0.327 ± 0.071	0.9131	37.93	17.09
(BJ+AC) _L	24.43 (22.44-26.61)	0.448 ± 0.039	0.9853	48.73	24.85
(BJ+AF) _C	2.43 (1.64-3.59)	0.979 ± 0.141	0.9600	116.58	53.88

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

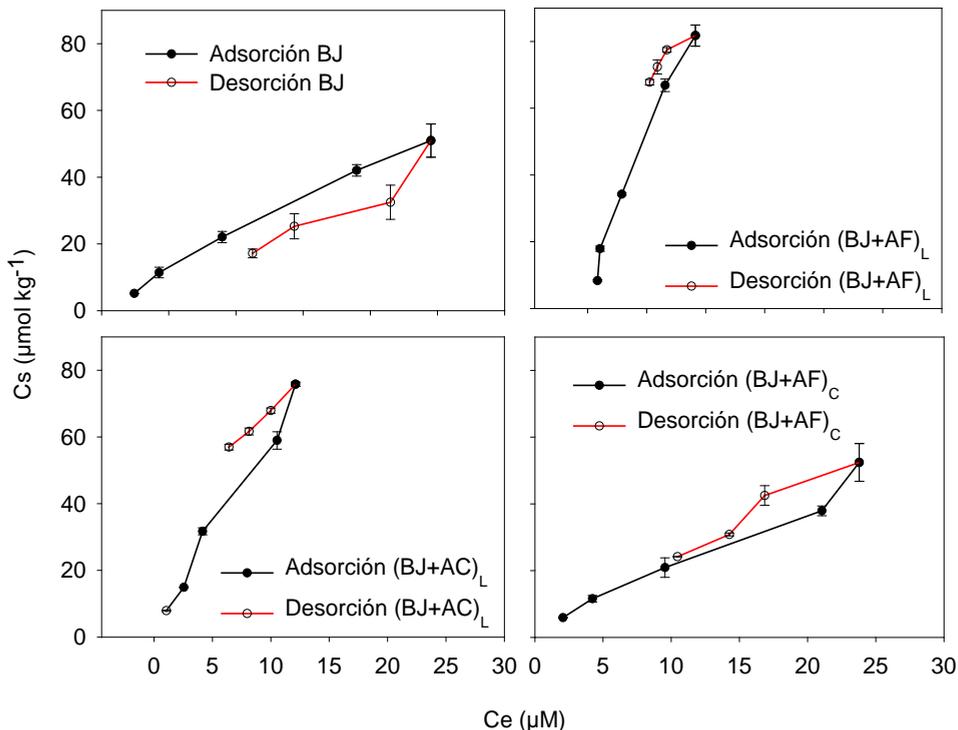


Figura 4.8. Isothermas de adsorción-desorción de terbutilazina aplicado con diurón en el suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo.

4.1.3 MCPA

4.1.3 a) Isothermas de adsorción

La Figura 4.9 muestra la representación de las isothermas de adsorción de MCPA en los suelos seleccionados para el estudio. Las isothermas de adsorción de MCPA en los suelos estudiados son de tipo L según la clasificación de Giles et al. (1960) que se caracteriza por una disminución en los sitios de adsorción a medida que aumenta la concentración. Sólo para el suelo

BJ enmendado en el laboratorio con alperujo compostado (BJ+AC)_L, la isoterma es de tipo C. En este caso la curva es lineal y el soluto penetra en el sólido con más facilidad que el disolvente. En general el ajuste lineal a la ecuación de Freundlich es muy bueno ($R^2 = 0.962 - 0.999$). Los valores de los parámetros de adsorción se muestran en la Tabla 4.9.

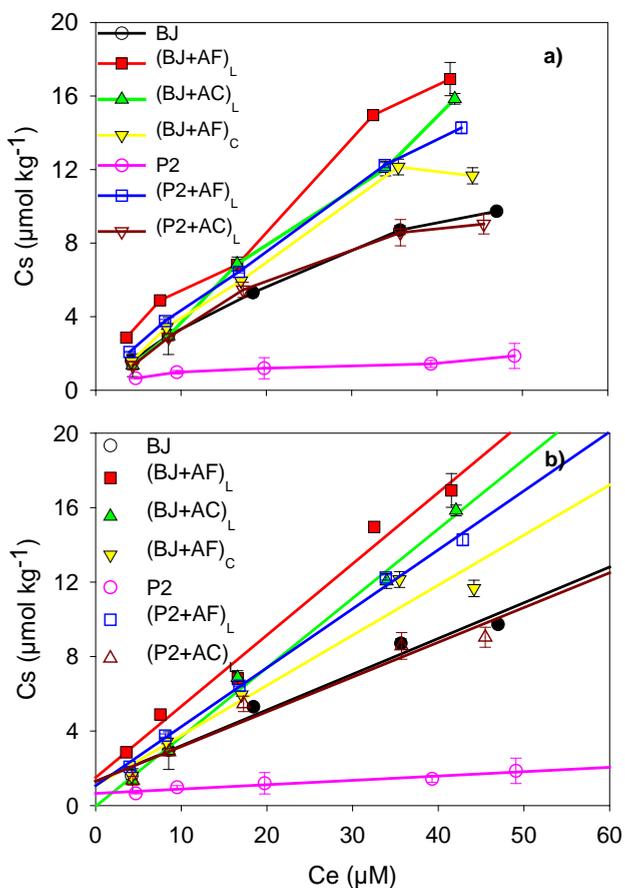


Figura 4.9 a) Isotermas de adsorción de MCPA en los suelos sin enmendar y enmendados con alperujo. b) Ajuste lineal de las isotermas de adsorción de MCPA en los mismos suelos.

Tabla 4.9. Parámetros de Freundlich de adsorción de MCPA y valores de K_{oc} .

Suelo	$K_{f\ ads}$	$1/n_{f\ ads}$	R^2	K_{oc}
BJ	0.57 (0.52-0.62)*	$0.755 \pm 0.029^{**}$	0.9956	53.0 (48.7-57.7)*
(BJ+AF) _L	1.08 (0.90-1.30)	0.728 ± 0.066	0.9760	43.7 (36.3-52.6)
(BJ+AC) _L	0.30 (0.26-0.35)	1.066 ± 0.049	0.9937	11.5 (10.0-13.2)
(BJ+AF) _C	0.49 (0.41-0.59)	0.870 ± 0.062	0.9850	30.1 (25.2-36.1)
P2	0.37 (0.32-0.42)	0.398 ± 0.046	0.9615	101 (87.6-115)
(P2+AF) _L	0.68 (0.65-0.71)	0.813 ± 0.016	0.9989	65.9 (63.0-68.9)
(P2+AC) _L	0.46 (0.37-0.57)	0.813 ± 0.074	0.9755	26.1 (21.1-32.5)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

Cuando se compara la adsorción de los distintos herbicidas en los suelos sin enmienda, se observa que la mayor adsorción, tanto en el suelo BJ como en el suelo P2, corresponde al herbicida diurón, seguido de terbutilazina, resultando ser MCPA el herbicida menos adsorbido en los suelos estudiados. MCPA es el herbicida con mayor carácter polar, tiene el coeficiente de reparto octanol-agua más bajo, con lo cual es de esperar menor adsorción, ya que existe una relación entre K_{oc} y K_{ow} (Liu y Qian, 1995; Wauchope et al., 2002; Delgado Moreno et al., 2007). Los herbicidas que son ácidos débiles, como es MCPA, se adsorben menos que los herbicidas no iónicos o que son bases débiles, lo cual está estrechamente relacionado además de con la repulsión de cargas negativas entre el plaguicida y las superficies adsorbentes, con la hidrofobicidad de los herbicidas (Hiller et al., 2008). Estos autores también observaron menor adsorción de los herbicidas ácidos, en comparación con los básicos y no iónicos cuando el pH del suelo era neutro, lo cual lo atribuyeron a la repulsión de las moléculas del herbicida aniónico y la M.O. y minerales del suelo cargados

negativamente. También Igualmente Kah y Brown (2007) observaron menor adsorción de herbicidas ácidos que básicos en 9 suelos distintos y concluyeron que la adsorción de los plaguicidas ionizables, como es el caso de MCPA tiende a ser más fuerte en suelos con valores bajos de pH y con elevado contenido en C.O., situación contraria a la de nuestros suelos (Tabla 3.1). Sin embargo, Haberhauer et al. (2001) en un estudio sobre el efecto del origen y cantidad de M.O. en la adsorción de MCPA, en el que aplicaron diversas enmiendas (abono mineral, abono animal, abono vegetal, turba y lodos de depuradora) a un suelo, informaron de que un aumento en el contenido en carbono del suelo no implica necesariamente un aumento en la adsorción de MCPA y que el número de sitios de adsorción para el herbicida y el contenido en materia orgánica dependen del origen del material de enmienda orgánica.

La adsorción de MCPA tan sólo aumenta cuando los suelos BJ y P2 se enmiendan con alperujo fresco en el laboratorio. Sin embargo, cuando la enmienda que se aplica es alperujo compostado o se enmienda el suelo en el campo, no hay diferencias significativas en los valores de $K_{f\ ads}$ e incluso disminuyen estos valores respecto a los valores de $K_{f\ ads}$ de los suelos sin enmienda (Tabla 4.9), aunque los valores de $1/n_f$ son más altos en estos suelos que en el suelo no enmendado y en el suelo enmendado con alperujo fresco en el laboratorio. Haberhauer et al. (2001) tampoco observaron aumento en los valores de $K_{f\ ads}$ de MCPA en un suelo enmendado con abono vegetal, fertilizante mineral no nitrogenado y suelo no enmendado y en barbecho, pese al aumento de C.O. respecto al suelo no enmendado, atribuyendo al origen del material de enmienda responsable de este comportamiento.

Cuando los coeficientes $K_{f\ ads}$ se expresan en función del contenido en C.O. de los suelos, se observa una menor adsorción de MCPA en el suelo BJ enmendado con alperujo compostado (BJ+AC)_L que en el suelo original (Tabla 4.9). El mismo comportamiento lo observamos en el suelo arenoso P2: se observa un menor valor en el coeficiente K_{oc} en los suelos enmendados, tanto con alperujo fresco como con el compostado. Socías Vicianá et al. (1999) también obtuvieron una disminución en los valores de K_{oc} de MCPA en suelos enmendados con dos dosis de turba en comparación con el suelo no enmendado. No obstante, al igual que demuestran los estudios de Kah y Brown (2007), la aproximación de K_{oc} no es correcta para los plaguicidas ionizables debido a la alta variabilidad que se observa en los distintos suelos.

4.1.3 b) Estudios de desorción

En la Figura 4.10 se han representado las isotermas de adsorción-desorción de MCPA en los suelos sin enmendar y enmendados. Los valores de $1/n_{f\ des}$ son menores que los valores de $1/n_{f\ ads}$ (Tabla 4.10), lo cual indica que se produce el fenómeno de histéresis en el proceso de adsorción-desorción de MCPA, también observado por Haberhauer et al. (2001) y Jensen et al (2004). La relación más baja entre los coeficientes de adsorción y desorción ($K_{f\ ads}/K_{f\ des}$) corresponde al suelo BJ enmendado con alperujo compostado en el laboratorio y con alperujo fresco en el campo, según Haberhauer et al. (2001) puede deberse a que tengan más sitios enlazantes polares y electrostáticos. Los bajos coeficientes de ajuste de los suelos sin enmendar (BJ y P2) hacen difícil observar una tendencia clara en lo que respecta al efecto que la enmienda ejerce en la desorción de MCPA.

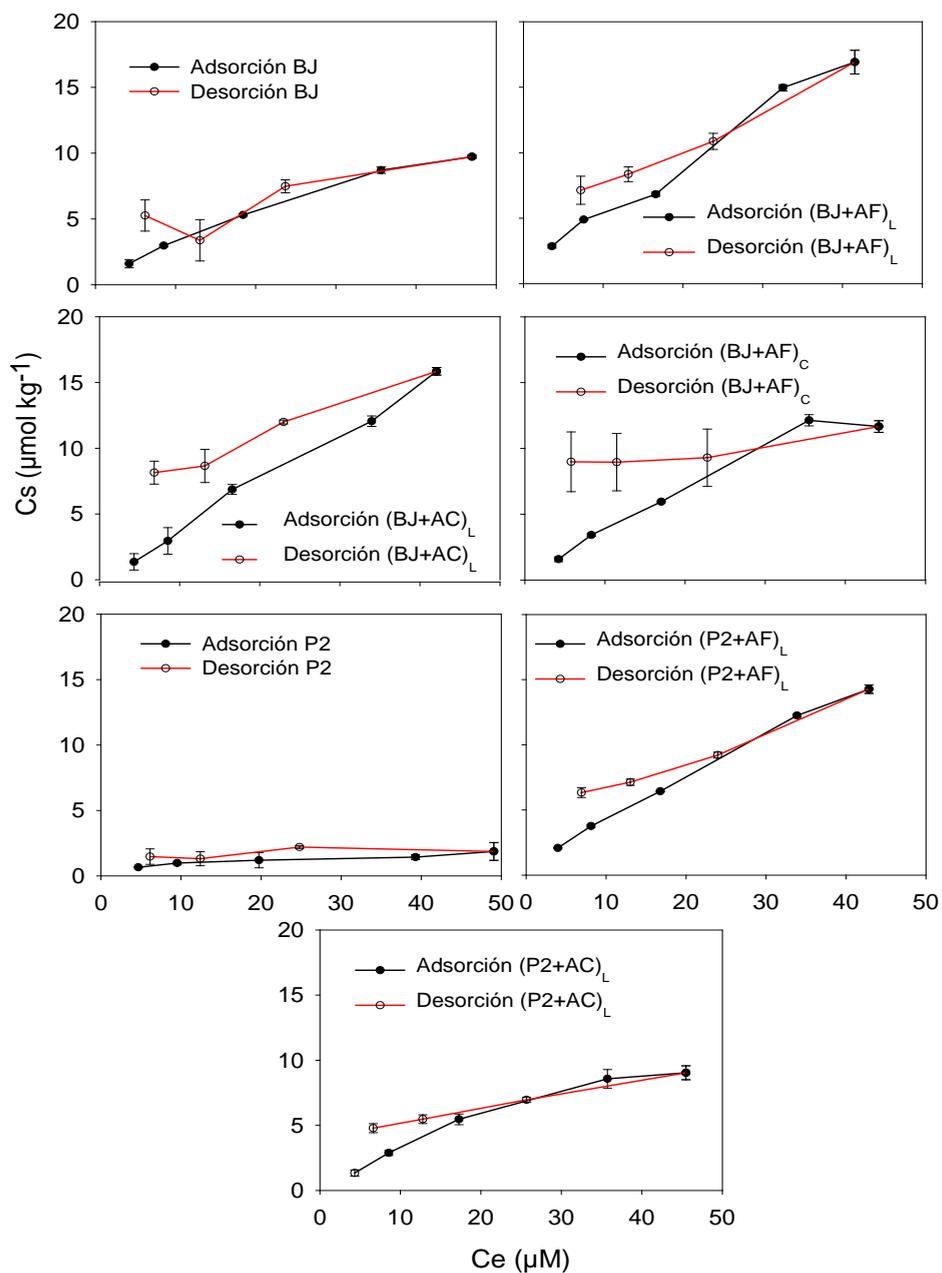


Figura 4.10. Isothermas de adsorción-desorción de MCPA en los suelos originales y enmendados.

Tabla 4.10. Parámetros de Freundlich de desorción de MCPA y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\text{des}}$	$1/n_{f\text{des}}$	R^2	%H	%D
BJ	2.02 (0.93-4.38)*	$0.381 \pm 0.262^{**}$	0.5134	50.44	45.91
(BJ+AF) _L	2.55 (2.00-3.26)	0.485 ± 0.084	0.9441	66.67	57.85
(BJ+AC) _L	3.61 (2.90-4.51)	0.384 ± 0.076	0.9274	35.98	48.63
(BJ+AF) _C	6.92 (5.88-8.15)	0.120 ± 0.057	0.6930	13.81	22.97
P2	1.01 (0.68-1.51)	0.177 ± 0.135	0.4603	44.41	20.99
(P2+AF) _L	2.49 (1.92-3.23)	0.441 ± 0.089	0.9248	54.20	55.66
(P2+AC) _L	2.46 (2.20-2.76)	0.330 ± 0.038	0.9745	40.63	47.09

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

4.1.4 Amitrol

4.1.4 a) Isotermas de adsorción

Las isotermas de adsorción de amitrol en el suelo de Jaén, sin enmendar y enmendado con alperujo se muestran en la Figura 4.11 y los parámetros de Freundlich de adsorción en la Tabla 4.11. Los valores de $1/n_{f\text{ads}}$ son similares para los suelos BJ y (BJ+AC)_L, sin embargo en el suelo (BJ+AF)_L el valor de $1/n_{f\text{ads}}$ es 3 veces superior, por lo que no se pueden comparar los datos de $K_{f\text{ads}}$. Cabe destacar que en el caso de amitrol el ajuste a la ecuación de Freundlich no fue muy bueno en el caso de (BJ+AF)_L ($R^2 = 0.883$) (Tabla 4.11). En los suelos BJ y (BJ+AC)_L puede observarse mayor adsorción de amitrol en el suelo enmendado con alperujo compostado que en el suelo sin enmendar, tanto por los valores de K_f , como por los de K_{oc} . En el suelo (BJ+AC)_L la adsorción es más de diez veces superior a la del suelo sin enmendar. Los valores de K_{oc} son

muy superiores en el caso del suelo enmendado con alperujo compostado, indicando la importancia de la materia orgánica exógena en la adsorción de amitrol y las limitaciones del uso del coeficiente de adsorción expresado en función del carbono orgánico (K_{oc}). Llama la atención que este es el único herbicida de los estudiados que se adsorbe más al suelo enmendado con alperujo compostado que al suelo enmendado con alperujo fresco y revela la complejidad de los mecanismos implicados.

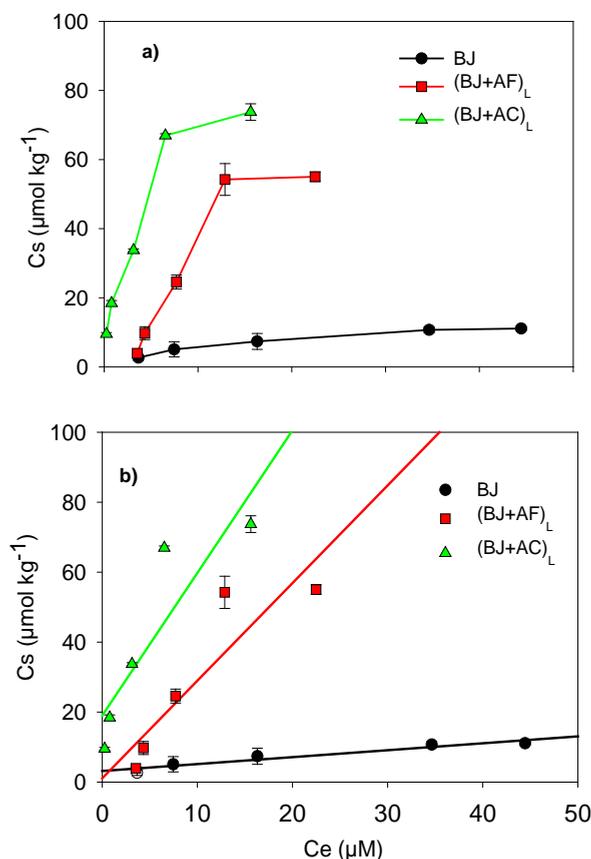


Figura 4.11. a) Isotermas de adsorción de amitrol en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo fresco y compostado. b) Ajuste lineal de los datos obtenidos de las isotermas de adsorción de amitrol.

Amitrol puede protonarse en disoluciones acuosas en función del pH. Morillo et al. (1991) estudiaron las interacciones de amitrol con montmorillonita y observaron que amitrol se adsorbe tanto en forma catiónica como en forma molecular a la montmorillonita cuando la arcilla está saturada con cationes con bajo poder polarizante (Na^+ , Li^+). Cuando la arcilla se satura con cationes altamente polarizantes, como Fe^{3+} , todo el herbicida se adsorbe fuertemente como forma catiónica, siendo esta adsorción altamente irreversible.

Tabla 4.11. Parámetros de Freundlich de adsorción de amitrol y valores de K_{oc} .

Suelo	$K_{f\ ads}$	$1/n_{f\ ads}$	R^2	K_{oc}
BJ	1.46 (1.25-1.72)*	$0.558 \pm 0.056^{**}$	0.9704	137 (117-161)*
(BJ+AF) _L	1.04 (0.54-1.99)	1.404 ± 0.295	0.8830	42 (22-80)
(BJ+AC) _L	20.23 (18.64-21.95)	0.519 ± 0.048	0.9747	773 (713-839)

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

Al comparar la adsorción de los cuatro herbicidas estudiados en el suelo BJ, podemos observar la tendencia de mayor a menor adsorción de diurón > terbutilazina > amitrol > MCPA. Amitrol tiene menor coeficiente de reparto octanol-agua que MCPA ($\log P = -0.97$ y -0.71 respectivamente), sin embargo como hemos comentado anteriormente los compuestos con carácter ácido, como es MCPA se adsorben menos que los que son bases débiles como es el caso de amitrol. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sakaliene et al. (2007), que estudiaron la adsorción de ocho herbicidas en siete suelos distintos y la tendencia de adsorción que obtuvieron se correspondía con la tendencia en el coeficiente de reparto octanol-agua, excepto para el herbicida amitrol.

4.1.4 b) Estudios de desorción

Los parámetros de desorción de amitrol en los suelos BJ y (BJ+AC)_L se muestran en la Tabla 4.12 y las isothermas se representan en la Figura 4.12. En el suelo (BJ+AF)_L también se estudió la desorción de amitrol, pero debido al bajo coeficiente de regresión del ajuste lineal a la ecuación de Freundlich obtenido ($R^2 < 0.01$), se ha optado por no considerar los parámetros de desorción de amitrol en este suelo enmendado. Los datos de desorción de amitrol en los suelos BJ y (BJ+AC)_L tampoco presentan un ajuste óptimo a la ecuación de Freundlich ($R^2 = 0.137$ y 0.443 respectivamente), pero en la representación de las isothermas de desorción (Figura 4.12) puede observarse muy baja desorción de amitrol. El proceso de adsorción-desorción de amitrol en estos suelos es altamente irreversible, especialmente en el suelo enmendado y el porcentaje de amitrol desorbido es muy bajo (Tabla 4.12).

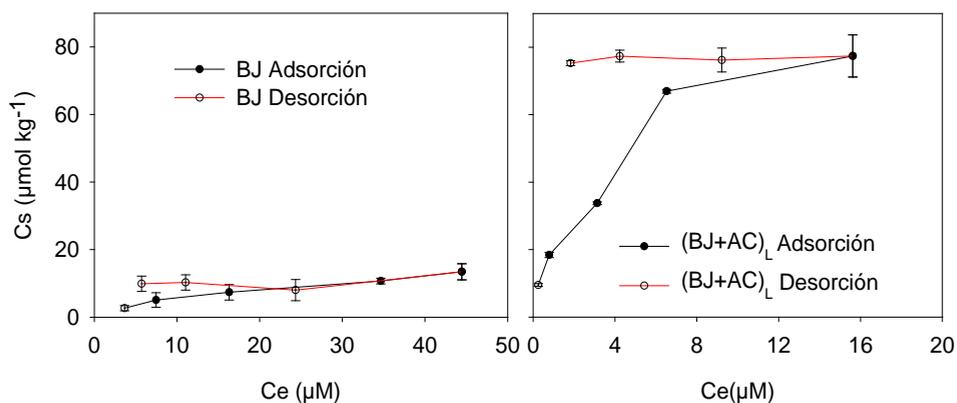


Figura 4.12. Isothermas de adsorción-desorción de amitrol en el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo compostado.

Tabla 4.12. Parámetros de Freundlich de desorción de amitrol y porcentajes de histéresis y de desorción.

Suelo	$K_{f\ des}$	$1/n_{f\ des}$	R^2	%H	% D
BJ	8.02 (5.13-12.56)*	$0.087 \pm 0.155^{**}$	0.1372	15.68	26.47
(BJ+AC) _L	75.33 (74.24-76.45)	0.010 ± 0.008	0.4431	1.85	2.78

* Números entre paréntesis son desviaciones estándar respecto a la media

** Los números son medias de $1/n_f \pm$ desviación estándar

4.2 Estudios de disipación

Se ha estudiado la evolución en el tiempo de los herbicidas diurón, terbutilazina, MCPA y amitrol en los suelos sin enmienda y en los mismos suelos enmendados con alperujo, por medio de incubaciones del suelo a 20°C y con un contenido en humedad de 40% de la capacidad máxima de retención de agua del suelo.

4.2.1 Diurón

La Figura 4.13 muestra las curvas de disipación de diurón, en los suelos recogidos en el año 2005. El estudio de disipación de diurón se llevó a cabo durante 31-33 días. Las curvas de disipación se ajustaron a una cinética de primer orden y del ajuste lineal se calcularon los tiempos de vida media de diurón en los suelos originales y en los suelos enmendados (Tabla 4.13).

Tabla 4.13. Vida media de diuron en los suelos originales y enmendados y cuadrado del coeficiente de regresión del ajuste lineal de una cinética de 1^{er} orden realizado en Octubre de 2005.

Suelo	t_{1/2} (días)	R²
BJ	61.5 (54.6-70.4)	0.9547
(BJ+AF) _L	100 (77.7-140)	0.7541
(BJ+AC) _L	155 (112-252)	0.6296
(BJ+AF) _C	61.9 (56.8-67.9)	0.9694
P2	23.96 (22.41-25.74)	0.9812
(P2+AF) _L	226 (159-388)	0.5880

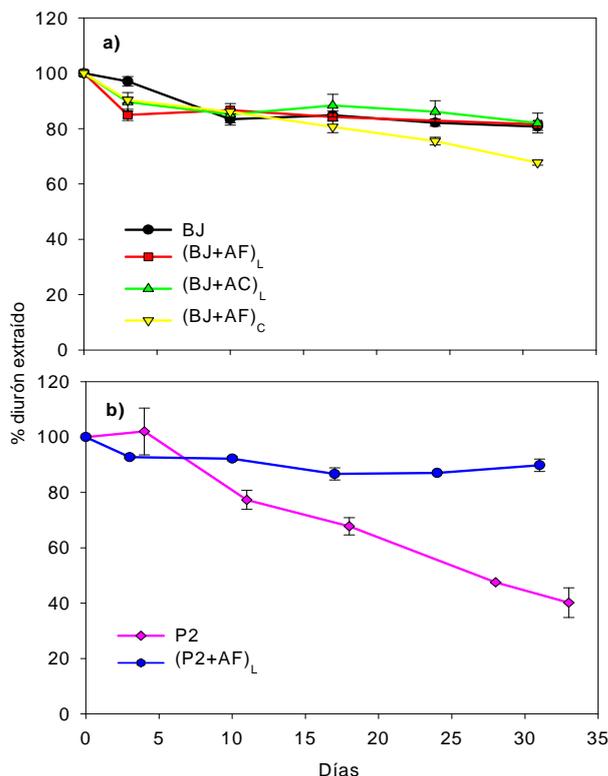


Figura 4.13. Representación de los porcentajes de diurón extraídos respecto al aplicado inicialmente en el estudio de disipación realizado en Octubre de 2005. a) Suelo BJ no enmendado y enmendado b) Suelo P2 no enmendado y enmendado.

Los valores de vida media para diurón en los suelos estudiados han oscilado entre 24 días en el suelo P2 y 226 días en el suelo P2 enmendado con alperujo en el laboratorio $(P2+AF)_L$ (Tabla 4.13). Según Tomlin (2007-08) la vida media de diurón varía entre 90 y 180 días y Wauchope et al. (1992) daban un valor medio de 90 días, oscilando entre 30 y 328 días. La menor persistencia de diurón se ha obtenido en el suelo P2, suelo donde el herbicida presentaba menor adsorción, pues se trata de un suelo con un alto contenido en arena y bajo

contenido en M.O. De acuerdo con Walker y Jurado-Expósito (1998) la persistencia de diurón en el suelo se relaciona fundamentalmente con una combinación de tres propiedades: estabilidad química, baja solubilidad en agua y fuerte adsorción a las partículas del suelo. Los herbicidas del grupo de las fenilureas tras ser aplicados a suelos o campos agrícolas sufren principalmente degradación microbológica (Sorensen et al., 2003; Giacomazzi y Cochet, 2004), como se ha demostrado por estudios de desorción o de degradación de estos herbicidas en suelos esterilizados y no esterilizados (Berger, 1999; Barra Caracciolo et al., 2005). En menor medida diurón puede sufrir hidrólisis y fotodegradación, actuando el suelo como un eficiente catalizador de la degradación abiótica de diurón (Salvestrini et al., 2004). La degradación de diurón, como de otros herbicidas tipo fenilureas, se ha visto que puede ser lenta (Cox et al. 1996c; Madhun y Freed, 1987).

En el suelo BJ aumenta la persistencia de diurón respecto al suelo P2. En este suelo, la vida media es ligeramente superior en los suelos enmendados en el laboratorio, si bien hay que tener en cuenta que los coeficientes de ajuste son muy bajos para $(BJ+AF)_L$ y $(BJ+AC)_L$ (Tabla 4.13). En el caso del suelo enmendado en el campo no encontramos diferencias significativas con el suelo original BJ. Por el contrario, en el suelo arenoso P2 sí se ve claramente que hay una mayor persistencia de diurón en el suelo enmendado con alperujo: la vida media es casi diez veces mayor (Figura 4.13 b y Tabla 4.13). Estos resultados coinciden con los de Yang et al. (2006), los cuales observaron una degradación más lenta de diurón en un suelo enmendado con cenizas de restos vegetales que en el suelo no enmendado, y concluyeron que la biodegradación de diurón disminuye porque el aumento de la adsorción producido por las cenizas vegetales da lugar a una disminución de la concentración de diurón en la

disolución del suelo, hecho que también ha sido señalado por otros autores (Madhun et al., 1986).

4.2.2 Terbutilazina

Las curvas de disipación de terbutilazina en los suelos estudiados en Octubre de 2005 se han representado en la Figura 4.14 y los valores de vida media obtenidos se muestran en la Tabla 4.14. El estudio de disipación tuvo una duración de 31-32 días. En el caso de terbutilazina, los procesos de degradación, especialmente microbiológicos son más importantes que en el caso de diurón, (Tomlin, 2008). Terbutilazina en el suelo sufre degradación microbiana y la vida media es de 30-60 días (Tomlin, 2008). Mientras, diurón ejerce un efecto tóxico en la población microbiana de los suelos, retrasando e inhibiendo el metabolismo de los microorganismos del suelo (Prado y Airoidi, 2001b), según Accinelli et al. (2002) el empleo de terbutilazina a la dosis de uso agrícola no tiene efecto negativo sobre la población microbiana, e incluso formulaciones con concentraciones relativas de ingrediente activo más bajas producían un aumento significativo en la actividad microbiana del suelo.

Tabla 4.14. Vida media de terbutilazina en los suelos originales y enmendados estudiados, realizado el estudio en Octubre de 2005.

Suelo	$t_{1/2}$ (días)	R^2
BJ	34.3 (30.7-38.9)	0.9472
(BJ+AF) _L	109 (93.5-132)	0.9204
(BJ+AC) _L	88.4 (75.1-108)	0.8878
(BJ+AF) _C	50.8 (48.2-53.7)	0.9884
P2	110 (103-118)	0.9810
(P2+AF) _L	87.1 (79.1-97.0)	0.9600

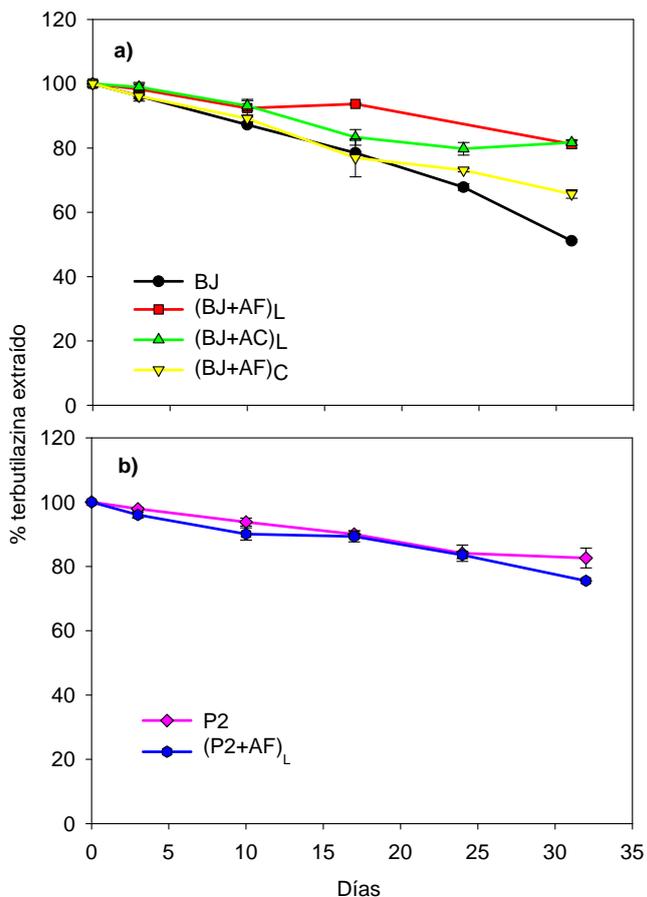


Figura 4.14. Representación del porcentaje de terbutilazina extraído en los estudios de disipación. a) En el suelo BJ no enmendado y enmendado. b) en el suelo P2 sin enmendar y con enmienda.

El ajuste de las curvas de disipación a una cinética de primer orden es bastante mejor para terbutilazina que para diurón (Tabla 4.14). Aquí vemos claramente como la aplicación de alperujo, tanto fresco como compostado al suelo BJ en el laboratorio y en el campo aumenta la persistencia de terbutilazina

en el suelo respecto al suelo sin enmienda, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Dolaptsoglou et al. (2007) y Albarrán et al. 2003 y 2004. Dolaptsoglou et al. (2007) obtuvieron un aumento en la vida media de terbutilazina en un suelo enmendado con compost de residuos de aves de corral y el aumento era aún mayor si la enmienda del suelo se hacía con lodos de depuradoras urbanas. Albarrán et al. (2003, 2004) encontraron una mayor persistencia de simazina en suelos enmendados con alperujo y con alperujo extractado respecto al suelo sin enmendar. Ellos atribuyeron la disminución de la degradación del herbicida en los suelos enmendados a un posible efecto tóxico de las enmiendas sobre la población microbiana del suelo, o a una disminución de la disponibilidad de simazina a los microorganismos del suelo, por el aumento de la adsorción a la materia orgánica proporcionada por las enmiendas. En el caso del suelo P2, a pesar del gran aumento en la adsorción tras la enmienda (K_f de 1.3 a 17; Tabla 4.5) la disipación de terbutilazina no se ve afectada por la adición de alperujo. Por el contrario a lo que ocurría con diurón, terbutilazina es muy estable tanto en el suelo P2 como en el suelo P2 enmendado con alperujo ($P2+AF$)_L (Figura 4.14 b), siendo la vida media ligeramente inferior en el suelo enmendado (Tabla 4.14). Navarro et al. (2003) estudiaron la persistencia de los herbicidas simazina y terbutilazina en un suelo franco arcilloso tras la adición de lodos urbanos de depuradoras. Para terbutilazina obtuvieron mayor persistencia del herbicida en el suelo enmendado que en el control tras los 140 días que duró el estudio. Sin embargo, la disipación de terbutilazina en una primera fase fue más rápida en el suelo enmendado que en el no enmendado, siendo la vida media de terbutilazina menor en el suelo enmendado que en el control tras 34 días de incubación, tiempo similar a la duración de nuestro estudio. Estos autores atribuyeron la más rápida disipación de terbutilazina en el suelo enmendado a una mayor

actividad microbiana en la primera fase, mientras que en la segunda fase se produciría un aumento de la adsorción y una disminución de la actividad microbiana.

4.2.3 Estudios de mineralización de diurón y terbutilazina

4.2.3 a) *Diurón*

En la Figura 4.15 se muestran las gráficas de porcentajes acumulados de diurón mineralizado, tras 20 semanas de estudio, en el suelo original BJ y enmendado con alperujo fresco en el laboratorio. Transcurrido el tiempo de estudio, se observó mayor porcentaje de diurón mineralizado en el suelo sin enmienda que en el suelo enmendado: en el suelo BJ la mineralización de diurón fue de 31.3% respecto a la cantidad inicialmente aplicada (Tabla 4.15), mientras que en el suelo enmendado con alperujo en el laboratorio (BJ+AF) el porcentaje de diurón mineralizado descendió a 19%. Llama la atención que inicialmente la mineralización es más rápida en el suelo enmendado, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos por Navarro et al. (2003) con herbicidas del grupo de las triazinas, atribuyendo esta mineralización inicial más rápida a una mayor población microbiana capaz de utilizar al herbicida.

En las curvas acumulativas de mineralización de diurón (Figura 4.15) se observa una primera parte cóncava, como obtuvo Piutti et al. (2002), lo cual indica una activación o enriquecimiento de la microflora responsable de la degradación del herbicida. A diferencia de los resultados de este autor, a partir de los 90-110 días desde el inicio del estudio, la curva pasa a ser convexa. Los herbicidas tipo fenilurea, entre los que se encuentra diurón, se caracterizan por sufrir una lenta biodegradación natural en suelos agrícolas (Sorensen et al.,

2003). No obstante, Cullington y Walker (1999) observaron un aumento en la velocidad de degradación de diurón tras un periodo de 29-43 días de lenta biodegradación en uno de los diez suelos muestreados de la misma parcela. Los autores consideraron este aumento de biodegradación como una curiosidad, y no determinaron si se debió a un hecho fortuito o si los microorganismos responsables de la degradación de diurón se encontraban en muy baja densidad en las muestras de suelo donde no se observó aumento de la biodegradación. Gan et al. (1998) estudiaron el efecto de la adición de enmiendas orgánicas a suelos en la degradación de bromuro de metilo y de metil isotiocianato, y por el contrario a lo observado por nosotros, observaron un aumento de la degradación de los plaguicidas con la adición de enmienda al suelo y un gran aumento en la velocidad de respiración del suelo justo después de la adición de la enmienda, lo que atribuyeron a que la enmienda podía haber aportado un gran número de microorganismos al suelo capaces de degradar a los plaguicidas, o bien, haber aportado nutrientes que los microorganismos autóctonos del suelo podían utilizar.

Tabla 4.15. Porcentaje de ^{14}C diurón mineralizado, tras 20 semanas desde su aplicación al suelo, extraído tras el estudio de mineralización y determinado por oxidación del suelo, así como diurón total y principales metabolitos analizados por HPLC. La cantidad de diurón inicialmente aplicada fue de $75 \mu\text{g g}^{-1}$.

	BJ	(BJ+AF)_L
^{14}C mineralizado (%)	31.34 ± 1.05	19.20 ± 2.96
^{14}C extraído (%)	5.61 ± 0.28	9.30 ± 2.39
^{14}C oxidado (%)	48.84 ± 3.26	51.79 ± 4.31
^{14}C total recuperado (%)	85.79	80.29
DCPU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	--	0.06 ± 0.01
DCPMU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1.04 ± 0.66	2.98 ± 1.32
Diurón ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2.73 ± 1.10	1.97 ± 1.11

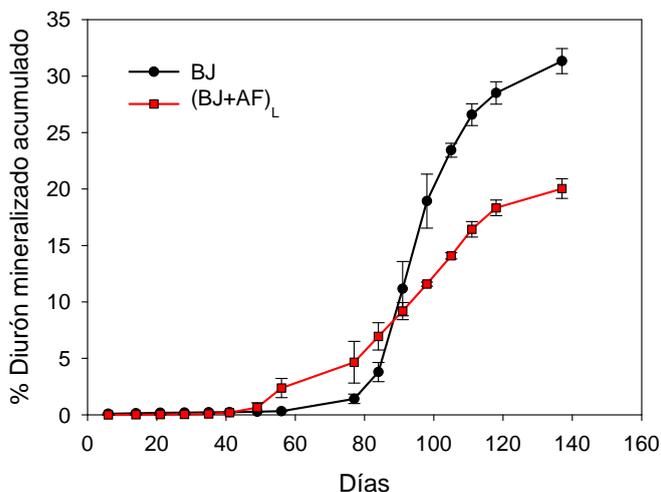


Figura 4.15. Porcentaje acumulado de diurón mineralizado, respecto a la cantidad inicialmente aplicada, tras 20 semanas de estudio.

Una vez finalizado el estudio de mineralización se realizó la extracción de herbicida tanto marcado con ^{14}C como no marcado. Del extracto se tomó 1 mL que se midió en el contador de centelleo y una alícuota que se analizó en el HPLC. También se midieron los principales metabolitos de diurón: $\text{N}'\text{-(3,4-diclorofenil)-N,N}$ -metilurea (DCPMU) y $\text{N}'\text{-(3,4-diclorofenil)urea}$ (DCPU) por HPLC (Goody et al., 2002). En la Tabla 4.15 se muestran los valores de ^{14}C medidos tras la extracción con metanol. Se puede observar que los porcentajes de diurón extraídos son relativamente bajos.

Tras la extracción del herbicida marcado, se realizó la combustión del suelo, para obtener la cantidad de ^{14}C -diurón y/o metabolitos que queda fuertemente retenido a los componentes del suelo y no se puede extraer con disolvente orgánico. En ambos suelos, se obtuvieron porcentajes similares de ^{14}C oxidado, próximos a un 50% respecto al inicialmente aplicado (Tabla 4.15).

La cantidad de ^{14}C recuperada (mineralizada + extraída + combustión) es superior al 80%. De acuerdo con los datos recogidos por Barriuso et al. (2008) la formación de residuos no extraíbles (bound residues) depende de dónde se encuentre el ^{14}C marcado. Si se encuentra en un fragmento lábil de la molécula, se favorece el proceso de mineralización y la cantidad de residuo no extraíble formado es menor que si el ^{14}C marcado se encuentra en un grupo funcional estable de la molécula, como sucede en nuestro caso, que el ^{14}C marcado se encuentra en el anillo fenilo de la molécula de herbicida. Estos autores también han revisado el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas en la formación de residuos no extraíbles, afirmando que el aumento de la M.O. conduce a un aumento en la formación de los mismos como observaron Barriuso et al. (1997) para atrazina, simazina y terbutrina con la aplicación de compost de residuos urbanos. En nuestro caso, la aplicación de enmienda no parece afectar a la formación de residuos no extraíbles de diurón, y nuestros resultados coinciden con los obtenidos por estos mismos autores para los herbicidas pendimetalina, carbetamida, 2,4-D y metsulfurón-metilo.

Mourdaunt et al. (2005) estudiaron la formación de residuos no extraíbles en 6 plaguicidas, siendo uno de ellos isoproturón, que pertenece a la familia de las fenilureas. Tras 91 días de incubación la cantidad total de isoproturón extraído con distintos disolventes fue de un 15% del inicialmente aplicado, se mineralizó a CO_2 un 25% y un 65% se obtuvo tras la combustión como residuo no extraíble. Estos resultados no difieren mucho de los obtenidos por nosotros para diurón, considerando las diferencias en las condiciones y duración del estudio, propiedades de los suelos y de los herbicidas.

Del análisis del extracto por HPLC, se cuantificaron los metabolitos DCPMU y DCPU, además del compuesto parental diurón. DCPU sólo se detectó en el suelo enmendado con alperujo fresco en el laboratorio y en cantidades muy pequeñas. DCPMU se detectó en los extractos de todas las muestras de suelo (Tabla 4.15). Respecto a diurón, se detectó en todos los extractos. Se extrajo una mayor cantidad de diurón en el suelo BJ sin enmendado que en el mismo suelo enmendado con alperujo en el laboratorio (BJ+AF)_L.

4.2.3 b) Terbutilazina

Los porcentajes acumulativos de terbutilazina mineralizado se representan en la Figura 4.16 y los resultados de mineralización de terbutilazina obtenidos se muestran en la Tabla 4.16. Al igual que en el caso del herbicida diurón, se observa un mayor porcentaje de terbutilazina mineralizado en el suelo BJ sin enmendar que en el suelo enmendado. Albarrán et al. (2003, 2004) también obtuvieron una disminución en la mineralización de simazina, herbicida del grupo de las triazinas al que también pertenece terbutilazina, en un suelo enmendado con distintos residuos de almazara respecto al suelo sin enmendar, y consideraron que la disminución de la disponibilidad del herbicida a los microorganismos del suelo podría deberse a la adsorción de simazina a la materia orgánica de la enmienda, a un posible efecto tóxico de la enmienda sobre la población microbiana del suelo, o bien a que los microorganismos del suelo enmendado podrían haber usado preferentemente la materia orgánica de la enmienda como fuente de C y de N, en vez de utilizar a simazina como fuente de esos elementos. Houot et al. (1998) también estudiaron el efecto de la adición de enmiendas orgánicas, en concreto compost de residuos urbanos y de

paja compostada, en la degradación de atrazina. En el caso del compost de residuos sólidos urbanos la adsorción de atrazina aumentaba, como aumenta en nuestro caso la adsorción de terbutilazina cuando el suelo BJ se enmienda con alperujo fresco en el laboratorio (Tabla 4.5), disminuyendo la disponibilidad de atrazina para ser degradada.

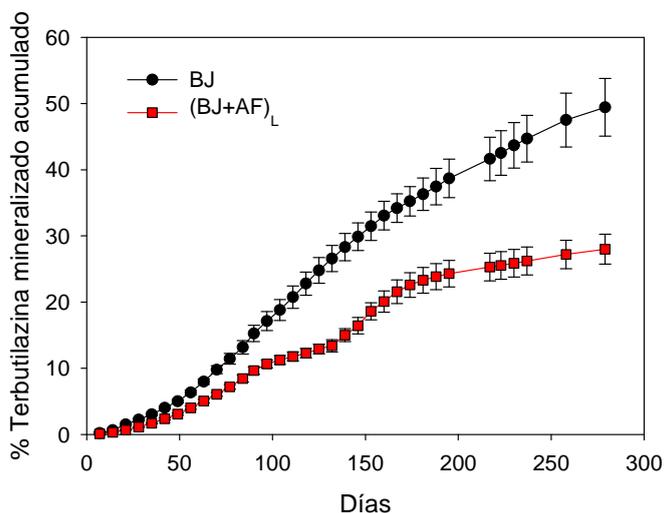


Figura 4.16. Porcentaje acumulado de terbutilazina mineralizado en el suelo original y enmendado, tras 40 semanas de estudio.

Finalizado el estudio de mineralización se realizó la extracción de terbutilazina, como se hizo para diurón. En la Tabla 4.16 se muestran los valores de ^{14}C terbutilazina extraídos de los distintos suelos una vez finalizado el estudio de mineralización, expresados en porcentajes respecto a la cantidad inicial de herbicida marcado aplicado al comienzo del estudio. Puede observarse que en el suelo BJ enmendado en el laboratorio con alperujo fresco (BJ+AF)_L se extrae mayor cantidad de herbicida marcado que en el mismo suelo sin

enmendar (BJ), lo cual estaría de acuerdo con su mayor adsorción al suelo y su mayor persistencia (Tabla 4.5 y Tabla 4.14).

Respecto a la cantidad de herbicida extraído, cuando los extractos se analizaron por HPLC no se detectó terbutilazina ni en el suelo enmendado, ni en el suelo sin enmendar. Es decir, todo el ^{14}C corresponde a metabolitos de terbutilazina, debido probablemente a la degradación del herbicida.

Tras la mineralización y la extracción de ^{14}C se realizó la combustión de las muestras de suelo y se obtuvo un porcentaje de ^{14}C oxidado ligeramente superior en el suelo BJ sin enmendar (45%) que en el suelo enmendado con alperujo (BJ+AF)_L (34%). En el estudio de Mourdant et al. (2005) sobre formación de residuos no extraíbles de 6 herbicidas, tras 91 días de incubación obtuvieron un elevado porcentaje de atrazina (70 %) extraíble con distintos disolventes acuosos y orgánicos. Sólo se mineralizó un 2.4% del total de atrazina aplicada y se obtuvo por combustión un 26%. Respecto a la adición de enmienda, en nuestro caso disminuye el porcentaje de herbicida mineralizado y no extraíble con disolvente (Tabla 4.16) que no coincide totalmente con los resultados de Barriuso et al. (1997) para tres herbicidas del grupo de las triazinas. Estos autores también obtuvieron una disminución en la mineralización de los herbicidas cuando se aplicaban residuos urbanos compostados. Sin embargo, la formación de residuos no extraíbles aumentaba con la adición de la enmienda para las triazinas, disminuyendo en el caso del herbicida dimefurón, argumentando que este herbicida podría sufrir una degradación específica por la microflora de la enmienda, liberándose metabolitos menos degradables o protegidos de la degradación por la presencia del compost. Estos metabolitos presentarían menor tendencia a formar residuos

no extraíbles que el propio herbicida. La formación de residuos no extraíbles está relacionada con la actividad biológica y con la biotransformación de los herbicidas (Barriuso et al., 1997). El porcentaje de ^{14}C total recuperado (mineralizado + extraído + oxidado) fue muy alto en el suelo sin enmendar (100%) y ligeramente más bajo en el suelo enmendado con alperujo (80%).

Tabla 4.16. Porcentaje de ^{14}C terbutilazina mineralizado transcurridas 40 semanas desde su aplicación al suelo, extraído tras el estudio de mineralización y determinado por oxidación del suelo.

	BJ	(BJ+AF)_L
^{14}C mineralizado (%)	49.43 ± 4.35	27.99 ± 2.27
^{14}C extraído (%)	8.70 ± 0.49	18.04 ± 1.08
^{14}C oxidado (%)	45.14 ± 4.29	33.72 ± 2.69
^{14}C total recuperado (%)	103.3	79.75

Son varios los fenómenos que pueden estar ocurriendo en el suelo enmendado al mismo tiempo y que tengan como consecuencia esta menor mineralización de los herbicidas. La disminución de la disponibilidad del herbicida a los microorganismos del suelo, tanto en el caso de diurón como en el de terbutilazina, podría deberse a la adsorción del herbicida a la materia orgánica de la enmienda, a un posible efecto tóxico de la enmienda sobre la población microbiana del suelo y/o a que los microorganismos del suelo enmendado podrían usar preferentemente la materia orgánica de la enmienda como fuente de C y de N, en lugar de los herbicidas diurón y terbutilazina. Esta última opción es la más probable, pues según Muñoz et al. (2008) se encontró mayor número de microorganismos resistentes a diurón y terbutilazina en el suelo enmendado con alperujo fresco que en el suelo control, al conseguir los microorganismos adaptarse a la enmienda orgánica.

4.2.4 MCPA

La Figura 4.17 muestra las curvas de disipación de MCPA en los suelos sin enmendar y en los enmendados con alperujo y en la Tabla 4.17 se observan los valores de vida media obtenidos para MCPA en dichos suelos y el cuadrado del coeficiente de regresión lineal del ajuste a la ecuación de cinética de primer orden. Para el suelo BJ sin enmendar y enmendado con alperujo, el estudio duró 171 días, sin embargo en el suelo P2 no enmendado y enmendado, la duración del estudio de disipación fue de 82 días. Sólo la vida media obtenida en el suelo P2 sin enmendar coincide con la vida media de MCPA en contrada en bibliografía, inferior a 7 días según Tomlin (2007-08) y de 5 días en un suelo clasificado como Palexerollic Chromoxerert (Crespín et al. 2001). En el suelo BJ la vida media de MCPA es considerablemente mayor, 74 días (Tabla 4.17). La aplicación de la enmienda aumenta la persistencia del herbicida en los suelos enmendados en el laboratorio. En el caso del suelo BJ, el aumento de la persistencia en el suelo enmendado con alperujo fresco (BJ +AF)_L, que tiene mayor contenido en M.O., es mayor que en el mismo suelo enmendado con alperujo compostado (BJ+AC)_L. En el suelo arenoso P2 la mayor persistencia se observa en el suelo enmendado con alperujo compostado en el laboratorio (P2+AC)_L, con un aumento de 5 veces la vida media respecto al suelo sin enmendar y cuando el suelo se enmienda con alperujo fresco (P2+AF)_L el aumento de la vida media de MCPA es 3 veces superior al del suelo sin enmendar (Tabla 4.17).

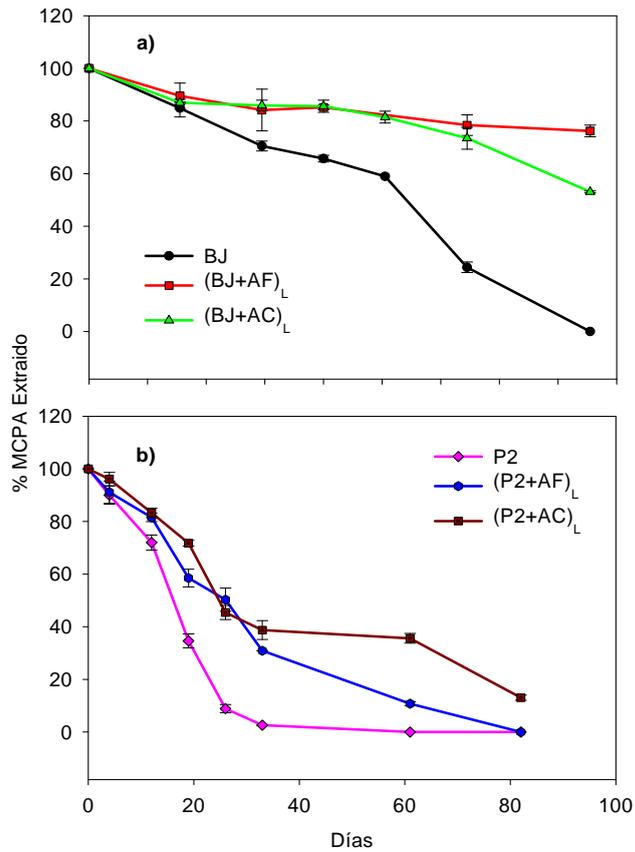


Figura 4.17. Curvas de disipación de MCPA en los estudios de incubación en los suelos originales y enmendados con alperujo. a) En los suelos BJ sin enmendar y con enmienda. b) En los suelos P2 no enmendado y enmendados.

Tabla 4.17. Vida media de MCPA en los suelos originales y enmendados con alperujo fresco o compostado y cuadrado del coeficiente de regresión del ajuste lineal.

Suelo	$t_{1/2}$ (días)	R^2
BJ	74.1 (59.0-99.5)	0.7923
(BJ+AF) _L	473 (405-567)	0.9001
(BJ+AC) _L	219 (183-271)	0.8443
P2	6.32 (5.43-7.56)	0.9025
(P2+AF) _L	18.5 (17.4-19.8)	0.9806
(P2+AC) _L	30.1 (26.9-34.1)	0.9228

De acuerdo con Crespín et al. (2001), los herbicidas tipo fenoxiácidos, como MCPA, pueden degradarse en el suelo de forma abiótica, que implica o la hidrólisis de las sales o ésteres del herbicida en suelos húmedos, con la formación de los correspondientes aniones, o bien la fotodescomposición por adsorción de luz UV, y/o por medio de degradación microbológica. Esta última tiene más importancia que la abiótica. La degradación de este tipo de herbicidas se ve influenciada por una serie de factores como son la humedad del suelo, variables climáticas y la profundidad del suelo, siendo más rápida la degradación de los herbicidas en los perfiles superiores del suelo (Juhler et al., 2008). La variabilidad de la disipación de MCPA en el horizonte A está relacionada con la microbiología del suelo y el contenido en carbono orgánico total (C.O.T.) (Juhler et al., 2008), observación también realizada por Thorstensen y Lode (2001) quienes afirman que la velocidad de degradación de MCPA, dicloprop y propiconazol disminuye con el aumento del C.O. del suelo, lo que se atribuye a un aumento en la adsorción. El aumento en la adsorción resulta en una baja concentración de los plaguicidas en la disolución del suelo que está disponible para la degradación por los microorganismos. Esto

está de acuerdo con los resultados obtenidos de vida media de MCPA en los suelos enmendados con alperujo fresco en el laboratorio, que disminuyen respecto al suelo no enmendado BJ o P2 (Tabla 4.17) y el aumento en la adsorción con la enmienda (Tabla 4.9). Pero en el caso de los suelos enmendados con alperujo compostado en el laboratorio, la vida media de MCPA aumenta respecto al suelo no enmendado (Tabla 4.17), y sin embargo no se produce aumento en la adsorción del herbicida, o éste no es significativo cuando el suelo se enmienda con alperujo compostado en comparación con el suelo original (Tabla 4.9). Donde sí se observa aumento es en los coeficientes de desorción de Freundlich de los suelos enmendados con alperujo compostado en el laboratorio respecto a los no enmendados (Tabla 4.10), lo cual coincide con las observaciones de Jensen et al (2004), quienes obtuvieron la mejor correlación entre la velocidad de degradación de MCPA y los coeficientes de desorción de Freundlich.

4.2.5 Amitrol

Debido a la dificultad para analizar amitrol, el estudio de disipación de este herbicida se redujo a 3 suelos, el suelo BJ sin enmendar y el mismo suelo enmendado en el laboratorio con alperujo fresco (BJ+AF)_L y con alperujo compostado (BJ+AC)_L. En la Figura 4.18 se representa la disipación de amitrol en los suelos citados, durante los 55 días que duró el estudio y en la Tabla 4.18 se muestran los valores de vida media de amitrol y el coeficiente de regresión del ajuste lineal a la cinética de primer orden. Puede observarse que durante los 20 primeros días de estudio la disipación de amitrol es más rápida en el suelo no enmendado y a partir de los 20 días aumenta la disipación del herbicida en el suelo enmendado con alperujo compostado (BJ+AC)_L. La disipación más lenta

durante todo el tiempo que duró el estudio se produjo en el suelo enmendado con alperujo fresco en el laboratorio (BJ+AF)_L. La vida media de amitrol en este suelo es de 50 días (Tabla 4.18), mientras que en el suelo no enmendado es de 15 días y de 16 días en el suelo (BJ+AC)_L. Para amitrol no encontramos correlación entre la adsorción y la disipación, pues en el suelo enmendado con mayor aumento de la adsorción (BJ+AC)_L respecto al suelo no enmendado (Tabla 4.11), no se produce aumento significativo de la vida media del herbicida al compararlo con la vida media en el suelo original (Tabla 4.18). Dakhel et al (2001) hicieron un estudio de disipación de amitrol paralelo a la mineralización del herbicida en 8 suelos distintos, oscilando la vida media de amitrol entre menos de 1 día y más de 70 días, y atribuyeron la variabilidad en la disipación de amitrol a las propiedades físico-químicas del suelo, y también al comportamiento de los microorganismos del suelo capaces de degradar a amitrol. El principal proceso de degradación de amitrol en el suelo en condiciones aeróbicas es el de mineralización. Según Oesterreich et al. (1998) la mineralización de amitrol es rápida, la formación de compuestos volátiles no es significativa y se forman residuos no extraíbles por la formación de fuertes enlaces entre amitrol y la M.O. del suelo, bien por puentes de hidrógeno o enlaces covalentes.

Tabla 4.18. Vida media de amitrol en el suelo original y enmendado calculada del ajuste lineal a una cinética de 1^{er} orden y cuadrado del coeficiente de regresión de la recta.

Suelo	t _{1/2} (días)	R ²
BJ	14.68 (13.56-16.00)	0.9688
(BJ+AF) _L	50.19 (42.06-62.22)	0.8426
(BJ+AC) _L	16.01 (14.11-18.49)	0.9172

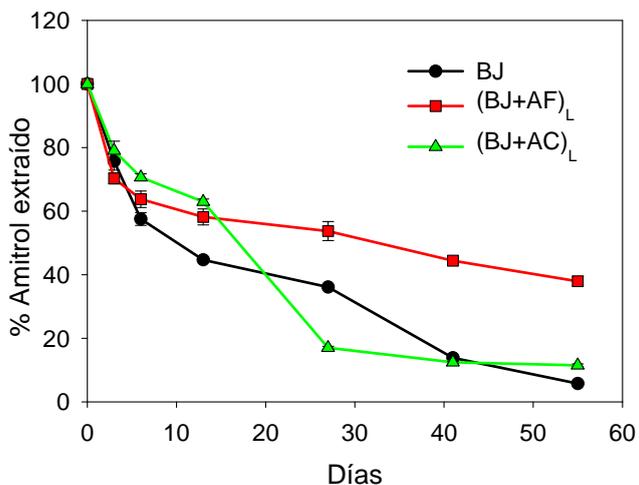


Figura 4.18. Curvas de disipación de amitrol en el suelo sin enmendar y enmendado con alperujo fresco y compostado.

De todos los herbicidas estudiados, amitrol es el que presenta una disipación más rápida en el suelo arcilloso BJ. No existen demasiados estudios sobre este herbicida en suelos, pero nuestros resultados están de acuerdo con los publicados por Tomlin (2007-2008), que indican una persistencia de amitrol en suelos de aproximadamente 2-4 semanas. Dakhel et al, (2001) consideran que la disipación de amitrol en general, es rápida y se debe principalmente a procesos de mineralización y de estabilización por formación de compuestos no extraíbles.

4.3 Estudios de lixiviación

4.3.1 Diurón

Se estudió la lixiviación de diurón aplicado como único herbicida y aplicado junto con terbutilazina en columnas de suelos empaquetadas a mano. En el primer caso, solamente se detectó diurón en los lixiviados del suelo P2 sin enmendar. Este suelo tiene un elevado contenido en arena (70.7%) y bajo contenido en M.O. (0.63%). Sin embargo, en el suelo BJ, arcilloso y con mayor contenido en M.O. (1.84%), así como en los suelos enmendados, en los que aumenta el porcentaje de M.O. respecto al suelo original, el herbicida diurón no se detecta en los lixiviados recogidos. La movilidad de diurón está influenciada por la naturaleza del suelo (Thevenot et al., 2008). González-Pradas et al., (1998) estudiaron la adsorción y lixiviación de diurón en un suelo calcáreo original y enmendado con turba a dos dosis distintas y encontraron resultados similares: tampoco detectaron diurón en los lixiviados de las columnas, siendo la cantidad de herbicida aplicada (26 kg ha^{-1}) muy superior a la que nosotros hemos aplicado, con el fin de simular una contaminación del suelo por diurón. Esto parece contradecir los estudios de Fava et al. (2006), en los que se calculó el índice de lixiviación de varios herbicidas basándose en propiedades intrínsecas como la persistencia y la movilidad, concluyendo que diurón posee las características para ser considerado un contaminante de acuíferos.

La curva de elución relativa y acumulada de diurón en las columnas empaquetadas a mano en el suelo original P2 se ha representado en la Figura 4.19. El máximo de lixiviación de diurón en las columnas empaquetadas con suelo P2 se produce a 5.4 volúmenes de poro. El máximo de la curva de elución

desplazado a la derecha de un volumen de poro indica que diurón sufre retención por adsorción a los componentes del suelo (Beck et al., 1993). La cantidad total eluída tras añadir 300 mL de CaCl_2 0.01 M es baja ($15.04 \pm 2.93\%$ del total aplicado, Tabla 4.19).

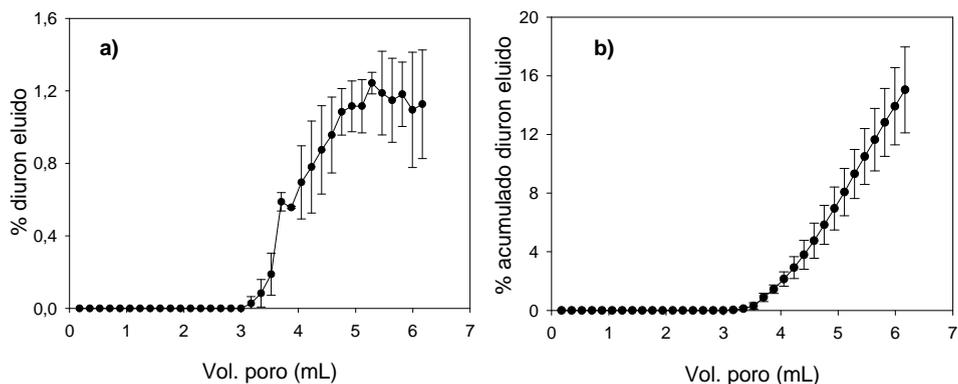


Figura 4.19. Lixiviación de diurón en columnas de suelo empaquetadas manualmente. a) Curva de elución relativa de diurón en el suelo P2. b) Curva de elución acumulativa de diurón en el suelo sin enmendar P2.

Tras el estudio de elución se procedió a la extracción de las columnas tanto de las que lixiviaron (P2) como de las que no (resto de los suelos). Estos resultados se muestran en la Tabla 4.19. En el suelo arenoso P2 se observa que a medida que aumenta la profundidad aumenta la cantidad de herbicida extraído, lo cual muestra claramente la mayor movilidad de diurón en este suelo. Cuando el suelo P2 está enmendado con alperujo en el laboratorio, se observa un comportamiento opuesto, mayor retención de diurón en las secciones superiores del suelo y muy bajo porcentaje de herbicida extraído en la sección correspondiente a la profundidad 15-20 cm (0.59%) (Tabla 4.19). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Majumdar y Singh (2007) con el herbicida metribuzín: recuperaron mayor cantidad en la parte superior de

columnas empaquetadas con suelo enmendado con cenizas que en el mismo suelo sin enmienda. El porcentaje de recuperación total (lixiviado + extraído) es bastante menor en el caso del suelo sin enmendar P2 que en el suelo enmendado (Tabla 4.19 y Figura 4.20), lo cual puede atribuirse a una protección del herbicida frente a la degradación en el suelo enmendado, el cual adsorbe mucho más diurón. (Tabla 4.1).

El mayor porcentaje de diurón extraído en el suelo BJ corresponde a los primeros 15 cm del suelo, siendo bastante menor la cantidad de diurón en los últimos 5 cm (Figura 4.20). En el caso del suelo BJ enmendado en el laboratorio con alperujo fresco, el mayor porcentaje de diurón queda retenido en los primeros 5 cm del perfil del suelo, mientras que en el caso del alperujo compostado se encuentra entre los primeros 0-5 y 5-10 cms. En el caso del suelo enmendado en el campo, la mayor retención de herbicida se produce entre los 5-10 cm de profundidad, mostrando una mayor movilidad que en $(BJ+AF)_L$ y $(BJ+AC)_L$ (Figura 4.20). De hecho parece existir una buena correlación entre adsorción y movilidad entre los suelos enmendados $(BJ+AF)_L$, $(BJ+AC)_L$ y $(BJ+AF)_C$, como se puede ver si se comparan la Tabla 4.1 y la Figura 4.20. Los porcentajes de recuperación son bajos, (20-40%), excepto en el suelo BJ enmendado en el campo con alperujo fresco $(BJ+AF)_C$ en el que la recuperación es muy alta (75%) (Figura 4.20 y Tabla 4.19). Al igual que ocurría con el suelo arenoso P2 los porcentajes recuperados son más bajos en los suelos sin enmendar que en los enmendados, indicando una "protección" del herbicida frente a la degradación en los suelos enmendados en los que la adsorción es mayor. En el caso del suelo BJ las diferencias son mucho mayores que en el suelo arenoso P2.

Tabla 4.19. Porcentajes de diurón extraído cada 5 cm de profundidad, eluido y recuperado total de columnas de suelo empaquetadas manualmente.

Suelo	Profundidad	% Extraído	Error	% Eluido	Error	% Total r.
BJ	0-5 cm	5.43	0.71			
	5-10 cm	6.10	0.65			
	10-15 cm	6.49	2.02			
	15-20 cm	2.85	1.94			
	Total	20.86	3.90	0.00	0.00	20.86
(BJ+AF) _L	0-5 cm	38.11	0.09			
	5-10 cm	10.21	4.98			
	10-15 cm	0.85	0.44			
	15-20 cm	0.81	0.38			
	Total	49.98	4.95	0.00	0.00	49.98
(BJ+AC) _L	0-5 cm	19.35	2.99			
	5-10 cm	17.64	0.81			
	10-15 cm	1.95	0.29			
	15-20 cm	0.46	0.07			
	Total	39.39	4.16	0.00	0.00	39.39
(BJ+AF) _C	0-5 cm	19.07	1.25			
	5-10 cm	39.78	2.47			
	10-15 cm	15.93	0.60			
	15-20 cm	0.60	0.12			
	Total	75.38	4.20	0.00	0.00	75.38
P2	0-5 cm	4.30	0.10			
	5-10 cm	9.95	1.32			
	10-15 cm	15.17	2.01			
	15-20 cm	20.05	1.33			
	Total	49.47	1.92	15.04	2.93	64.52
(P2+AF) _L	0-5 cm	32.21	10.22			
	5-10 cm	42.41	9.15			
	10-15 cm	10.47	1.63			
	15-20 cm	0.59	0.14			
	Total	85.68	21.14	0.00	0.00	85.68

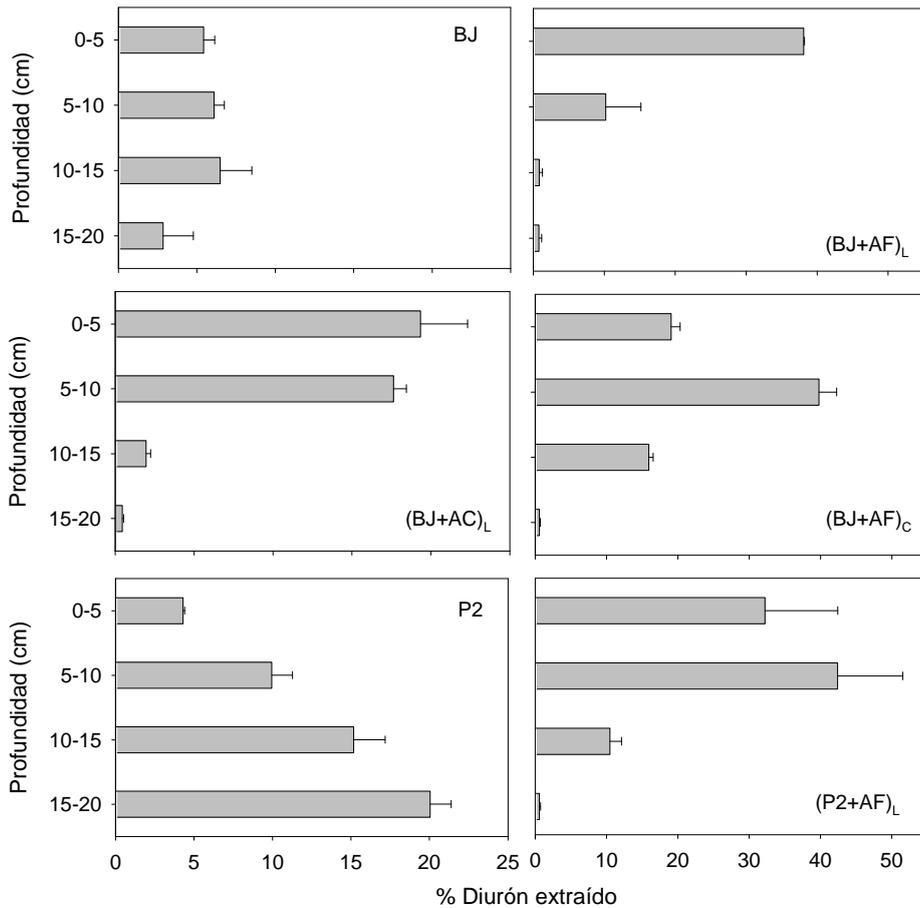


Figura 4.20. Porcentaje de diurón extraído de las columnas de suelo tras el estudio de elución en los suelos sin enmendar y enmendado con alperujo.

Para ambos suelos los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación de diurón, en los que la recuperación (lixiviado + extraído de las columnas) es siempre superior en el suelo enmendado en el laboratorio que en el original estaría de acuerdo con la mayor persistencia del herbicida en el suelo enmendado (Tabla 4.13). Sin embargo, no explica los valores tan altos de

recuperación observados en el suelo BJ enmendado en el campo (BJ+AF)_c (Tabla 4.19), en el que la recuperación era superior al 75% vs 20% en el suelo sin enmendar. Las diferentes condiciones experimentales (dinámicas frente a estáticas, saturación frente a no saturación) de los experimentos de lixiviación y disipación deben afectar a la degradación de diurón. La repetición de ambos experimentos (incubación y lixiviación) parecen apoyar esta idea.

La formación de residuos no extraíbles fue propuesto por Landry et al. (2004) y Thevenot et al. (2008) como causa de la pérdida de diurón en el balance de masas. Este último autor también sugirió la mineralización de diurón como responsable de la baja recuperación del herbicida en el balance de masas y que la adición de enmiendas orgánicas podría también disminuir la cantidad de herbicida recuperado respecto al suelo sin enmienda. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por nosotros. Sin embargo, la similar adsorción de diurón en el suelo BJ sin enmendar y el enmendado en el campo (Tabla 4.1) y la gran diferencia en la cantidad de diurón recuperado (20% vs 75%) indica que la adsorción no puede ser el único proceso implicado. Un efecto negativo de la enmienda orgánica en la degradación de diurón debe contribuir también a estos altos porcentajes de recuperación, como se ha puesto de manifiesto en los ensayos de mineralización (Tabla 4.15 y Figura 4.15).

Se ha estudiado también la movilidad de diurón en columnas de suelo cuando se coaplica con terbutilazina. En este caso se ha utilizado el suelo BJ sin enmendar y enmendado en laboratorio y en campo. En ningún caso, al igual que ocurría cuando diurón se aplicaba sólo, se ha detectado la presencia del herbicida en los lixiviados. Cuando se finalizaron los experimentos de lixiviación (30 días) se dismantelaron las columnas y se extrajo la cantidad de

diurón en el suelo (Figura 4.21 y Tabla 4.20). Al igual que ocurría en la aplicación de diurón solo, cuando éste es coaplicado con terbutilazina los mejores porcentajes de recuperación corresponden a los suelos enmendados. Sin embargo, excepto para el suelo (BJ+AF)_C, los porcentajes de recuperación son mucho mayores cuando diurón se aplica con terbutilazina. Esto está de acuerdo con la similar adsorción puesta de manifiesto en la sección 4.1.1 (Tabla 4.2) por la también mayor desorción de diurón cuando se coaplica con terbutilazina (Tabla 4.4). Esta mayor desorción da lugar a un aumento significativo en la recuperación de diurón en los suelos.

De acuerdo con Nkedi-Kizza y Brown (1998) la mezcla de diurón y atrazina con carbarilo no afecta significativamente a la movilidad de carbarilo en suelos, y a que la adsorción de carbarilo sólo disminuye muy ligeramente cuando se aplican diurón y atrazina, respecto a cuando se aplica carbarilo solo. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por nosotros en el estudio de adsorción de diurón cuando se coaplicaba con terbutilazina, excepto en el suelo enmendado con alperujo fresco en el campo. (Tablas 4.1 y 4.2). Tan y Singh (1995) estudiaron el efecto de la mezcla de herbicidas en la lixiviación de norflurazona y bromacilo en columnas de suelo. Al mezclar cualquiera de estos dos herbicidas con glifosato, orizalina, oxifluorfen, pendimetalina o setoxidina no se producía ningún aumento en la lixiviación de norflurazona o bromacilo. No obstante, la lixiviación de norflurazona se vio disminuida cuando se aplicaba también metolaclo, oxadizón, simazina, terbacilo o trifluralina, en comparación con la lixiviación de norflurazona cuando se aplicaba como único herbicida y la lixiviación de bromacilo sólo disminuyó cuando se coaplicó diurón o napropamida.

Tabla 4.20. Porcentaje de diurón extraído, eluido y recuperado en columnas de suelo empaquetadas manualmente respecto a la cantidad inicial de herbicida aplicado, cuando se aplicó terbutilazina conjuntamente.

Suelo	Profundidad	% Extraído	Error	% Eluido	Error	% Total r.
BJ	0-5 cm	17.65	1.74			
	5-10 cm	21.17	3.89			
	10-15 cm	7.89	1.12			
	15-20 cm	0.56	0.10			
	Total	47.27	6.84	0.00	0.00	47.27
(BJ+AF) _L	0-5 cm	55.35	13.03			
	5-10 cm	12.58	2.29			
	10-15 cm	2.25	1.55			
	15-20 cm	2.22	1.95			
	Total	72.40	18.81	0.00	0.00	72.40
(BJ+AC) _L	0-5 cm	38.09	0.97			
	5-10 cm	17.95	5.98			
	10-15 cm	1.15	0.04			
	15-20 cm	0.58	0.13			
	Total	57.77	7.11	0.00	0.00	57.77
(BJ+AF) _C	0-5 cm	16.73	0.55			
	5-10 cm	24.46	1.35			
	10-15 cm	10.44	1.34			
	15-20 cm	1.50	0.60			
	Total	53.14	3.85	0.00	0.00	53.14

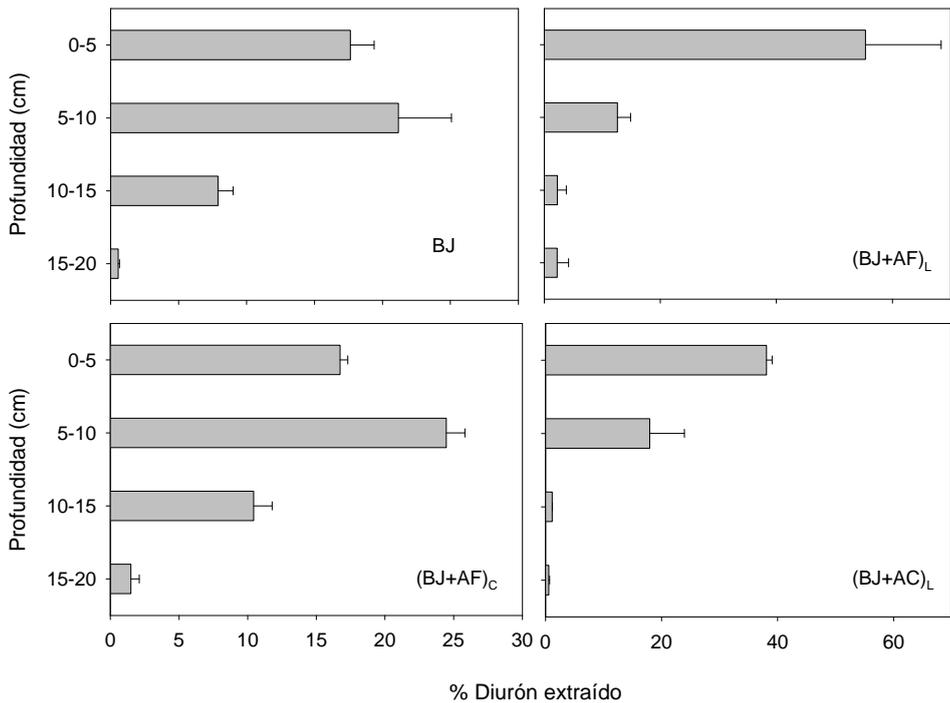


Figura 4.21. Porcentaje de diurón extraído de los distintos fragmentos de las columnas de suelo tras finalizar el estudio de elución y cuando se coaplicó con terbutilazina.

4.3.2 Terbutilazina

En el estudio de lixiviación de terbutilazina en los suelos enmendados y sin enmendar sí se detectó terbutilazina en todos los lixiviados del suelo BJ con y sin enmienda. Los porcentajes de herbicida lixiviado respecto al aplicado en el suelo arcilloso BJ son bajos (8.56%), aunque li geramente superiores a los lixiviados en los suelos enmendados (BJ+AF)_L y (BJ+AC)_L. No se observa n diferencias significativas respecto al suelo enmendado con alperujo fresco en el

campo $(BJ+AF)_C$ (9.57%) (Figura 4.22 y tabla 4.21). Donde sí se observa un mayor porcentaje de terbutilazina en los lixiviados es en el suelo arenoso P2, (58.38%). En cambio, en este mismo suelo enmendado en el laboratorio con alperujo fresco $(P2+AF)_L$ no se detecta terbutilazina en los lixiviados recogidos durante los 30 días que duró el estudio. Esto puede ser debido al gran incremento en la adsorción tras la enmienda (Tabla 4.5), el mayor de todos (hasta 13 veces superior el coeficiente K_f y la elevada irreversibilidad de la adsorción (Tabla 4.7).

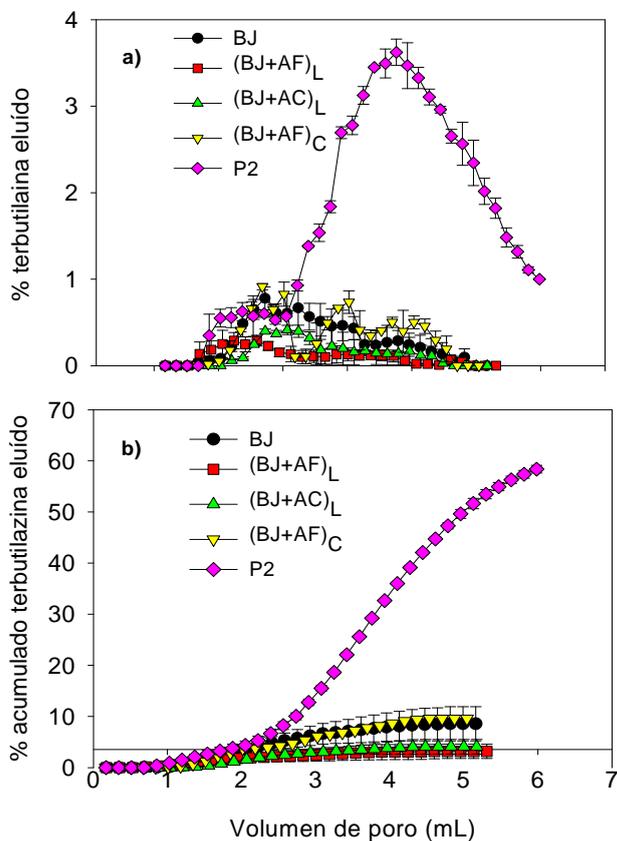


Figura 4.22. Lixiviación de terbutilazina en columnas de suelo empaquetadas a mano. a) Curva de elución relativa de terbutilazina en los suelos originales y enmendados. b) Curva de elución acumulada de terbutilazina.

Fava et al. (2007) clasificaron al herbicida terbutilazina como un herbicida que lixivia, según sus propiedades intrínsecas basadas en la determinación de DT_{50} , del potencial de lixiviación calculado como GUS (Groundwater Ubiquity Score o índice de Gustafson) y de estudios de lixiviación en columnas. Singh et al. (2002) obtuvieron sólo un 10% de terbutilazina eluido respecto a la cantidad inicialmente aplicada en las columnas de suelo y en condiciones de flujo saturado. De acuerdo con estos autores no tiene mucho efecto el flujo preferencial de agua en el movimiento de terbutilazina, debido probablemente a su baja solubilidad en agua (8.5 mg L^{-1}), pasando el agua junto con el herbicida aplicado a través de la matriz del suelo. El movimiento de terbutilazina también puede verse restringido, según Singh et al. (2002), por interacciones del herbicida más fuertes con la M.O. del suelo que con el C. O. disuelto. Respecto a los suelos enmendados en el laboratorio, existen numerosos estudios de lixiviación de herbicidas del grupo de las triazinas, en los que la adición de enmienda orgánica al suelo disminuye la cantidad de plaguicida lixiviado respecto al suelo original (Cox et al., 2001; Albarrán et al., 2003, 2004).

Dado por concluido el estudio de lixiviación de terbutilazina, se procedió a la extracción del suelo de las columnas dividido en 4 secciones. En el suelo arcilloso sin enmendar BJ y en el enmendado en el campo (BJ+AF)_C se extrajo la mayor parte de terbutilazina entre los 5-15 cm de profundidad (Figura 4.23 y tabla 4.21). Sin embargo, en el suelo enmendado con alperujo fresco en el laboratorio el mayor porcentaje de terbutilazina quedó retenido en el fragmento superior (0-5 cm) y en el caso del mismo suelo enmendado en el laboratorio pero con alperujo compostado (BJ+AC)_L se extrajo mayor porcentaje de herbicida entre 0-10 cm de profundidad. Este resultado puede

atribuirse a la mayor adsorción de terbutilazina en el alperujo fresco que en el compostado (Tabla 4.5). Como se puede apreciar en estos resultados de extracción y de lixiviación, existe una buena correlación entre adsorción (Tabla 4.5) y movilidad (Tabla 4.21), como otros autores han observado (Li et al., 2006; Majumdar y Singh, 2007). Las cantidades totales recuperadas (lixiviados + extraídos) también son mayores en los suelos BJ enmendados, si bien, las diferencias son mucho menores y las cantidades recuperadas son bastante mayores que en el caso del herbicida diurón. Puede ser indicativo de que los procesos de degradación parecen ser predominantes, de forma que vemos una buena correlación entre las cantidades de terbutilazina recuperadas en los experimentos de lixiviación y los resultados obtenidos en los estudios de disipación: una mayor cantidad de terbutilazina recuperada (lixiviado + extraído) (Tabla 4.21) en suelos en los que la vida media de terbutilazina es mayor (Tabla 4.14).

La recuperación de terbutilazina es muy alta en el suelo P2 enmendado, siendo el total recuperado (lixiviado + extraído) similar en el suelo enmendado y en el control, lo cual está de acuerdo con la elevada vida media de terbutilazina en ambos suelos (Tabla 4.14 y Figura 4.14b). Las diferencias entre la disipación de diurón y terbutilazina en el suelo P2 deben atribuirse a propiedades microbiológicas del suelo.

Tabla 4.21. Porcentajes de terbutilazina eluidos y extraídos en cada fragmento de columna de suelo empaquetada a mano y total recuperado.

Suelo	Profundidad	% Extraído	Error	% Eluido	Error	% Total r.
BJ	0-5 cm	9.94	0.46			
	5-10 cm	20.35	0.43			
	10-15 cm	25.10	5.33			
	15-20 cm	8.66	2.16			
	Total	64.06	8.39	8.57	3.34	72.62
(BJ+AF) _L	0-5 cm	105.75	0.20			
	5-10 cm	0.00	0.00			
	10-15 cm	0.00	0.00			
	15-20 cm	0.00	0.00			
	Total	105.75	0.20	3.18	1.38	108.93
(BJ+AC) _L	0-5 cm	28.36	3.88			
	5-10 cm	39.22	5.69			
	10-15 cm	6.15	4.08			
	15-20 cm	6.75	6.27			
	Total	80.48	19.93	4.07	1.45	84.55
(BJ+AF) _C	0-5 cm	11.88	0.52			
	5-10 cm	22.95	1.81			
	10-15 cm	29.60	7.59			
	15-20 cm	9.59	0.86			
	Total	74.01	10.77	9.57	0.57	83.58
P2	0-5 cm	2.13	0.38			
	5-10 cm	3.01	0.38			
	10-15 cm	3.97	0.03			
	15-20 cm	6.70	0.26			
	Total	15.81	1.04	58.38	0.76	74.19
(P2+AF) _L	0-5 cm	47.07	13.59			
	5-10 cm	19.40	0.14			
	10-15 cm	3.71	0.80			
	15-20 cm	1.55	2.19			
	Total	71.73	16.72	0.00	0.00	71.73

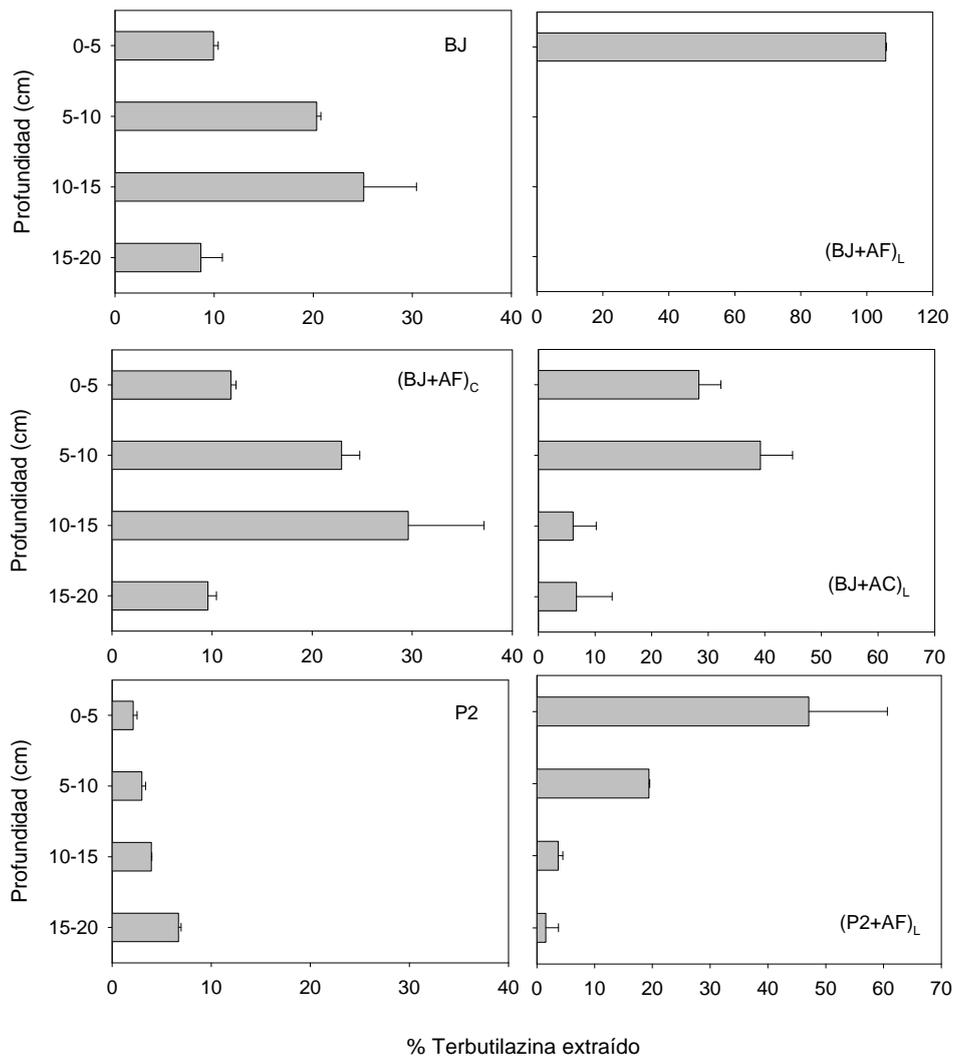


Figura 4.23. Porcentaje de terbutilazina extraído de cada fragmento de las columnas de suelo empaquetadas manualmente tras el estudio de elución.

Cuando terbutilazina se aplica conjuntamente con diurón, las cantidades lixiviadas son mayores en el caso del suelo sin enmendar BJ y en el enmendado

en el campo $(BJ+AF)_C$ (Tabla 4.22 y Figura 4.24). Salvo en este suelo, la enmienda con AF y AC reduce la lixiviación. La cantidad de terbutilazina lixiviada en el suelo no enmendado y enmendado en el campo con alperujo fresco es ligeramente superior cuando terbutilazina se aplica con diurón que cuando se aplica como único herbicida (Tabla 4.21 y 4.22), pudiéndose deber a la competencia de los herbicidas por los sitios de adsorción debido a la coaplicación (Farenhorst y Bowman, 1998; Farenhorst y Prokopowich, 2003), hecho que sí se observó en el suelo enmendado en el campo, pero no en el suelo original (Tablas 4.5 y 4.6). En lo que se refiere a las cantidades recuperadas una vez extraídos los suelos (Tabla 4.22) los porcentajes de recuperación, a diferencia de con diurón y al igual que en los estudios de lixiviación con terbutilazina aplicada solo, tan sólo son superiores a los del suelo sin enmendar en el caso del suelo $(BJ+AF)_L$. Este suelo es en el que más aumenta la capacidad de adsorción de terbutilazina.

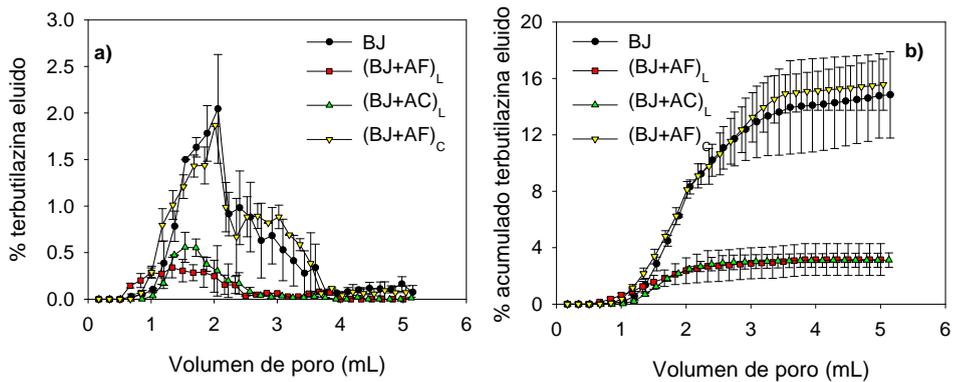


Figura 4.24. Elución de terbutilazina a) relativa y b) acumulativa en las columnas de suelo empacquetadas manualmente y en las que se coaplicó terbutilazina junto con diurón.

Tabla 4.22. Porcentajes de terbutilazina eluido, extraído y recuperado de columnas de suelo empaquetadas a mano cuando se aplicó junto con diurón en el suelo original BJ y enmendado con alperujo.

Suelo	Profundidad	% Extraído	Error	% Eluido	Error	% Total r.
BJ	0-5 cm	5.54	0.27			
	5-10 cm	11.90	1.63			
	10-15 cm	26.67	1.95			
	15-20 cm	10.38	0.42			
	Total	54.49	4.28	14.84	3.06	69.33
(BJ+AF) _L	0-5 cm	87.03	24.34			
	5-10 cm	1.50	1.24			
	10-15 cm	1.55	1.48			
	15-20 cm	0.48	0.48			
	Total	90.56	27.54	3.16	1.12	93.72
(BJ+AC) _L	0-5 cm	21.77	0.64			
	5-10 cm	31.21	6.38			
	10-15 cm	6.02	1.90			
	15-20 cm	0.00	0.00			
	Total	59.00	8.93	3.12	0.51	62.12
(BJ+AF) _C	0-5 cm	8.32	0.00			
	5-10 cm	19.43	1.35			
	10-15 cm	19.40	2.93			
	15-20 cm	8.06	0.68			
	Total	55.22	4.96	15.56	1.81	70.77

4.3.3 MCPA

Al ser MCPA el herbicida que menos se adsorbe es el que presenta los mayores porcentajes de lixiviación en los suelos estudiados. En el suelo BJ, con mayor contenido en arcilla y materia orgánica que el P2, la cantidad de MCPA eluido, es elevada (82%) (Figuras 4.25 y 4.26 (b) y Tabla 4.23), al igual que en el suelo enmendado con alperujo en el laboratorio (BJ+AF)_L. Por el contrario en

este mismo suelo enmendado en laboratorio con com post de alperujo y en el campo con alperujo fresco disminuye la cantidad de herbicida lixiviado, especialmente en el suelo enmendado con alperujo compostado en el laboratorio, donde sólo se recupera un 32% de MCPA eluido.

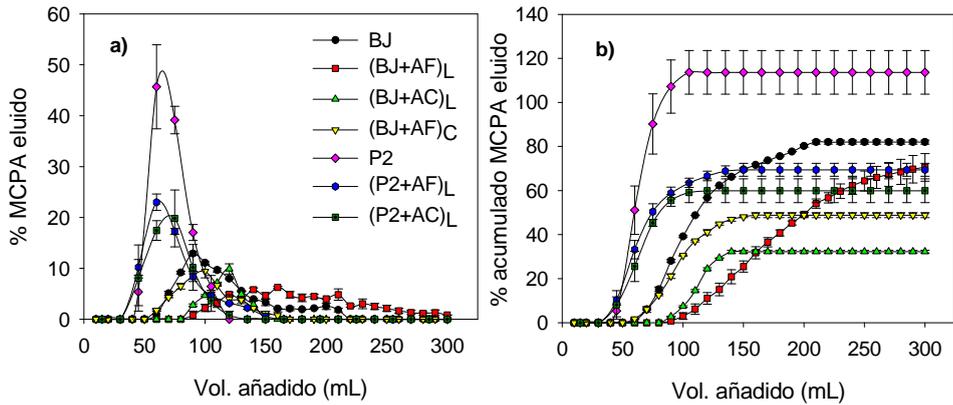


Figura 4.25. a) Curva de elución relativa de MCPA en las columnas empaquetadas manualmente con los suelos originales y enmendado; b) Curva de elución acumulativa de MCPA en las mismas columnas.

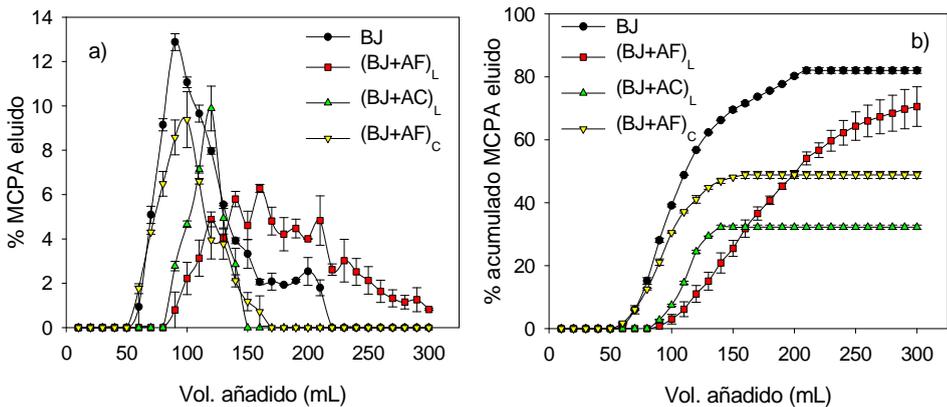


Figura 4.26. a) Detalle de la curva 4.25 a) en la que se ha representado sólo la elución relativa del suelo original BJ y el mismo suelo enmendado con alperujo; b) Curva de elución acumulativa del suelo original BJ y enmendado con alperujo.

Tabla 4.23. Porcentaje de MCPA total eluido, extraído y recuperado en las columnas de suelo empaquetadas manualmente con los suelos sin enmendar y los mismos suelos enmendados con alperujo.

Suelo	% Eluido	%Error eluido	% Extraído	% Error extraído	Total recuperado
BJ	82.02	0.9	0	0	82.02
(BJ+AF) _L	70.54	6.29	0	0	70.54
(BJ+AC) _L	32.23	0.68	0	0	32.23
(BJ+AF) _C	48.82	1.11	0	0	48.82
P2	113.68	9.9	0	0	113.68
(P2+AF) _L	69.4	2.94	0	0	69.4
(P2+AC) _L	59.9	5.42	0	0	59.9

En el suelo arenoso P2, con menor contenido en materia orgánica se consigue la lixiviación total (100%) del herbicida aplicado, disminuyendo a un 69% y un 60% cuando el suelo es enmendado en el laboratorio con alperujo fresco y alperujo compostado respectivamente (Figura 4.26 (b) y Tabla 4.23). También se observa tanto en el suelo BJ, como en el suelo P2 un desplazamiento del máximo de elución en los suelos enmendados respecto a los no enmendados, como observaron Albarrán et al. (2003, 2004) y Cox et al. (1997a) en la lixiviación de simazina y metamitron respectivamente, atribuyendo dicho desplazamiento a la disminución de la porosidad del suelo por la aplicación de la enmienda además de a la mayor adsorción debido al aumento de la M.O. proporcionada por la enmienda. Socías Viciana et al. (1999) también obtuvieron una elevada lixiviación de MCPA (99%) en columnas con un suelo sin enmienda y en columnas con el mismo suelo enmendado con turba a dosis distintas, si bien el volumen de eluyente necesario para conseguir la total lixiviación de MCPA aumentaba a medida que aumentaba el contenido en C.O. de los suelos.

Una vez finalizada la lixiviación se realizó la extracción de MCPA de los cuatro fragmentos en los que se dividieron las columnas, no extrayéndose MCPA en ninguno de los fragmentos ni en ningún suelo. La recuperación de MCPA en los suelos no enmendados fue superior al 80%, por lo que podemos asumir que todo el herbicida que no es lixiviado o se ha degradado o está fuertemente retenido por el suelo. Esto último parece poco probable debido a la baja retención de MCPA por los suelos estudiados (Tabla 4.9 y Figura 4.9), y más bien los resultados se pueden atribuir a la rápida degradación de MCPA en el suelo, que según Tomlin (2007-2008) la vida media de MCPA es de 7 días y de acuerdo con los datos recogidos por Wauchope et al. (1992) puede oscilar entre 6 y 60 días. No obstante nuestros resultados de disipación de MCPA sólo mostraron una rápida disipación del herbicida en el suelo P2 (Tabla 4.17).

4.3.4 Amitrol

No se detectó amitrol en los lixiviados de las columnas durante los 30 días que duró el ensayo. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Sakaliene et al. (2007), los cuales clasificaron a amitrol como un plaguicida moderadamente inmóvil en 6 de 7 suelos estudiados basándose en los factores de retraso R_F . En los experimentos llevados a cabo por Oesterreich et al. (1999), también se observó que, a pesar de la alta solubilidad en agua del herbicida, la lixiviación de amitrol era baja tanto en presencia como en ausencia de M.O.S. Estos autores atribuyeron la poca movilidad de amitrol a la alta adsorción del herbicida a los constituyentes del suelo.

Tabla 4.24. Porcentaje de amitrol extraído, eluido y recuperado respecto a la cantidad inicial de herbicida aplicado en columnas de suelo empaquetadas a mano.

Suelo	Profundidad	% Extraído	Error	% Eluido	Error	% Total r.
BJ	0-5 cm	6.66	0.10			
	5-10 cm	5.23	0.37			
	10-15 cm	5.14	0.65			
	15-20 cm	5.12	0.62			
	Total	22.15	0.80	0.00	0.00	22.15
(BJ+AF) _L	0-5 cm	10.85	4.97			
	5-10 cm	10.42	4.10			
	10-15 cm	10.42	2.99			
	15-20 cm	10.37	1.20			
	Total	42.06	13.26	0.00	0.00	42.06
(BJ+AC) _L	0-5 cm	4.68	0.09			
	5-10 cm	4.80	0.41			
	10-15 cm	4.32	0.12			
	15-20 cm	4.00	0.08			
	Total	17.80	0.27	0.00	0.00	17.80

Una vez transcurridos los 30 días del estudio de elución, se extrajo la cantidad de herbicida de cada fragmento en los que se dividió la columna. Los porcentajes extraídos de amitrol se muestran en la Tabla 4.24 y Figura 4.27. Las cantidades extraídas en la zona más superficial no difieren mucho con las cantidades extraídas en el resto de los anillos, siendo las diferencias más significativas en el suelo no enmendado. Es en las columnas empaquetadas con suelo enmendado con alperujo fresco de donde se extraen cantidades mayores de amitrol, a pesar de la mayor adsorción del herbicida en el suelo enmendado con alperujo compostado. La alta irreversibilidad de la adsorción de amitrol en

este suelo puede contribuir a estos resultados (Tabla 4.12), así como la menor persistencia del herbicida en este suelo (Tabla 4.18).

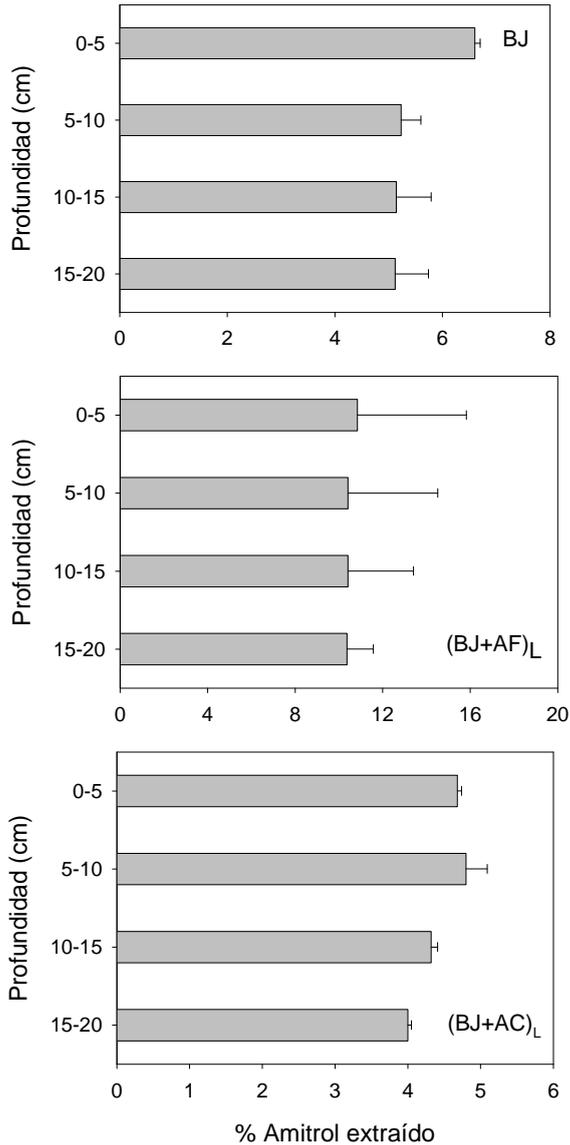


Figura 4.27. Porcentaje de amitrol extraído de las columnas de suelo tras el estudio de elución en el suelo no enmendado y enmendado con alperujo fresco o compostado.

La cantidad total de amitrol recuperado es baja especialmente en el suelo BJ y (BJ+A C)_L, debiéndose estos resultados a una elevada degradación del herbicida en el suelo, como muestran los resultados de disipación, con una vida media del herbicida de 15 y 16 días respectivamente (Tabla 4.18), valores que coinciden por los recogidos por Wauchope et al. (1992) de vida media de amitrol que oscila entre 4 y 23 días.

4.4 Estudio de la aplicación de alperujo en la disponibilidad de atrazina y terbutilazina en suelos.

Se estudió la influencia que tiene la aplicación de alperujo fresco en la disponibilidad de dos herbicidas pertenecientes a la familia de las triazinas, atrazina y terbutilazina, en dos suelos arenosos. La disponibilidad de los herbicidas para el transporte y para los microorganismos del suelo se ha caracterizado tradicionalmente por el cálculo de los coeficientes de distribución suelo/agua. De esta forma, la fracción de herbicida en el extracto acuoso, es decir, no retenida por el suelo, es la fracción directamente disponible. La fracción de herbicida en el extracto orgánico sería la fracción adsorbida al suelo y “potencialmente” disponible (Koskinen et al., 2001).

4.4.1 Estudio de la disponibilidad mediante extracciones con disolventes acuosos y orgánicos

La cantidad de herbicida extraída con la disolución acuosa, es decir, la cantidad de herbicida disponible, observamos que en los suelos no enmendados disminuye con el tiempo de incubación (Figura 4.28 a, 4.29 a y 4.30 a). Sin embargo, la cantidad de herbicida extraído con disolvente orgánico, que indica la cantidad de herbicida adsorbido al suelo, aumenta en los mismos suelos, con el aumento del tiempo de incubación. La cantidad de terbutilazina extraída con disolvente acuoso en el suelo P2 disminuyó de un 73% de la cantidad inicialmente aplicada de herbicida a un 43% tras 28 días de incubación, mientras que la cantidad de terbutilazina extraída con metanol aumentó de 27% a 43% en el mismo periodo de incubación. El total de terbutilazina extraída descendió del 100% a tiempo 0 a un 87% después de 28 días de incubación

(Figura 4.28 a). Por otro lado, la cantidad de atrazina extraída con disolvente acuoso disminuyó de un 89% a un 69%, y la extraída con disolvente orgánico aumentó de un 11% a un 20% respecto a la cantidad de atrazina aplicada al inicio del estudio y tras 25 días de incubación (Figura 4.29 a). El porcentaje total de atrazina extraído en el suelo P2 disminuyó del 100% al 84% tras 25 días de incubación. En el suelo MN el porcentaje de atrazina extraído con disolvente acuoso disminuyó notablemente de un 61% a tiempo 0 al 12% el día 25 y el porcentaje extraído con metanol aumentó del 39% al 49% tras 25 días de incubación. El total de atrazina extraído disminuyó del 100% de herbicida inicialmente aplicado a un 61% después de 25 días de estudio (Figura 4.30 a).

Por el contrario a lo observado en el suelo P2 sin enmendar, el porcentaje de terbutilazina y de atrazina extraíble tanto con disolvente acuoso, como orgánico disminuyó con el tiempo de incubación en el suelo P2 enmendado con alperujo. La cantidad total de terbutilazina extraída en este suelo disminuyó del 100% respecto a la cantidad aplicada al inicio del estudio al 53% tras 28 días que duró el proceso de incubación, una cantidad bastante inferior a la del suelo no enmendado (87%). A los 28 días de incubación, el porcentaje de terbutilazina extraído con disolvente acuoso disminuyó del 20% al 8% y el extraído con metanol de un 80% a tiempo 0 a un 45% (Figura 4.28 a). En el caso de atrazina, el porcentaje total disminuyó del 100% al 72% de la cantidad inicialmente aplicada y tras 25 días de estudio (vs 84% en el suelo no enmendado). Tras 25 días de incubación, los porcentajes de atrazina extraídos disminuyeron ligeramente, de un 42% a tiempo 0 a un 32% (extracto acuoso) y del 59% al 42% (extracto orgánico) (Figura 4.29 a). En el suelo P2 enmendado la recuperación de terbutilazina y de atrazina, es menor que en el suelo no enmendado, pudiéndose pensar en la formación de enlaces fuertes (bound

residuos) a los componentes orgánicos del suelo, lo cual se vería favorecido por la adición de enmiendas orgánicas al suelo, como sugieren Houot et al. (1998) y Navarro et al. (2003). No obstante, debido a la alta recuperación de ^{14}C durante todo el periodo de incubación (Figura 4.29), la causa más probable de la disminución de herbicida en los extractos de los suelos enmendados sea la degradación microbiológica de los herbicidas y la formación de metabolitos.

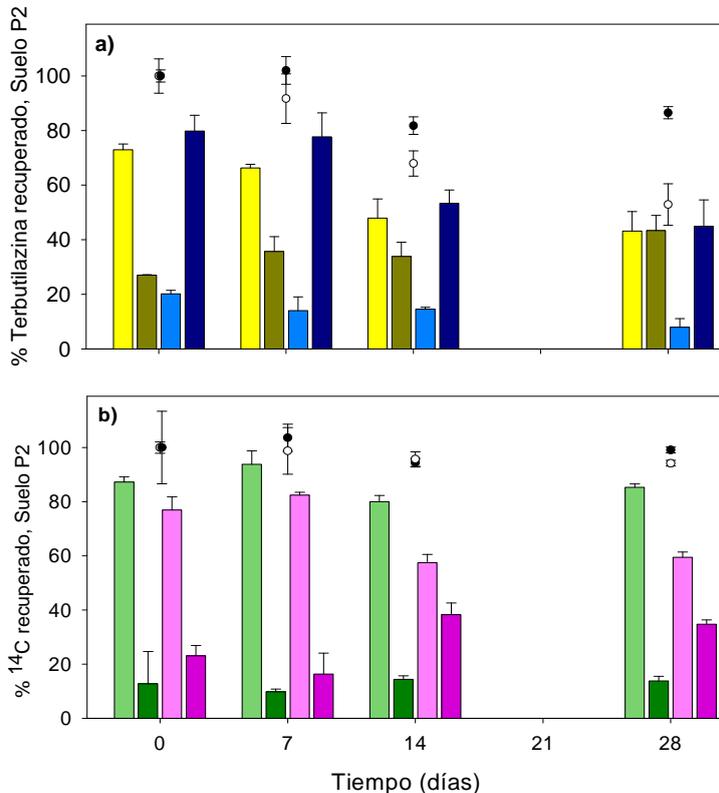


Figura 4.28 a) Porcentaje de terbutilazina extraído. ● Porcentaje total extraído en el suelo P2, ○ Porcentaje total extraído en el suelo (P2+AF)_L, ■ amarillo extracto acuoso del suelo P2, ■ verde oscuro extracto orgánico del suelo P2, ■ azul extracto acuoso del suelo (P2+AF)_L y ■ azul oscuro extracto orgánico del suelo (P2+AF)_L. b) Porcentaje total de ^{14}C terbutilazina recuperado del inicialmente aplicado ● en el suelo P2, ○ en el suelo (P2+AF)_L, ■ verde claro porcentaje extraído en el suelo P2, ■ verde oscuro porcentaje no extraíble en el suelo P2, ■ rosa porcentaje extraído en el suelo (P2+AF)_L y ■ magenta porcentaje no extraíble en el suelo (P2+AF)_L.

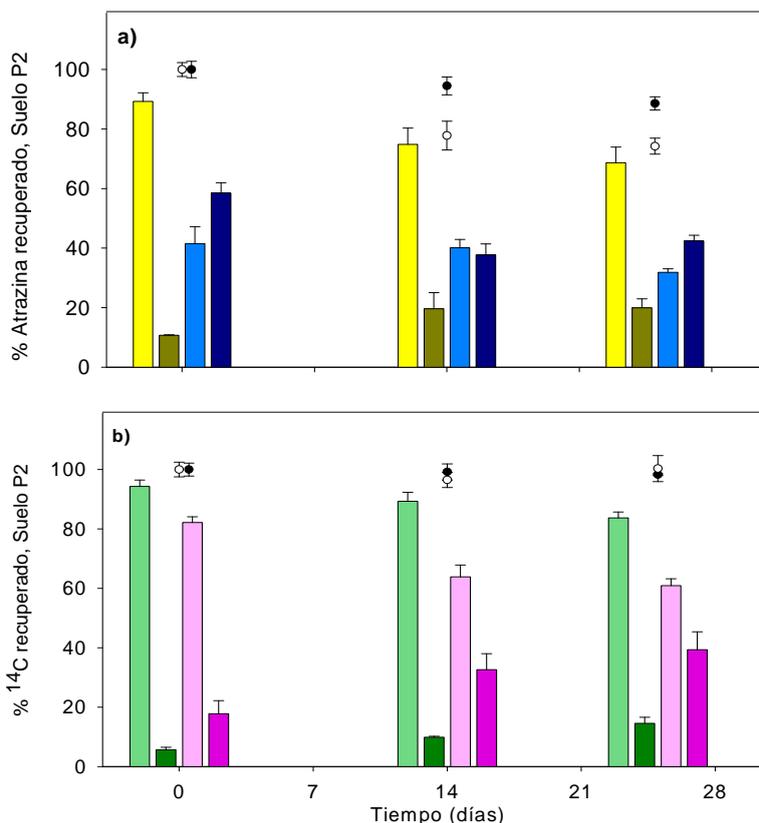


Figura 4.29 a) Porcentaje de atrazina extraído. ● Porcentaje total extraído en el suelo P2, ○ Porcentaje total extraído en el suelo (P2+AF)_L, ■ extracto acuoso del suelo P2, ■ extracto orgánico del suelo P2, ■ extracto acuoso del suelo (P2+AF)_L y ■ extracto orgánico del suelo (P2+AF)_L. b) Porcentaje total de ¹⁴C atrazina recuperado del inicialmente aplicado ● en el suelo P2, ○ en el suelo (P2+AF)_L, ■ porcentaje extraído en el suelo P2, ■ porcentaje no extraíble en el suelo P2, ■ porcentaje extraído en el suelo (P2+AF)_L y ■ porcentaje no extraíble en el suelo (P2+AF)_L

La cantidad total de atrazina extraída en el suelo MN enmendado con alperujo disminuyó, del 100% de la cantidad aplicada inicialmente al 84% tras 25 días de incubación. Por el contrario a lo observado en el suelo P2 enmendado con alperujo, en el suelo MN enmendado con el mismo residuo, la cantidad de atrazina extraída con disolvente acuoso no varía significativamente durante todo

el periodo de estudio, mientras la cantidad extraída con disolvente orgánico sí disminuyó con el aumento del tiempo de incubación, de 82% a 65% (Figura 4.30 a).

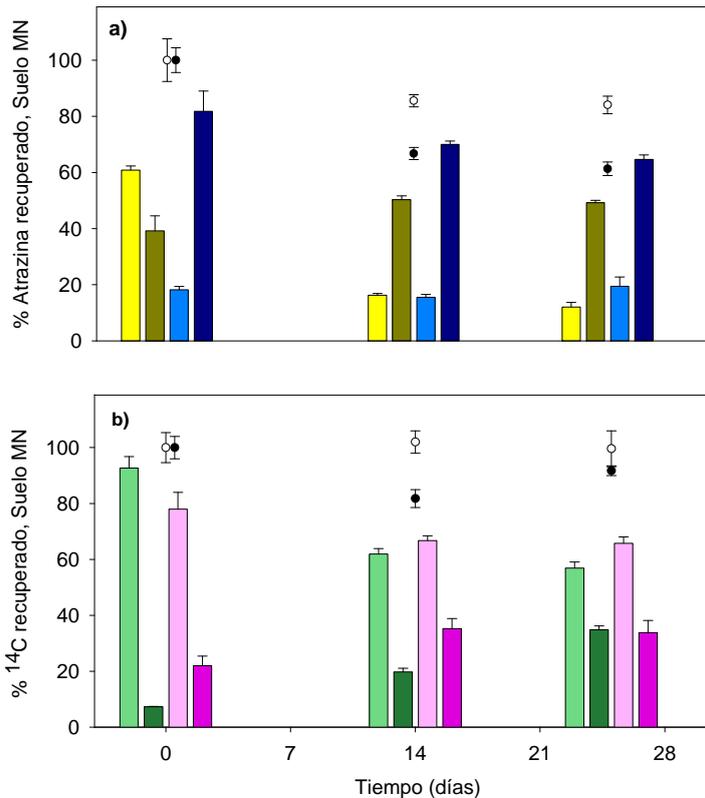


Figura 4.30 a) Porcentaje de atrazina extraído. ● Porcentaje total extraído en el suelo MN, ○ Porcentaje total extraído en el suelo (MN+AF)_L, ■ extracto acuoso del suelo MN, ■ extracto orgánico del suelo MN, ■ extracto acuoso del suelo (MN+AF)_L y ■ extracto orgánico del suelo (MN+AF)_L. b) Porcentaje total de ¹⁴C terbutilazina recuperado del inicialmente aplicado ● en el suelo MN, ○ en el suelo (MN+AF)_L, ■ porcentaje extraído en el suelo MN, ■ porcentaje no extraíble en el suelo MN, ■ porcentaje extraído en el suelo (MN+AF)_L y ■ porcentaje no extraíble en el suelo (MN+AF)_L.

El balance de masas de ¹⁴C de los herbicidas en los suelos estudiados es muy bueno, alcanzándose un 99.3% de promedio de recuperación total

(extracción acuosa + extracción orgánica + oxidado) de terbutilazina en el suelo P2 y de 97.2% en el suelo (P2+AF)_L (Figura 4.28 b). Para atrazina el promedio de recuperación fue de 99.2% en el suelo P2 (Figura 4.29 b), de 98.9% en el suelo (P2+AF)_L, 91.2% en el suelo MN y 100.5% en el suelo (MN+AF)_L (Figura 4.30 b). En el suelo P2 la cantidad de ¹⁴C terbutilazina extraída y oxidada (o fuertemente enlazada y por lo tanto no extraíble) no varía durante el estudio, el porcentaje de ¹⁴C terbutilazina extraído pasa de 87% a 85% en 28 días de incubación (Figura 4.28 b) y el porcentaje de ¹⁴C oxidado de 13% a 14% en el mismo tiempo. Sin embargo, en el suelo P2 enmendado con alperujo disminuye la cantidad de ¹⁴C terbutilazina extraída de 77% a tiempo 0 a 60% tras 28 días de incubación y aumenta la cantidad de ¹⁴C terbutilazina oxidada, de 23% a 35% en 28 días. En el caso de atrazina la cantidad de herbicida extraído disminuye con el tiempo de incubación en los suelos P2 y MN enmendados y no enmendados y aumenta con el tiempo de incubación la cantidad de ¹⁴C atrazina oxidada en los suelos estudiados. El porcentaje de ¹⁴C atrazina extraído disminuye ligeramente de 94% a 84% tras 25 días de incubación en el suelo P2 (Figura 4.29 b) y en el mismo suelo y durante el mismo tiempo de incubación el porcentaje de ¹⁴C oxidado aumenta levemente de 5.7% a 15%. En el mismo suelo pero enmendado con alperujo el porcentaje de ¹⁴C atrazina extraído disminuye de 82% a 61% en 25 días y el porcentaje de ¹⁴C atrazina oxidado aumenta de 18% a 39% en el mismo tiempo de incubación. En el suelo MN el porcentaje de ¹⁴C atrazina extraída disminuye de un 93% a tiempo 0 a 57% a los 25 días de haber aplicado el herbicida (Figura 4.30 b). El porcentaje de ¹⁴C atrazina oxidada aumenta de 7.3% a 35% después de 25 días de incubación. En el suelo MN enmendado con alperujo la disminución del porcentaje de ¹⁴C atrazina extraíble es más leve, del 78% a tiempo 0 al 66% tras

25 días de incubación y el aumento de ^{14}C atrazina oxidado en el mismo tiempo de incubación es de un 22% a un 34%.

Tabla 4.25. Coeficientes de adsorción K_d y K_{oc} calculados en suelos P2 y MN sin enmienda y enmendados con alperujo a distintos tiempos de incubación.

K_d (mL g^{-1})						
	Terbutilazina			Atrazina		
Días	P2	(P2+AF) _L	P2	(P2+AF) _L	MN	(MN+AF) _L
0	1.0 ± 0.0	10.7 ± 0.9	0.3 ± 0.0	3.9 ± 0.7	1.7 ± 0.3	11.6 ± 1.1
7	1.4 ± 0.3	12.1 ± 2.0	--	--	--	--
14	2.0 ± 0.6	10.0 ± 1.2	0.6 ± 0.0	2.6 ± 0.3	7.9 ± 0.2	11.7 ± 0.6
28*	2.8 ± 0.8	22.2 ± 0.5	0.9 ± 0.1	3.6 ± 0.2	10.7 ± 1.4	8.8 ± 1.5
K_{oc} (mL g^{-1})						
0	278 ± 7	1050 ± 86	83 ± 8	380 ± 69	113 ± 18	265 ± 26
7	389 ± 72	1189 ± 193	--	--	--	--
14	556 ± 157	975 ± 157	167 ± 0	250 ± 29	527 ± 11	266 ± 14
28*	778 ± 216	2174 ± 46	250 ± 16	353 ± 15	713 ± 93	201 ± 35

*25 días para atrazina

Los coeficientes de distribución de atrazina y terbutilazina (K_d), calculados a partir de las cantidades de herbicida en los extractos acuosos y orgánicos del suelo tras 0, 7, 14 y 28 días de incubación (terbutilazina) y 0, 14 y 25 días (atrazina) en los suelos P2 y MN, sin enmendar y enmendados con alperujo fresco, se muestran en la Tabla 4.25. Los coeficientes ajustados al contenido de carbono orgánico (K_{oc}) también se muestran en esta tabla. Excepto para atrazina en el suelo MN tras 25 días de incubación, en los suelos

enmendados los K_d y K_{oc} calculados son mayores que en los suelos no enmendados. Al igual que en los estudios previos de adsorción (sección 4.1) esta mayor adsorción se ha atribuido al incremento en C.O. tras la enmienda. En el caso del suelo MN, este aumento fue de 1.5% de C.O. en el suelo no enmendado a 4.36% en el suelo enmendado con alperujo fresco.

El aumento del tiempo de residencia de los herbicidas en los suelos no enmendados produce un aumento en los coeficientes K_d y K_{oc} . En el caso de terbutilazina en el suelo P2, K_d aumenta por un factor de 2.8 tras 4 semanas de incubación. En el mismo suelo el coeficiente K_d para atrazina aumenta por un factor de 3 en un periodo de 4 semanas y por un factor de 6.5 en el suelo MN después de 25 días de incubación. En los suelos enmendados, el coeficiente K_d de terbutilazina sí aumenta con el tiempo de incubación, sin embargo para atrazina no se observa este aumento. Esto último está, en parte, de acuerdo con los resultados obtenidos por Delgado Moreno et al. (2007), los cuales observaron un aumento en los valores de K_f de cuatro triazinas, incluida terbutilazina en suelos enmendados con residuos de almazara respecto al suelo no enmendado, pero cuando el suelo se incubaba por un periodo de 1 a 3 meses no observaron diferencias en la adsorción de los herbicidas en los suelos enmendados y no enmendados. Johannesen y Aamand (2003) encontraron un aumento en la adsorción de atrazina y de terbutilazina en suelos no enmendados con el aumento del tiempo de residencia, sin embargo, Menasseri et al. (2004) no observaron ningún aumento en la adsorción de dicamba en suelos enmendados y no enmendados con el aumento del tiempo de residencia.

De acuerdo con Dann et al. (2006) muchos modelos de transporte de plaguicidas usan los valores de K_d o de K_{oc} para describir la retención de los

plaguicidas en el suelo, haciéndose necesaria la evaluación de la adsorción de los plaguicidas en suelos, ya que según estos autores, pueden ser más importantes en la correcta simulación de la lixiviación de los plaguicidas los datos precisos de adsorción, que la propia elección del modelo de transporte. El efecto del envejecimiento también puede afectar a la clasificación de la movilidad de los plaguicidas en los suelos. Por ejemplo, según el factor de retraso (RF) que indica la movilidad relativa de un plaguicida para lixiviar a través del suelo a causa de la adsorción y reparto entre las fases líquidas y sólidas (Bernard et al., 2005), terbutilazina y atrazina podrían pasar de ser herbicidas moderadamente móviles a moderadamente inmóviles en los suelos no enmendados por efecto del envejecimiento. Por el contrario, el envejecimiento no tendría ningún efecto en el suelo MN enmendado.

4.4.2 Estudio de la biodisponibilidad mediante la bacteria *Pseudomonas* sp. cepa ADP

La bacteria *Pseudomonas* sp. cepa ADP se ha usado en estudios previos para determinar la biodisponibilidad de triazinas en suelos (Jacobsen et al., 2001 y Kristensen et al., 2001). La mineralización de atrazina y terbutilazina por *Pseudomonas* sp disminuye al aumentar la adsorción en el suelo (Jacobsen et al., 2001) y la biodisponibilidad de atrazina a *Pseudomonas* sp. disminuye con el aumento del tiempo de residencia del herbicida en el suelo (Kristensen et al., 2001). Para examinar la influencia que la materia orgánica tiene en la biodisponibilidad de herbicidas incubados, se añadió una suspensión de *Pseudomonas* sp. a suelos no enmendados y enmendados con alperujo. La cantidad de terbutilazina mineralizada por *Pseudomonas* sp. en el suelo P2 fue baja (6% de la inicialmente aplicada, al inicio del estudio y aumentó hasta un

11% tras 28 días de incubación) (Tabla 4.26). Si bien la bacteria *Pseudomonas* sp cepa ADP se ha visto que es menos eficiente en la mineralización de terbutilazina que en la de atrazina (Jacobsen et al., 2001; Dorado et al., 2005), teniendo en cuenta la cantidad de ^{14}C terbutilazina en el extracto acuoso (> 70%) (Figura 4.28) cabía esperar mayor mineralización del herbicida. Lo mismo sucede para el herbicida atrazina; baja mineralización en el suelo P2 a tiempo 0, sin embargo al final del periodo de incubación aumenta la cantidad de atrazina mineralizado hasta niveles comparables a resultados de otros autores como Barriuso et al. (2004); Johannesen y Aamand (2003); Kristensen et al. (2001) y Regitano et al. (2006). En el suelo MN el porcentaje de atrazina mineralizado aumenta con el tiempo de incubación, cuando el suelo se inocula con 1 mL de la suspensión de bacterias. En los suelos enmendados con alperujo, la mineralización de los herbicidas es inferior al 1% respecto a la cantidad inicialmente aplicada, excepto para atrazina en el suelo (P2+AF)_L después de 10 y 26 días de incubación. Estos resultados indican que el alperujo usado como enmienda orgánica del suelo reduce la biodisponibilidad y degradación de los herbicidas atrazina y terbutilazina. Masaphy y Mandelbaum (1997) observaron una disminución en la mineralización de atrazina en suelos irrigados con aguas residuales, en comparación con suelos no irrigados y atribuyeron esta disminución en la mineralización a una combinación de factores como el aumento en la adsorción de atrazina a la M.O. del suelo con el tiempo de residencia y el aumento de N del suelo por la irrigación con aguas residuales.

La baja tasa de mineralización de atrazina por *Pseudomonas* sp cepa ADP que hemos observado puede deberse al uso preferente de los microorganismos de fuentes N inorgánico del suelo, en vez del N de los herbicidas, reduciendo por tanto la degradación de las triazinas. García-

González et al. (2003) en estudios de laboratorio observaron que el N inorgánico inhibe la propiedad de *Pseudomonas* sp cepa ADP de degradar atrazina. Es posible que una vez que se agotaran las fuentes inorgánicas de N por la actividad microbiana durante el periodo de incubación, especialmente en los suelos no enmendados, *Pseudomonas* sp cepa ADP utilizaría a las triazinas como fuente de N, mientras que en los suelos enmendados, debido a la elevada relación C/N de la enmienda, el N inorgánico no se agotaría durante el periodo de incubación, resultando en una mineralización de las triazinas muy baja.

Tabla 4.26. Porcentaje de ^{14}C herbicida mineralizado por *Pseudomonas* sp. cepa ADP en los suelos P2 y MN no enmendados y enmendados con alperujo durante un periodo de incubación de 28 días.

Herbicida	Suelo	Densidad del inóculo (organismos g^{-1})	% de herbicida mineralizado respecto al aplicado			
			T = 0 días	T = 7-10 días*	T = 14-17 días†	T = 26-28 días‡
Terbutilazina	P2	1×10^8	5.7 ± 1.6	< 1	5.9 ± 0.5	11.1 ± 3.1
	(P2+AF) _L	1×10^8	< 1	< 1	1.0 ± 0.5	< 1
Atrazina	P2	1×10^8	5.3 ± 1.4	34.4 ± 11.2	--	--
	P2	2×10^8	8.2 ± 1.6	12.0 ± 2.5	--	30.8 ± 11.3
	(P2+AF) _L	1×10^8	< 1	1.7 ± 0.9	--	--
	(P2+AF) _L	2×10^8	< 1	3.5 ± 1.4	--	25.2 ± 9.8
	MN	1×10^8	13.3 ± 0.3	29.0 ± 12.6	23.1 ± 2.6	--
	MN	2×10^8	18.3 ± 5.1	--	19.0 ± 11.8	15.4 ± 5.0
	(MN+AF) _L	1×10^8	< 1	< 1	< 1	--
	(MN+AF) _L	2×10^8	< 1	--	< 1	< 1

* T = 7 d terbutilazina, T = 10 d atrazina P2 y (P2+AF)_L, T = 9 d atrazina MN y (MN+AF)_L

†T = 14 d terbutilazina, T = 17 d atrazina

‡T = 28 d terbutilazina, T = 26 d atrazina

Los resultados obtenidos en estos estudios indican que el proceso de biodisponibilidad de las triazinas en suelos envejecidos es difícil de caracterizar. No hemos encontrado la clara relación encontrada por Barriuso et al. (2004) entre las cantidades de residuos ^{14}C en los extractos acuosos y orgánicos y la biodisponibilidad de atrazina, debido a la baja mineralización encontrada en nuestro estudio en comparación con la gran cantidad de residuo ^{14}C extraíble. Por el contrario, el aumento de los coeficientes de distribución y de los porcentajes de herbicida mineralizados con el tiempo de residencia del herbicida en el suelo indica que, salvo en el caso de atrazina en los suelos enmendados, el proceso de adsorción no es el único proceso implicado en la biodisponibilidad. Estos resultados parecen indicar que el N inorgánico del suelo puede ser un factor igualmente importante, tanto en el aumento de la mineralización con el tiempo de residencia del herbicida en el suelo como en la menor mineralización de los herbicidas en los suelos enmendados.

4.5 Estudios de persistencia de diurón y terbutilazina en parcelas experimentales

Durante los años 2005 al 2007 se ha estudiado la influencia de la adición de alperujo y alperujo compostado en la persistencia de los herbicidas diurón y terbutilazina en el olivar experimental del centro IFAPA Venta del Llano de Mengíbar (Jaén). Asimismo, se ha estudiado la influencia de la aplicación continuada de estos residuos en aspectos agronómicos del cultivo como la producción.

Tabla 4.27. Cantidad de diurón extraído (expresado en $\mu\text{g g}^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.

Días	Profundidad	Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
		Media	Error	Media	Error	Media	Error
7	0-10	0.202 ^b	0.025	0.553 ^a	0.088	0.146 ^b	0.022
	10-20	0.102 ^b	0.009	0.299 ^a	0.073	0.192 ^{a/b}	0.038
	20-30	0.133 ^b	0.023	0.279 ^a	0.062	0.093 ^b	0.013
14	0-10	0.092 ^b	0.018	0.538 ^a	0.087	0.199 ^b	0.036
	10-20	0.066 ^b	0.010	0.286 ^a	0.056	0.104 ^b	0.017
	20-30	0.050 ^b	0.009	0.111 ^a	0.025	0.070 ^{a/b}	0.013
21	0-10	0.095 ^b	0.010	0.167 ^a	0.019	0.101 ^b	0.019
	10-20	0.034 ^b	0.004	0.120 ^a	0.024	0.130 ^a	0.025
	20-30	0.027 ^b	0.005	0.052 ^a	0.007	0.050 ^a	0.006
49	0-10	0.037 ^b	0.005	0.058 ^b	0.007	0.100 ^a	0.016
	10-20	0.020 ^b	0.003	0.027 ^b	0.003	0.076 ^a	0.016
	20-30	0.010 ^c	0.001	0.035 ^b	0.006	0.075 ^a	0.011
70	0-10	0.018 ^b	0.002	0.069 ^a	0.015	0.041 ^b	0.006
	10-20	0.010 ^b	0.001	0.039 ^a	0.009	0.015 ^b	0.001
	20-30	0.006 ^b	<0.001	0.052 ^a	0.014	0.018 ^b	0.003
117	0-10	0.009 ^b	0.001	0.015 ^a	0.002	0.017 ^a	0.002
	10-20	0.004 ^c	<0.001	0.011 ^b	0.002	0.017 ^a	0.002
	20-30	0.004 ^b	<0.001	0.008 ^a	0.001	0.008 ^a	0.002

Nota: Distintas letras en la misma fila indica diferencias significativas ($p < 0.05$) para los distintos tratamientos (sin enmienda o enmienda) del suelo, para un mismo día y la misma profundidad.

Tras la aplicación de los herbicidas el 5 de Octubre de 2005 y el 20 de Octubre de 2006, se han tomado muestras de suelo periódicamente a diferentes profundidades: de 0 a 10, de 10 a 20 y de 20 a 30 cm. Una vez tomadas las muestras de suelo, se congelaron para su posterior extracción y análisis. Los extractos se analizaron por HPLC y los resultados obtenidos de este análisis se trataron con el programa estadístico SPSS para Windows, v. 15.0.

En la Tabla 4.27 se muestran los valores, expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$, de diurón extraídos de las muestras de suelos tomadas a distintos días desde la aplicación de los herbicidas y a distintas profundidades de la primera campaña en la que se comenzó el estudio (2005/06). Dichos valores se han representado también en la Figura 4.3 1 a). Las cantidades más altas corresponden a los primeros cm de suelo, lo cual corrobora la baja movilidad de diurón observada en los ensayos de lixiviación. Por otro lado, el que encontremos cantidades significativas de diurón a profundidades de 20-30 cm es indicativo de las diferencias entre los ensayos de lixiviación en columnas de suelo empaquetadas manualmente y los ensayos en condiciones reales de campo. En estos últimos, el suelo mantiene su estructura original. El alto contenido en arcilla del suelo puede dar lugar a un flujo preferencial del herbicida. El fenómeno de flujo preferencial es responsable de que moléculas altamente hidrofóbicas se detecten en aguas subterráneas (Kodesova et al., 2008; Cuevas et al., 2008 y Jarvis 2007). Esto se ve claramente ilustrado en la Figura 4.32. Sánchez et al. (2006) estudiaron el efecto de 2 enmiendas orgánicas: un biosólido o lodo de depuradora y un surfactante catiónico y la mezcla de ambos en la movilidad del insecticida metidatió en comparación con el suelo control (sin enmienda) en parcelas experimentales. La movilidad del insecticida se produce sólo en las capas superficiales del suelo, sin embargo las altas concentraciones detectadas

en los lixiviados de las capas más profundas lo atribuyeron a los procesos de flujo preferencial.

De forma general, se observan cantidades significativamente menores en las muestras de suelo no enmendado en comparación con las muestras de suelo de las parcelas enmendadas con alperujo fresco. Las diferencias no son tan claras en el caso de las parcelas enmendadas con alperujo compostado. En este caso, tan sólo encontramos cantidades de diurón significativamente más altas en comparación con el suelo no enmendado en los suelos muestreados los días 21, 49 y 117 tras la aplicación del herbicida. En estos casos, al igual que en el caso de las parcelas enmendadas con alperujo fresco, las cantidades son significativamente mayores en el caso del suelo enmendado con alperujo compostado. Esto puede ser debido a que en años anteriores, desde el año 2001 al 2005 se había aplicado alperujo fresco a una dosis de $17.920 \text{ kg ha}^{-1}$ cada año a estas parcelas, mientras que por el contrario, era la primera vez que se aplicaba alperujo compostado al suelo a las parcelas muestreadas, y probablemente será necesario que transcurra más tiempo para poder observar claramente los efectos del alperujo compostado en la cantidad de herbicida retenido en el suelo. Las mayores cantidades de diurón en el suelo enmendado con alperujo estarían de acuerdo con la mayor adsorción de diurón tras la enmienda observada en los estudios de adsorción (Tablas 4.1 y 4.2), con la mayor persistencia observada en los estudios de disipación (Tabla 4.13) y con la menor mineralización del herbicida (Tabla 4.15).

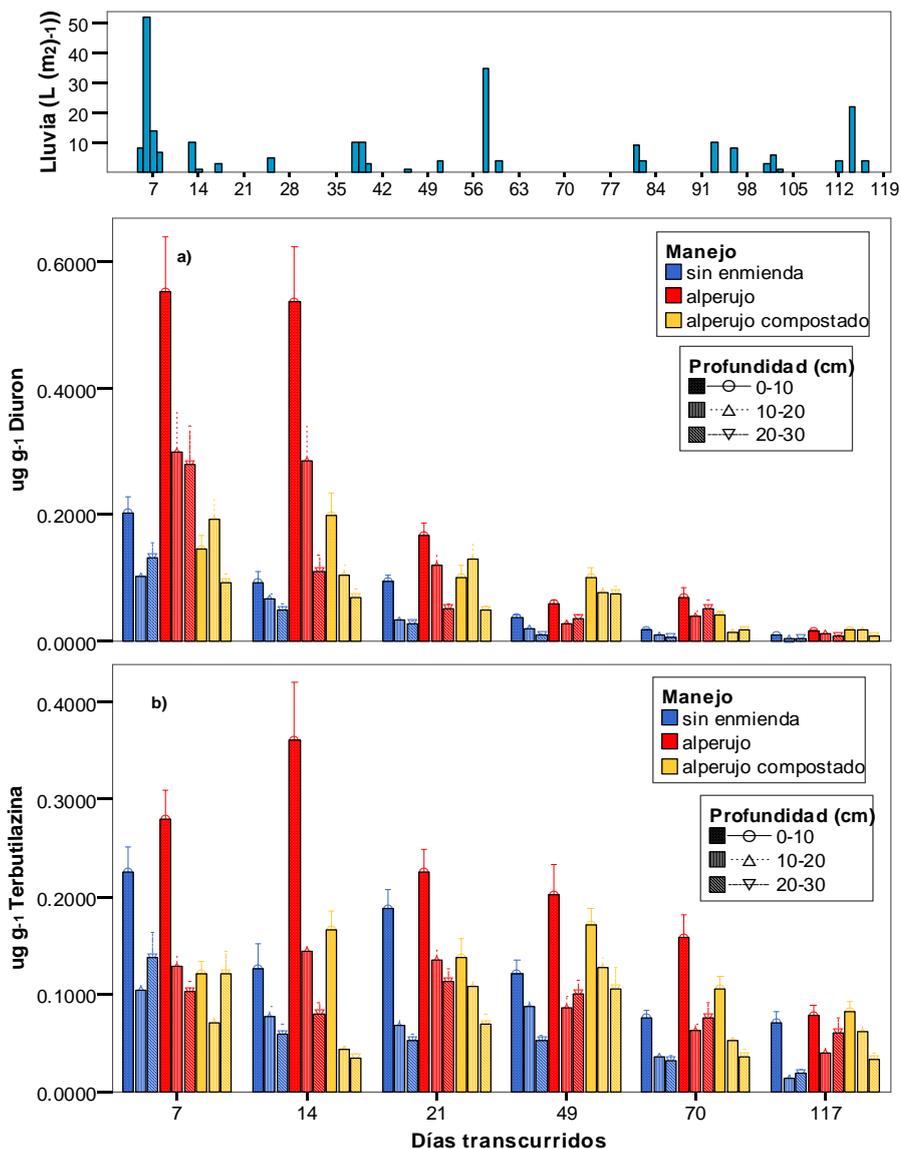


Figura 4.31. Datos de pluviometría y cantidad de herbicida a) diuron y b) terbutilazina extraído de las muestras de suelo del olivar experimental de Mengíbar (Jaén) a distintos días desde la aplicación del herbicida y a distintas profundidades en la campaña 05/06.



Figura 4.32. Fotografía del perfil del suelo del olivar experimental de Mengíbar (Jaén) donde pueden apreciarse grietas, responsables del fenómeno de flujo preferencial.

Tabla 4.28. Cantidad de DCPMU extraído (expresado en $\mu\text{g g}^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.

DCPMU		Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
Días	Profundidad	Media	Error	Media	Error	Media	Error
70	0-10	0.023 ^{a/b}	0.002	0.030 ^a	0.004	0.020 ^b	0.002
	10-20	0.011 ^b	0.002	0.017 ^a	0.001	0.012 ^b	0.001
	20-30	0.006 ^b	0.001	0.016 ^a	0.002	0.008 ^b	0.001
117	0-10	0.014	0.002	0.010	0.001	0.013	0.002
	10-20	0.004 ^b	0.001	0.004 ^b	<0.001	0.014 ^a	0.003
	20-30	0.004	<0.001	0.006	0.001	0.005	0.001

Nota: Distintas letras en la misma fila indica diferencias significativas ($p < 0.05$) para los distintos tratamientos (sin enmienda o enmienda) del suelo, para un mismo día y la misma profundidad.

En los dos últimos muestreos desde la aplicación de diurón (70 y 117 días), comienza a observarse un metabolito de diurón, DCPMU, el cual se ha cuantificado. En general, los valores de DCPMU son significativamente más altos en los primeros 10 cm del suelo (Tabla 4.28), como ocurre con el herbicida diurón, lo cual nos indica también una baja movilidad del metabolito. Stork et al. (2008) detectaron el metabolito DCPMU dos días después de la aplicación de diurón y en los 26-7 días que duró el estudio sobre la dinámica medioambiental de diurón en una plantación comercial de caña de azúcar, encontraron un porcentaje igual o superior al 64% del total de DCPMU en los primeros 15 cm del suelo. En este estudio de persistencia, a diferencia de los ensayos de mineralización en los que sólo lo detectamos DCPMU en los suelos enmendados (Tabla 4.15), no encontramos diferencias significativas entre suelos enmendados y suelo sin enmendar.

Los valores de terbutilazina extraídos de los suelos del olivar experimental de Mengíbar durante la campaña 05/06 se hallan expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$ en la tabla 4.29 y se han representado en la figura 4.31 b). Los mayores valores se han encontrado en los 10 primeros cm del suelo, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Calderón et al. (2004) que estudiaron la persistencia de herbicidas del grupo de las triazinas en suelos dedicados al cultivo de especies arbóreas para la reforestación de bosques y también detectaron las mayores cantidades de herbicidas en los 10 cm más superficiales del suelo. Por el contrario, Graber et al. (2001) obtuvieron un aumento en la movilidad de triazinas cuando al suelo de las parcelas se les aplicaban lodos de depuradora como enmienda orgánica en comparación con el suelo no enmendado. Este resultado lo atribuyeron al desarrollo de vías de flujo preferencial alrededor de las superficies hidrofóbicas de los lodos. En el caso de

terbutilazina y en menor medida de atrazina, lo achacaron a la formación de complejos con la M.O. soluble, coloidal y en suspensión, que se liberarían por la degradación y descomposición de la enmienda. La movilidad del herbicida napropamida en la zona no saturada del suelo también se vio favorecida por la aplicación de residuos vegetales como enmienda (Antonius et al., 2005), lo cual sería atribuido a la formación de complejos del herbicida con la M.O. soluble, que disminuye la afinidad de adsorción del herbicida a la fase sólida o bien a la disminución de la densidad del suelo y aumento del espacio entre las partículas del suelo tras la adición de la enmienda. No se observan diferencias significativas entre los valores de terbutilazina extraídos del suelo sin enmienda y el suelo enmendado con alperujo en la primera toma de las muestras. A los 7 días desde la aplicación del herbicida sí se comienzan a observar cantidades de terbutilazina significativamente mayores en el suelo enmendado con alperujo fresco que en el suelo no enmendado. En el suelo enmendado con alperujo compostado encontramos cantidades significativamente menores en comparación con el suelo enmendado con alperujo fresco. Este resultado inesperado lo atribuimos a la heterogeneidad de las muestras de suelo en los ensayos de campo. Con el transcurso del tiempo comienzan a observarse diferencias entre los dos tratamientos del suelo. Al igual que ocurría con diurón, se observan de forma general cantidades de terbutilazina significativamente más altas en suelos enmendados con alperujo fresco respecto al suelo sin enmienda. El efecto de la enmienda con alperujo compostado tampoco se ve tan claro como en el caso del alperujo fresco. Tan sólo en los últimos muestreos (49, 70 y 117 días después de la aplicación del herbicida) encontramos cantidades significativamente más altas de terbutilazina en los suelos enmendados con alperujo compostado, y en general a profundidades superiores a los 10 cm de suelo (Tabla 4.29).

Tabla 4.29. Cantidad de terbutilazina extraído (expresado en $\mu\text{g g}^{-1}$) de las muestras de suelo tomadas en Mengíbar (Jaén) durante la campaña 05/06.

Terbutilazina		Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
Días	Profundidad	Media	Error	Media	Error	Media	Error
7	0-10	0.225 ^a	0.027	0.280 ^a	0.030	0.121 ^b	0.013
	10-20	0.104 ^a	0.008	0.129 ^a	0.015	0.071 ^b	0.008
	20-30	0.138	0.026	0.104	0.010	0.121	0.023
14	0-10	0.127 ^b	0.025	0.361 ^a	0.059	0.166 ^b	0.020
	10-20	0.077 ^b	0.011	0.144 ^a	0.011	0.044 ^c	0.003
	20-30	0.059 ^{a/b}	0.011	0.080 ^a	0.011	0.035 ^b	0.003
21	0-10	0.188 ^{a/b}	0.020	0.226 ^a	0.023	0.138 ^b	0.019
	10-20	0.069 ^b	0.007	0.136 ^a	0.013	0.108 ^a	0.011
	20-30	0.052 ^b	0.007	0.113 ^a	0.013	0.070 ^b	0.010
49	0-10	0.121 ^b	0.014	0.202 ^a	0.031	0.171 ^{a/b}	0.018
	10-20	0.088 ^b	0.009	0.087 ^b	0.011	0.128 ^a	0.012
	20-30	0.053 ^b	0.005	0.101 ^a	0.013	0.105 ^a	0.023
70	0-10	0.076 ^b	0.007	0.159 ^a	0.023	0.106 ^b	0.012
	10-20	0.036 ^b	0.003	0.063 ^a	0.007	0.053 ^a	0.005
	20-30	0.033 ^b	0.005	0.077 ^a	0.014	0.037 ^b	0.007
117	0-10	0.070	0.013	0.079	0.010	0.083	0.010
	10-20	0.015 ^b	0.002	0.040 ^a	0.008	0.062 ^a	0.011
	20-30	0.020 ^b	0.001	0.061 ^a	0.015	0.034 ^b	0.006

Nota: Distintas letras en la misma fila indica diferencias significativas ($p < 0.05$) para los distintos tratamientos (sin enmienda o enmienda) del suelo, para un mismo día y la misma profundidad.

Cuando comparamos las cantidades de terbutilazina extraídas en la campaña 05/06 con las de diurón (Tablas 4.29 y 4.27), observamos cantidades similares en las primeras tomas para las parcelas no enmendadas o enmendadas con alperujo compostado. En cambio, en las parcelas enmendadas con alperujo fresco la cantidad de diurón es mayor que la cantidad de terbutilazina. Los estudios de adsorción de los dos herbicidas realizados en el laboratorio mostraron mayor adsorción de diurón que de terbutilazina en el suelo no enmendado y enmendado con alperujo fresco en el campo (Tablas 4.2 y 4.6).

Por el contrario, cuando el suelo se enmendó con alperujo fresco en el laboratorio, la adsorción de terbutilazina fue mayor que la de diurón y no se observaron diferencias significativas en la adsorción de diurón y de terbutilazina en el suelo enmendado con compost de alperujo en el laboratorio. A medida que aumenta el tiempo desde la aplicación del herbicida, las cantidades extraídas de terbutilazina son mayores que las de diurón, a todas las profundidades y en todos los tratamientos. No obstante, en los estudios de disipación realizados en el laboratorio se obtuvo mayor persistencia de diurón que de terbutilazina en el suelo no enmendado, ligeramente superior en el suelo enmendado con alperujo fresco en el campo y con alperujo compostado en el laboratorio y no se observaron diferencias significativas en la persistencia de los dos herbicidas cuando se aplicó alperujo fresco en el laboratorio (Tablas 4.13 y 4.14). De acuerdo con Beulke et al. (2000) y Müller et al. (2003) no es válido considerar que la habilidad de un suelo para degradar a un plaguicida en condiciones naturales en el campo se pueda caracterizar por los valores de vida media calculados por ensayos de laboratorio, debido a las diferencias entre los valores medidos y los simulados. Estas diferencias pueden atribuirse a que los suelos, antes de ser utilizados en el laboratorio se someten a una serie de procesos (secado, tamizado, mezclado,...), los cuales pueden afectar a las propiedades biológicas, físicas e incluso químicas de los suelos. Los estudios de degradación que se realizan en el laboratorio se realizan en condiciones estáticas, distintas de las condiciones de flujos dinámicos que se dan en el campo (Guo y Wagenet, 1999; Müller et al., 2003). También hay que considerar que la aplicación de los plaguicidas en el campo se realiza normalmente cuando los suelos están cultivados, la rizoesfera de las plantas puede aumentar la degradación de los xenobióticos y los exudados de las raíces servir de fuente de alimentación a los microorganismos del suelo. Por el contrario, en los estudios de laboratorio no se

añade ningún sustrato a los suelos que proporcione alimentos a los microorganismos, con lo cual disminuye la masa microbiana durante el periodo de incubación, dando lugar a una menor velocidad de degradación de los plaguicidas con el tiempo y produciendo una sobreestimación de los valores de vida media. Otra diferencia a destacar entre los estudios de laboratorio y de campo son las condiciones de temperatura y humedad, más constantes en el laboratorio. Existen trabajos en los que se ha estudiado el efecto de la temperatura y contenido en humedad del suelo en la degradación de plaguicidas, por ejemplo el aumento de la temperatura produce un aumento en la degradación de 1,3-dicloropropeno (Dungan et al., 2001) y del herbicida cloransulam-metilo (Cupples et al., 2000). El contenido en humedad no afectó a la degradación de 1,3-dicloropropeno y la mineralización de cloransulam-metilo aumentó con el aumento de la humedad en sólo uno de los dos suelos estudiados, atribuyendo Cupples et al. (2000) este resultado al mayor acceso de los microorganismos a los plaguicidas con el aumento de la humedad. Ghadiri et al. (1995) también estudiaron el efecto de la humedad y la temperatura en la degradación de plaguicidas organoclorados, obteniendo una degradación más lenta en las condiciones de menor contenido en humedad del suelo, por menor actividad microbiana en el suelo más seco o por efectos de desecación. Respecto a la temperatura, la degradación microbiana de aldrín y dialdrín fue mayor a una temperatura constante de 30° C que a las temperaturas de las condiciones externas, con mayores fluctuaciones e inferior a 30°C.

En la Tabla 4.30 se pueden observar los valores de diurón extraídos durante la campaña 2006/2007, los cuales también se han representado en la Figura 4.33 a. En este segundo ensayo de campo las diferencias se ven aún más claras. Existen unas cantidades de diurón significativamente más altas en los

suelos enmendados con alperujo fresco cuando se comparan con los suelos tomados de las parcelas sin enmendar. El efecto de la enmienda en las cantidades de diurón extraídas a diferente profundidad en las parcelas enmendadas con alperujo com postado también es mucho más claro en este segundo año tras la adición de la enmienda: a partir del día 10 tras la aplicación del herbicida las cantidades de diurón son significativamente más altas en los suelos de las parcelas enmendadas con alperujo compostado que en los suelos no enmendados.

Tabla 4.30. Cantidad de diurón (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraído de las muestras de campo durante la temporada 06/07.

Días	Diurón Profundidad (cm)	Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
		$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error
0	0-10	0.407 ^b	0.029	0.814 ^a	0.115	0.262 ^b	0.039
	10-20	0.171 ^b	0.013	0.317 ^a	0.037	0.188 ^b	0.025
	20-30	0.130 ^b	0.010	0.206 ^a	0.036	0.097 ^b	0.018
10	0-10	0.525 ^b	0.035	1.490 ^a	0.175	1.324 ^a	0.205
	10-20	0.302 ^b	0.025	0.939 ^a	0.122	0.655 ^c	0.115
	20-30	0.132 ^b	0.010	0.485 ^a	0.065	0.250 ^b	0.035
52	0-10	0.131 ^c	0.007	0.241 ^a	0.022	0.184 ^b	0.019
	10-20	0.086 ^b	0.005	0.141 ^a	0.017	0.143 ^a	0.015
	20-30	0.039 ^b	0.003	0.086 ^a	0.010	0.066 ^a	0.009
82	0-10	0.093	0.006	0.125	0.020	0.132	0.014
	10-20	0.088 ^b	0.007	0.074 ^b	0.013	0.134 ^a	0.015
	20-30	0.060 ^a	0.005	0.021 ^b	0.004	0.079 ^a	0.011
111	0-10	0.046 ^b	0.003	0.106 ^a	0.011	0.123 ^a	0.016
	10-20	0.026 ^b	0.002	0.036 ^b	0.005	0.057 ^a	0.009
	20-30	0.015 ^b	0.002	0.032 ^a	0.005	0.032 ^a	0.005
144	0-10	0.037 ^c	0.002	0.066 ^b	0.009	0.092 ^a	0.010
	10-20	0.019 ^b	0.001	0.048 ^a	0.007	0.043 ^a	0.005
	20-30	0.009 ^c	0.001	0.016 ^b	0.002	0.022 ^a	0.002
181	0-10	0.016 ^b	0.001	0.054 ^a	0.008	0.043 ^a	0.004
	10-20	0.011 ^b	0.001	0.028 ^a	0.005	0.023 ^a	0.002
	20-30	0.008 ^c	<0.001	0.015 ^b	0.002	0.022 ^a	0.002

Las distintas letras de los superíndices en la misma fila, indican diferencias significativas en los valores de diurón (tipo de enmienda aplicada) extraídos para cada día y cada profundidad (Test de Duncan, $p < 0.05$).

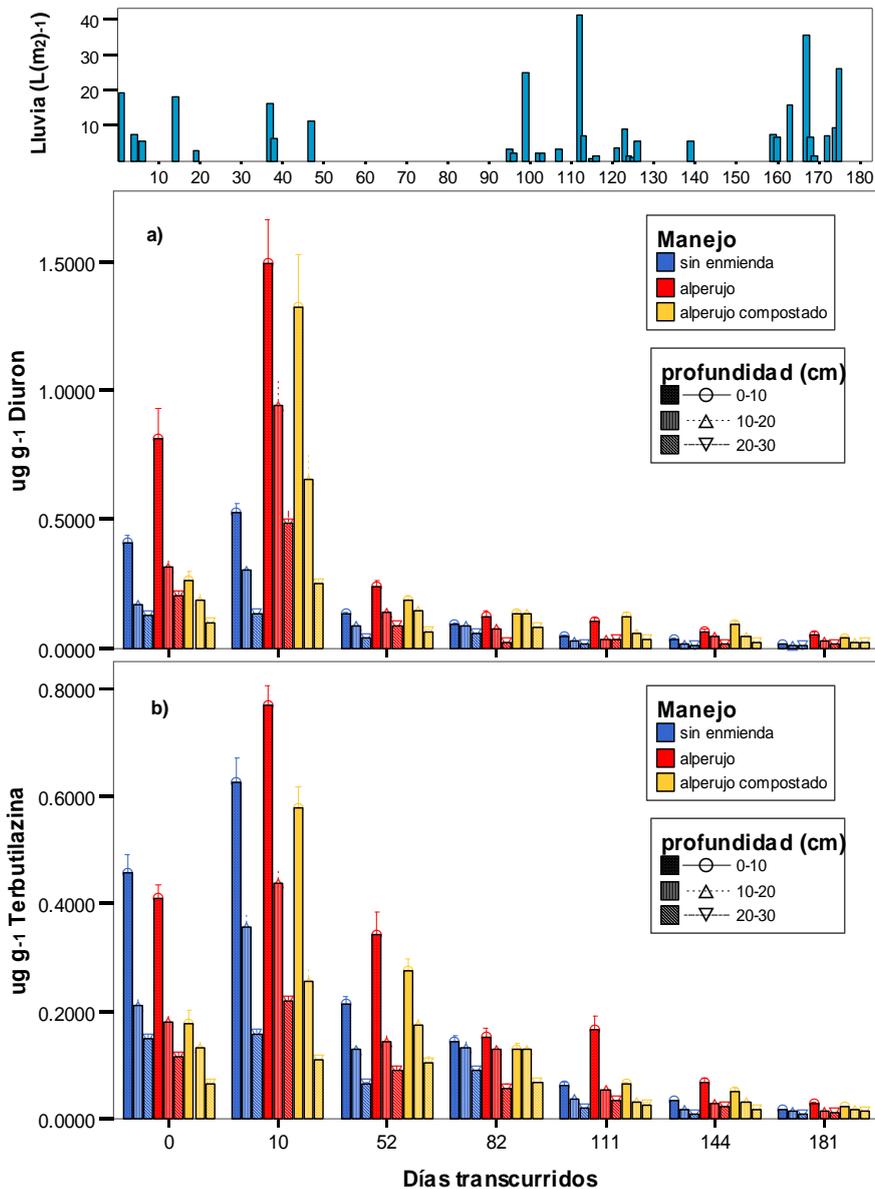


Figura 4.33. Datos de pluviometría y cantidad de herbicida a) diuron y b) terbutilazina extraído de las muestras de suelo de cada subparcela del olivar experimental de Mengíbar, tomadas a distintos días desde la aplicación del herbicida y a distinta profundidad, durante la campaña 06/07.

Tabla 4.31. Cantidad de DCPMU (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraído de las muestras de campo durante la temporada 06/07.

DCPMU ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
Días	Profundidad (cm)	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error
52	0-10	0.065 ^a	0.004	0.071 ^a	0.009	0.044 ^b	0.004
	10-20	0.033 ^a	0.002	0.028 ^{a/b}	0.003	0.023 ^b	0.003
	20-30	0.017 ^a	0.002	0.022 ^a	0.003	0.009 ^b	0.001
82	0-10	0.080 ^a	0.005	0.052 ^b	0.003	0.047 ^b	0.003
	10-20	0.061 ^a	0.005	0.048 ^b	0.005	0.039 ^b	0.004
	20-30	0.037 ^a	0.004	0.016 ^b	0.002	0.017 ^b	0.001
111	0-10	0.050 ^b	0.003	0.063 ^a	0.004	0.054 ^{a/b}	0.003
	10-20	0.029 ^a	0.002	0.029 ^a	0.002	0.021 ^b	0.001
	20-30	0.015	0.001	0.018	0.001	0.016	0.002
144	0-10	0.033 ^b	0.002	0.038 ^b	0.004	0.061 ^a	0.003
	10-20	0.020 ^b	0.001	0.030 ^a	0.004	0.029 ^a	0.001
	20-30	0.010 ^b	0.001	0.019 ^a	0.002	0.017 ^a	0.002
181	0-10	0.027 ^a	0.001	0.023 ^b	0.001	0.020 ^b	0.001
	10-20	0.017 ^a	0.001	0.013 ^b	0.001	0.014 ^b	0.001
	20-30	0.012 ^a	<0.001	0.008 ^b	0.001	0.010 ^a	0.001

Las distintas letras de los superíndices en la misma fila, indican diferencias significativas en los valores de diurón (tipo de enmienda aplicada) extraídos para cada día y cada profundidad (Test de Duncan, $p < 0.05$).

En la Tabla 4.31 se muestran los valores del principal metabolito de diurón, DCPMU que comienza a detectarse en este segundo ensayo de campo a partir de los 52 días de la aplicación del herbicida, es decir, casi 20 días antes que en el primer ensayo. Tras 52 días desde la aplicación del herbicida no hay diferencias significativas en los valores de DCPMU en el suelo de las parcelas no enmendadas y enmendadas con alperujo fresco y son superiores a los valores de DCPMU extraídos de las parcelas enmendadas con alperujo compostado. A los 82 días son mayores las cantidades de DCPMU extraídas del suelo no enmendado y no hay diferencias significativas en los valores de DCPMU correspondientes a las parcelas enmendadas con alperujo y con alperujo

compostado. No observándose una tendencia clara en los últimos días. Si comparamos los valores de DCPMU de los días 70 y 117 de la campaña 05/06 con los valores de los días 82 y 111 de la campaña 06/07 respectivamente, observamos que los valores son mayores en la segunda temporada de estudio. Podría pensarse en una aceleración de la degradación de diurón por la aplicación repetitiva del herbicida diurón, pero en la temporada 06/07 las cantidades de diurón detectadas son también mayores que en la campaña 05/06 y de acuerdo con Rouchaud et al. (2000) la aceleración de la biodegradación de diurón tras 12 años de aplicación repetitiva es moderada.

Tabla 4.32. Cantidad de terbutilazina (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) extraída de las muestras de campo durante la temporada 06/07.

Días	Terbutilazina Profundidad (cm)	Sin enmienda		Alperujo		Alperujo compostado	
		$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error	$\mu\text{g g}^{-1}$	Error
0	0-10	0.458 ^a	0.032	0.409 ^a	0.026	0.176 ^b	0.025
	10-20	0.210 ^a	0.017	0.180 ^{a/b}	0.016	0.131 ^b	0.021
	20-30	0.148 ^a	0.010	0.115 ^b	0.012	0.065 ^c	0.011
10	0-10	0.626 ^b	0.045	0.769 ^a	0.034	0.577 ^b	0.041
	10-20	0.356 ^b	0.034	0.438 ^a	0.025	0.254 ^c	0.025
	20-30	0.156 ^b	0.013	0.217 ^a	0.014	0.109 ^c	0.010
52	0-10	0.214 ^b	0.013	0.341 ^a	0.043	0.274 ^{a/b}	0.023
	10-20	0.128	0.007	0.143	0.015	0.173	0.024
	20-30	0.063 ^b	0.004	0.088 ^{a/b}	0.011	0.102 ^a	0.013
82	0-10	0.142	0.012	0.152	0.014	0.129	0.010
	10-20	0.132	0.013	0.127	0.013	0.128	0.010
	20-30	0.089 ^a	0.007	0.056 ^b	0.008	0.066 ^b	0.005
111	0-10	0.062 ^b	0.005	0.166 ^a	0.024	0.063 ^b	0.005
	10-20	0.036 ^b	0.003	0.052 ^a	0.005	0.032 ^b	0.003
	20-30	0.018 ^c	0.001	0.034 ^a	0.003	0.026 ^b	0.003
144	0-10	0.032 ^c	0.002	0.068 ^a	0.008	0.051 ^b	0.004
	10-20	0.017 ^b	0.001	0.029 ^a	0.003	0.031 ^a	0.003
	20-30	0.009 ^b	0.001	0.022 ^a	0.003	0.018 ^a	0.002
181	0-10	0.015 ^c	0.001	0.027 ^a	0.003	0.021 ^b	0.002
	10-20	0.012	0.001	0.015	0.002	0.016	0.001
	20-30	0.008 ^b	0.001	0.011 ^a	0.001	0.013 ^a	0.001

Las distintas letras de los superíndices en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de terbutilazina extraídos para cada día y para cada profundidad.

En el caso de terbutilazina, las cantidades de herbicida extraídas durante la campaña 06/07 (Tabla 4.32) no muestran de forma general la clara tendencia observada en el caso de diurón en el segundo ensayo de campo. Sigue habiendo una mayor cantidad de terbutilazina (Figura 4.33 b) en el suelo enmendado con alperujo fresco, aunque en algunos muestreos (días 0 y 82) no se observen diferencias significativas con el suelo sin enmendar. En el caso de las muestras de las parcelas enmendadas con alperujo compostado encontramos cantidades significativamente menores de terbutilazina (días 0 y 10) y tan sólo 144 días tras la aplicación del herbicida encontramos una mayor cantidad de terbutilazina en suelos enmendados con el compost de alperujo que en el suelo no enmendado. Al comparar los datos de diurón y terbutilazina en el segundo año de estudio, a tiempo cero y 10 días después de la aplicación de los herbicidas, las cantidades extraídas de diurón son superiores a las de terbutilazina en el suelo enmendado con alperujo fresco y con alperujo compostado. En el suelo no enmendado a los 10 días de la aplicación de los herbicidas, la cantidad de terbutilazina extraída es superior a la de diurón en el mismo suelo. A los 52 días después de la aplicación de los herbicidas las cantidades de terbutilazina son superiores a las de diurón para todos los tratamientos del suelo (no enmendado y enmendado), pero a partir de los 82 días no se observa una tendencia clara.

También hay que destacar en la segunda temporada de estudio que las cantidades de diurón y terbutilazina extraídas de todas las muestras de suelo tomadas 10 días después de la aplicación del herbicida son superiores a las correspondientes a tiempo cero, tomadas inmediatamente después de haber aplicado el herbicida. La explicación a este hecho es la gran cantidad de piedras que hay en la superficie del suelo y que puede observarse en la Figura 4.34, por

lo que al aplicar el herbicida éste quedaría en la superficie de las piedras y hojas caídas y por efecto del agua de lluvia, de rocío y viento pasaría al suelo.



Figura 4.34. Fotografía del suelo de una de las parcelas donde se realizó el estudio de persistencia de los herbicidas en condiciones de campo, donde puede observarse la enorme cantidad de piedras y hojas presentes en el suelo.

4.6 Influencia de la adición de alperujo en la producción del olivo

Existen numerosos trabajos sobre cómo afecta la aplicación de enmiendas orgánicas a la producción de diversos cultivos, tales como: el maíz, el brócoli, el pimiento, la soja, el trigo, el olivo, etc. Tejada y González (2007) estudiaron el efecto de vinazas de remolacha azucarera, lodos de depuradora y compost de residuos del cardado del algodón sobre las propiedades de un suelo clasificado como Typic Xerofluvent y la producción de trigo. El rendimiento y la calidad de la producción de trigo aumentaron únicamente con los residuos de algodón, por mejorar las propiedades del suelo. Sin embargo, la aplicación de lodos de depuradora y vinazas de remolacha azucarera disminuyeron los parámetros de rendimiento del trigo, debido al elevado contenido en metales pesados de los lodos y de Na^+ y M.O. lábil en el caso de las vinazas que afectan de manera negativa a las propiedades biológicas del suelo. Cabe destacar que estos autores observaron de forma general que en la 4ª estación de estudio los parámetros de rendimiento eran mejores que en las primeras estaciones, debido al efecto residual de la M.O. de los residuos orgánicos. En otros trabajos también se ha encontrado un aumento del rendimiento de los cultivos con la aplicación de enmiendas, por ejemplo, en el cultivo de soja, Singer et al. (2008) observaron un ligero aumento en el rendimiento de las semillas con la aplicación de compost de residuos y abonos minerales en los 3 años que duró el estudio, aunque concluyeron que no resulta fácil medir en el campo en condiciones naturales los mecanismos responsables del aumento del crecimiento de las plantas por el efecto de la enmienda, debido al bajo umbral para detectar pequeñas diferencias entre los tratamientos, o a que las condiciones de crecimiento son tan extremas que enmascaran los posibles efectos. Antonius et al. (2005) también obtuvieron un aumento en la producción de brócoli en 2

estaciones cuando el suelo de las parcelas se enmendaba con los restos de depuradora o con residuos vegetales compostados, en comparación con el suelo no enmendado y atribuyeron este efecto a la disponibilidad de los nutrientes en las enmiendas.

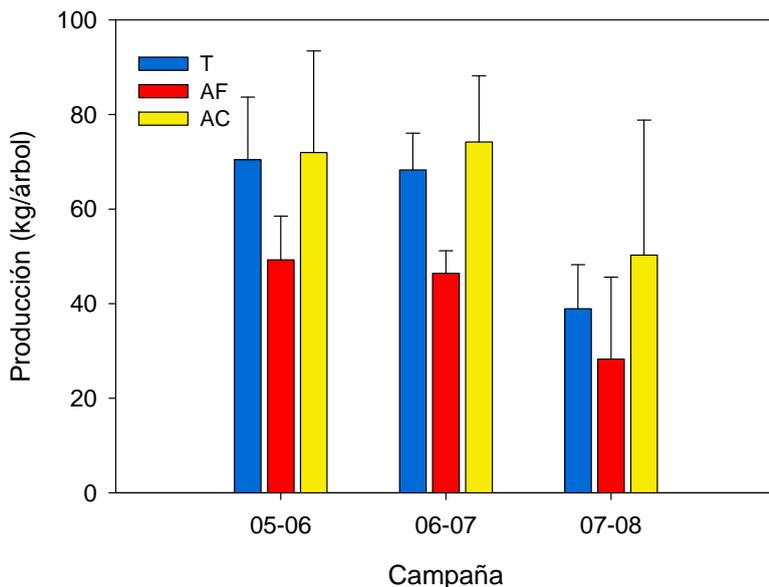


Figura 4.35. Producción de los olivos de las parcelas sin enmienda (T); enmendadas con alperujo fresco (AF); enmendadas con alperujo compostado (AC).

De los datos de producción de los olivos de las parcelas control y enmendadas con alperujo fresco y alperujo compostado (Tabla 4.33 y Figura 4.35) no observamos ninguna tendencia clara en el rendimiento de los olivos con la incorporación de alperujo al suelo respecto al testigo, si bien, la producción de los olivos en las parcelas donde se ha aplicado alperujo fresco es ligeramente menor que la producción de los olivos de las otras parcelas, pudiéndose atribuir estos resultados al efecto fitotóxico y antimicrobiano del alperujo fresco por su contenido en fenoles hidrosolubles y lípidos

(Albuquerque et al. 2004). En la producción de los olivos de las parcelas tratadas con alperujo compostado es donde se observa mayor variabilidad. Esta variabilidad en la producción de aceitunas puede ser debida al fenómeno de vecería que se da entre muchas especies frutales, entre ellas el olivo y que consiste en una alternancia de la producción de frutos de un año a otro, como observaron Lopez-Piñeiro et al. (2008) en un estudio sobre el efecto a corto y medio plazo de la aplicación de residuos de almazara en la producción y las propiedades del suelo de un olivar. Ellos obtuvieron un ligero aumento de la producción a medio plazo con la incorporación de los residuos al suelo, pero a corto plazo sólo fue significativo el aumento de la producción de los olivos cuyo suelo se enmendó con la mayor dosis de alperujo fresco. Los resultados a corto plazo coinciden con los nuestros, no se han producido cambios significativos en dos años en el rendimiento de los olivos con la aplicación de residuos de almazara. Altieri y Esposito (2008) también aplicaron durante cinco años residuos de almazara mezclados con residuos de lana, serrín y paja a parcelas donde se cultivaban olivos y compararon el rendimiento de los olivos con los de otra parcela control donde se había aplicado un fertilizante comercial basado en urea. Observaron que no había diferencias significativas en el rendimiento de los olivos entre las parcelas enmendadas y no enmendadas y consideraron que la aplicación de la enmienda constituida por mezcla de residuos no afectaba al crecimiento ni a la productividad de las plantas, y por lo tanto no tiene ningún efecto adverso sobre la fertilidad del suelo.

Tabla 4.33. Producción de los olivos de las parcelas sin enmienda (T1, T2, T3); enmendadas con alperujo fresco (AF1, AF2, AF3); enmendadas con alperujo compostado (AC1, AC2, AC3).

Parcela	2005/06		2006/2007		2007/08	
	Kg/árbol	Desv. Est.	Kg/árbol	Desv. Est.	Kg/árbol	Desv. Est.
T1	59.75		59.5		29.25	
T2	66.25		74.25		39.75	
T3	85.25		71		47.75	
	70.42	13.25	68.25	7.75	38.92	9.28
AF1	59.75		41.75		44.75	
AF2	42.25		51.25		12.5	
AF3	45.75		46.25		17.5	
	49.25	9.26	46.42	4.75	28.25	17.36
AC1	71.25		77		77	
AC2	93.75		59		75	
AC3	50.75		86.5		19	
	71.92	21.51	74.17	13.97	50.25	28.56

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo se resumen en las siguientes conclusiones:

1.- La capacidad de adsorción de los herbicidas empleados en el cultivo del olivar por los suelos estudiados no enmendados aumenta en el siguiente orden: MCPA < amitrol < terbutilazina < diurón, de acuerdo con el coeficiente de reparto octanol-agua, excepto para MCPA que tiene menor capacidad de adsorción por su carácter ácido.

2. La aplicación de alperujo fresco y compostado en el laboratorio a los suelos estudiados aumenta significativamente la adsorción de los herbicidas por el aumento de materia orgánica del suelo producido por las enmiendas. Por el contrario, cuando la enmienda se aplica al suelo en el campo no se observan cambios significativos en la adsorción pudiéndose deber a la menor dosis de enmienda orgánica aplicada al suelo en el campo que en el laboratorio, a la mejor homogeneización de la enmienda en el laboratorio y al tiempo transcurrido desde la aplicación hasta el estudio.

3.- La coaplicación de diurón y terbutilazina no modifica la adsorción de los herbicidas en los suelos originales y enmendados en el laboratorio respecto a cuando se aplican individualmente. Sin embargo, cuando la enmienda se aplica al suelo en el campo aumenta ligeramente la adsorción de los herbicidas coaplicados.

4.- En general, la aplicación de alpe rujo fresco y compostado al suelo en el laboratorio aumenta el proceso de irreversibilidad de la adsorción de los herbicidas. En el caso de MCPA los bajos coeficientes de ajuste obtenidos en los suelos sin enmendar dificultan poder observar una tendencia clara en el efecto que la enmienda ejerce en la desorción.

5.- Cuando diurón y terbutilazina se aplican conjuntamente la adsorción se hace más reversible que cuando los herbicidas se aplican individualmente, especialmente en el suelo arcilloso no enmendado y en el mismo suelo enmendado en el campo.

6.- De los estudios de disipación realizados mediante incubación de los herbicidas en los suelos originales y enmendados, podemos concluir que en el suelo arcillo limoso no enmendado la vida media de los herbicidas aumenta en el siguiente orden: amitrol < terbutilazina < diurón < MCPA, mientras que en el suelo arenoso sin enmienda el orden varía: MCPA < diurón < terbutilazina (el contrario).

7.- Los estudios de persistencia muestran que la aplicación de alperujo y compost de alperujo en el suelo tienen como efecto el aumento de la vida media de los herbicidas respecto a la vida media de estos mismos herbicidas en el suelo no enmendado. Este efecto se observa especialmente en el suelo arenoso P2 y estaría de acuerdo con los resultados obtenidos en los experimentos de lixiviación en los que la recuperación total de herbicida es superior en los suelos enmendados.

8.- La adición de alperujo fresco al suelo ha mostrado su eficacia en la disminución de la mineralización de diurón y terbutilazina, al compararlo con la mineralización de estos herbicidas en el mismo suelo sin enmienda. La aplicación de la enmienda orgánica no parece afectar a la formación de residuos no extraíbles de diurón, pero sí disminuye en el caso de terbutilazina y aumenta el porcentaje de los dos herbicidas extraíbles con disolvente orgánico.

9.- El mayor porcentaje de herbicida eluido en el suelo arcilloso no enmendado corresponde a MCPA, lo cual coincide con su baja adsorción. Le sigue el herbicida terbutilazina y no se detectó diurón ni a mitrol en los lixiviados recogidos durante el tiempo que duró el estudio. En el suelo arenoso no enmendado los porcentajes de herbicidas lixiviados siguen el mismo orden que en el suelo arcilloso, pero además se incluye diurón en tercer lugar.

10.-La movilidad de los herbicidas estudiados disminuyó con la aplicación de alperujo y compost de alperujo en el laboratorio, observándose una disminución en los porcentajes de herbicidas en los lixiviados de terbutilazina y MCPA en los suelos enmendados respecto al original y mayor extracción de los herbicidas en los 10 cm más superficiales en el caso del herbicida diurón. Existe una buena correlación entre adsorción y movilidad.

11.- La lixiviación de terbutilazina aumenta en el suelo no enmendado y en el suelo enmendado en campo cuando se coaplica con diurón al compararlo con la aplicación individual, presumiblemente por competencia de los herbicidas por los mismos sitios de adsorción.

12.- Los estudios de disponibilidad ponen de manifiesto la complejidad del proceso de envejecimiento de herbicidas en suelo. En los suelos no enmendados la adsorción aumenta con el aumento del tiempo de residencia del herbicida en el suelo mientras que en los suelos enmendados esto sólo se cumple en el caso del herbicida terbutilazina, pero no en el caso de atrazina.

13.- La biodisponibilidad de herbicidas del grupo de las triazinas a la bacteria *Pseudomonas* sp cepa ADP es menor en los suelos enmendados con alperujo que en los originales. Los resultados obtenidos indican que la utilización de alperujo como enmienda orgánica del suelo reduce la biodisponibilidad y degradación de los herbicidas atrazina y terbutilazina.

14.- En el estudio de persistencia de diurón y terbutilazina en campo se ha observado siempre mayor cantidad de herbicida en los 10 primeros cm del suelo. De forma general, las cantidades de herbicidas extraídas son significativamente mayores en las parcelas enmendadas con alperujo que en las no enmendadas. En el caso del suelo enmendado con alperujo com postado las diferencias no son tan claras como en el caso del suelo enmendado con alperujo fresco.

15.- La producción de los olivos en las parcelas donde se ha aplicado alperujo fresco es ligeramente inferior a la del resto de los olivos, pudiéndose deber al efecto fitotóxico del alperujo fresco por su contenido en polifenoles y fracción lipídica. A corto plazo no se ha observado ningún cambio significativo en el rendimiento de los olivos con la aplicación de los residuos de almazara y en todo caso la variabilidad puede atribuirse al fenómeno de vecería que se produce en árboles frutales.

6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

Abdelhafid, R.; Houot, S.; Barriuso, E. **2000**. Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non- adapted soils. *Soil Biol. Biochem.* 32, 389-401.

Accinelli, C.; Screpanti, C.; Dinelli, G.; Vicari, A. **2002**. Short-time effects of pure and formulated herbicides on soil microbial activity and biomass. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 82, 519-527.

Acero, J.L.; Stemmler, K.; von Gunten, U. **2000**. Degradation kinetics of atrazine and its degradation products with ozone and OH radicals; A predictive tool for drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 34, 591-597.

Aguer, J. P.; Cox, L.; Richard, C.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. **2000**. Sorption and photolysis studies in soil and sediment of the herbicide napropamide, J. *Environ. Sci. Health B.* 35, 725-738.

Ahrlrichs, J.L. **1972**. The soil environment. En *Organic Chemicals in the Soil Environment*. C.A.I. Goring y J.W. Hamaker (eds.). Vol. 1, Marcel Dekker, New York, pp. 3-46.

Aiken, G.R.; McKnight, D.M.; Wershaw, R.L.; MacCarthy, P. **1985**. An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. En *Humic substances in soil, sediment, and water*. Aiken, G.R.; McKnight, D.M.; Wershaw, R.L.; MacCarthy, P. (eds.), Wiley-Interscience, New York, pp. 1-9.

Ainsworth, C.C.; Zachara, J.M.; Smith, S.C. **1989**. Carbazole sorption by surface and subsurface materials: influence of sorbent and solvent properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1391-1401.

Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; López-Piñeiro, A.; Ortega-Calvo, J.J.; Cornejo, J. **2003**. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19, 150-156.

Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; López-Piñeiro, A.; Cornejo, J. **2004**. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere.* 54, 717-724.

Alburquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. **2004**. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Biores. Technol.* 91, 195-200.

Alburquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. **2006a**. Composting of a solid olive-mill by-product ("alperujo") and the potential of the resulting compost for cultivating pepper under commercial conditions. *Waste Manag.* 26, 620-626.

Alburquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. **2006b**. Effects of bulking agent on the composting of "alperujo", the solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Process Biochem.* 41, 127-132.

Alburquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. **2006c**. Measuring detoxification and maturity in compost made from "alperujo", the solid by-product of extracting olive oil by the two-phase centrifugation system. *Chemosphere* 64, 470-477.

Alfano, G.; Belli, C.; Lustrato, G.; Ranalli, G. **2008**. Pile composting of two-phase centrifuged olive husk residues: Technical solutions and quality of cured compost. *Biores. Technol.* 99, 4694-4701.

Allen, R. y Walker, A. **1987**. The influence of soil properties on the rates of degradation of metamitron, metazachlor and metribuzin. *Pestic. Sci.* 18, 95-111.

Altieri, R. y Esposito, A. **2008**. Olive orchard amended with two experimental olive mill wastes mixtures: Effects on soil organic carbon, plant growth and yield. *Bioresour. Technol.* 99, 8390-8393.

Alva, A.K. y Singh, M. **1990**. Sorption of Bromacil, Diuron, Norflurazon, and Simazine at Various Horizons in 2 Soils. *Bull. Environ. Contamination Toxicol.* 45, 365-374.

Álvarez-Benedi, J.; Tabernero, M.T.; Atienza, J.; Bolado, S. **1999**. A coupled model representing volatilization and sorption of soil incorporated herbicides. *Chemosphere* 38, 1583-1593.

Alvey, S. y Crowley, D.E. **1995**. Influence of organic amendments on biodegradation of atrazine as a nitrogen source. *J. Environ. Qual.* 24, 1156-1162.

Antonious, G.F.; Patterson, M.A.; Snyder, J.C. **2005**. Impact of soil amendments on broccoli quality and napropamide movement under field conditions. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 75, 797-804.

Anuario de Estadística Agroalimentaria y Pesquera **2007**. Datos 2006 y 2007. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Gobierno de España. www.mapa.es/es/estadistica/pags/anuario/introducción/htm

Arienzo, M.; Sánchez-Camazano, M.; Sánchez-Martín, M.J.; Crisanto, T. **1994**. Influence of exogenous organic matter in the mobility of diazinon in soils. *Chemosphere.* 29, 1245-1252.

Armstrong, D.E.; Chester, G.; Harris, F. **1967**. Atrazine hydrolysis in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 31, 61-66.

Armstrong, D. E. y Konrad, J. G. **1974**. Nonbiological degradation of pesticides. En: *Pesticides in soil and water*. W. D. Guenzi (ed.), SSSA, Madison, WI, pp: 3-33.

Azam, F.; Fuhr, F.; Mittelstaedt, W. **1988**. Fate of [Carbonyl-C-14]Methabenzthiazuron in An Arid Region Soil - Effect of Organic Amendment, Soil Disturbance and Fumigation. *Plant Soil.* 107, 149-158.

Azbar, N.; Bayram, A.; Filibeli, A.; Muezzinoglu, A.; Sengul, F.; Ozer, A. **2004**. A review of waste management options in olive oil production. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 34, 209-247.

Baèta-Hall, L.; Céu Sàágua, M.; Lourdes Bartolomeu, M.; Anselmo, A.M.; Fernanda Rosa, M. **2005**. Bio-degradation of olive oil husks in composting aerated piles. *Biores. Technol.* 96, 69-78.

Barra Caracciolo, A.; Giuliano, G.; Grenni, P.; Guzzella, L.; Pozzoni, F.; Bottoni, P.; Fava, L.; Crobe, A.; Orru, M. **2005**. Degradation and leaching of the herbicides metolachlor and diuron: a case study in an area of Northern Italy. *Environ. Pollut.* 134, 525-534.

Barriuso, E.; Laird, D.A.; Koskinen, W.C.; Dowdy, R.H. **1994**. Atrazine Desorption from Smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1632-1638.

Barriuso, E.; Houot, S.; SerraWittling, C. **1997**. Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pest. Sci.* 49, 65-75.

Barriuso, E.; Koskinen, W.C.; Sadowsky, M.J. **2004**. Solvent extraction characterization of bioavailability of atrazine residues in Soils. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6552-6556.

Barriuso, E.; Benoit, P.; Dubus, I.G. **2008**. Formation of pesticide nonextractable (bound) residues in soil: Magnitude, controlling factors and reversibility. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1845-1854.

Bailey, G.W.; White, J.L.; Rothberg, T. **1968**. Adsorption of organic herbicides by montmorillonite: role of pH and chemical character of adsorbate. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 32, 222.

Bailey, G.W. y White, J.L. **1970**. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. *Residue Rev.* 32, 29-92.

Beck, A. J.; Johnston, A. E. J.; Jones, K. C. **1993**. Movement of nonionic organic chemicals in agricultural soils. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 23, 219-248.

Bedos, C; Cellier, P; Calvet, R. Barriuso, E.; Gabrielle, B. **2002**. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie.* 22, 21-33.

Beigel, C.; Charnay, M.P.; Barriuso, E. **1999**. Degradation of formulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate. *Soil Biol. Biochem.* 31, 525-534.

Benitez, E.; Sainz, H.; Melgar, R.; Nogales, R. **2002**. Vermicomposting of a lignocellulosic waste from olive oil industry: A pilot scale study. *Waste Manag. Res.* 20, 134-142.

Berger, B.M. **1999**. Factors influencing transformation rates and formation of products of phenylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3389-3396.

Bernard, H.; Chabalier, P.F.; Chopat, J.L.; Legube, B.; Vauclin, M. **2005**. Assessment of herbicide leaching risk in two tropical soils of Reunion Island (France). *J. Environ. Qual.* 34, 534-543.

Beulke, S.; Dubus, I.G.; Brown, C.D.; Gottesburen, B. **2000**. Simulation of pesticide persistence in the field on the basis of laboratory data - A review. *J. Environ. Qual.* 29, 1371-1379.

- Beven, K y Germann, P. **1981**. Water flow in soil macropores. II A combined model. *J. Soil Sci.* 32, 15-29.
- Bollag, J. y Myers, C. **1992**. Detoxification of aquatic and terrestrial sites through binding of pollutants to humic substances. *Sci. Total Environ.* 117/118, 356-366.
- Bollag, J.; Myers, C.; Minad, R.D. **1992**. Biological and chemical interactions of pesticides with soils. *Sci. Total Environ.* 123/124, 205-217.
- Bordjiba, O.; Steiman, R.; Kadri, M.; Semadi, A.; Guiraud, P. **2001**. Removal of herbicides from liquid media by fungi isolated from a contaminated soil. *J. Environ. Qual.* 30, 418-426.
- Borja, R.; Rincón, B.; Raposo, F. **2006**. Review anaerobic biodegradation of two-phase olive mill solid wastes and liquid effluents: kinetic studies and process performance. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 1450-1462.
- Bouchard, D. C. y Lavi, T. L. **1985**. Hexazinone adsorption-desorption studies with soil and organic adsorbents. *J. Environ. Qual.* 14, 181-186.
- Bowman, B.T. **1981**. Anomalies in the Log Freundlich Equation Resulting in Deviations in Adsorption K-Values of Pesticides and Other Organic-Compounds When the System of Units Is Changed. *J. Environ. Sci. Health B.* 16, 113-123.
- Bowman, B. T. y Sans, W.W. **1985**. Partitioning behaviour of insecticides in soil-water systems. I. Adsorbent concentration effects. *J. Environ. Qual.* 14, 265-269.
- Bowman, B.T. **1989**. Mobility and Persistence of the Herbicides Atrazine, Metolachlor and Terbutylazine in Plainfield Sand Determined Using Field Lysimeters. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 485-491.
- Brewer, L.J. y Sullivan, D.M. **2003**. Maturity and stability evaluation of composted yard trimmings. *Compost Sci. Utilization.* 11, 96-112.
- Briggs, G.G. y Dawson, J.E. **1970**. Hydrolysis of 2,6-dichlorobenzonitrile in soils. *J. Agric. Food Chem.* 18, 97-99.

Burrows, H.D.; Canle L., M.; Santaballa, J.A.; Steenken, S. **2003**. Reaction pathway and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J. Photochem. Photobiol. B. Biology* 67, 71-108.

Businelli, D., **1997**. Pig slurry amendment and herbicide coapplication effects on s-triazine mobility in soil: An adsorption-desorption study. *J. Environ. Qual.* 26, 102-108.

Cabrera, A.; Cox, L.; Koskinen, W.C.; Sadowsky, M.J. **2008**. Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 56, 4112-4119.

Cabrera, A.; Cox, L.; Velarde, P.; Koskinen, W.C.; Cornejo, J. **2007**. Fate of diuron and terbuthylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4828-4834.

Calderón, M. J.; Hermosín, M. C.; Moreno, F, y Cornejo, J. **1999**. Movilidad de trifluralina en laboreo tradicional y de conservación. En: *Estudios de la zona no saturada del suelo*, R. Muñoz-Carpena, A. Ritter, C. Tascón (eds.). Tenerife, pp. 83-88.

Calderón, M.J.; Ortega, M.; Hermosin, M.C.; Garcia-Baudin, J.; Cornejo, J. **2004**. Hexazinone and simazine dissipation in forestry field nurseries. *Chemosphere* 54, 1-8.

Calvet, R. **1989**. Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Perspec.* 83, 145-177.

Cayuela, M.L.; Sánchez-Monedero, M.A.; Roig, A. **2006**. Evaluation of two different aeration systems for composting two-phase olive mill wastes. *Process Biochem.* 41, 616-623.

Cegarra, J.; Alburquerque, J.A.; González, J.; Tortosa, G.; Chaw, D. **2006**. Effects of the forced ventilation on composting of a solid olive-mill by-product ("alperujo") managed by mechanical turning. *Waste Manag.* 26, 1377-1383.

Celis, R.; Cox, L.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. **1997a**. Sorption of thiazufluron by iron and humic acid-coated montmorillonite. *J. Environ. Qual.* 26, 472-479.

- Celis, R.; Cornejo, J.; Hermosín, M.C.; Koskinen, W.C. **1997b**. Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 436-443.
- Celis, R.; Barriuso, E.; Houot, S. **1998a**. Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere.* 37, 1091-1107.
- Celis, R.; Barriuso, E.; Houot, S., **1998b**. Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: Dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.* 27, 1348-1356.
- Celis, R.; Koskinen, W.C.; Cecchi, A.M.; Bresnahan, G.A.; Carrizosa, M.J.; Ulibarri, A.; Pavlovic, I.; Hermosín, M.C. **1999a**. Sorption of the ionizable pesticide imazamox by organo-clays and organohydrotalcites. *J. Environ. Sci. Health B.* 34, 929-941.
- Celis, R.; Hermosín, M. C.; Cox, L.; Cornejo, J. **1999b**. Sorption of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulations naturally occurring soil colloids. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1200-1206.
- Cheng, H. H. y Lehman, R. G. **1985**. Characterization of herbicide degradation under field conditions. *Weed Sci.* 33, 7-10.
- Chiou, C.T.; Porters, P.E.; Shmedding, D.W. **1983**. Partition equilibria of nonionic organic compounds between soil organic matter and water. *Environ. Sci. Technol.* 17, 227-231.
- Chiou, C. T. y Shoup, T. D. **1985**. Soil sorption of organic vapors and effect of humidity on sorptive mechanism and capacity. *Environ. Sci. Technol.* 16, 4-10.
- Chiou, C.T.; Shoup, T.D.; Porter, P.E. **1985**. Mechanistic Roles of Soil Humus and Minerals in the Sorption of Nonionic Organic-Compounds from Aqueous and Organic Solutions. *Org. Geochem.* 8, 9-14.
- Chiou, C.T. **1989**. Theoretical considerations of partition uptake of nonionic organic compounds by soil organic matter. En: *Reactions and movement of organic in soils*, Special Publication n° 22 B.L. Sawhney y K. Brown (eds.), SSSA, WI, Madison, pp.1-31.
- Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B.; Senesi, N.; Griffith, S.M. **1996**. Stability of complexes formed by the herbicide napropamide and soluble humic acids. En:

Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments. Characterization, Transformation and Interactions. Mingelgrin, U. (ed.) IHSS, Birmingham. U.K.

Clark, A. **1974**. The Chemisorptive bond: basic concepts. Academic Press, New York and London.

Consejo Oleícola Internacional. www.internationaloliveoil.org

Cooperband, L.R.; Stone, A.G.; Fryda, M.R.; Ravet, J.L. **2003**. Relating compost measures of stability and maturity to plant growth. *Compost Sci. Utilization*. 11, 113-124.

Cornejo, J.; Hermosín, M. C.; White, J. L., Barnes, J. R. y Hem, S. L. **1983**. Role of ferric iron in oxidation of hydrocortisone by sepiolite and palygorskite. *Clays Clay Min.* 31, 109-112.

Cornejo, J. y Hermosín, M.C. **1996**. Interaction of humic substances and soil clay. En: *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. A. Piccolo (ed.), Elsevier Sci., Amsterdam, pp. 595-624.

Cornejo, J. y Moreno, F. **1998**. Dinámica de agroquímicos y otros contaminantes en el suelo. En: *Agricultura sostenible* R.M. Jiménez Díaz y J. Lamo de Espinosa (eds.), Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 275-294.

Cornejo, J y Jamet, P. **2000**. Pesticide/soil interactions: some current research methods. Paris. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). pp-119-205.

Cornejo, J.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; Carrizosa, M.J., Pavlovic, I., Ulibarri, M. A. **2000**. Use of natural and modified clays to remove organic contaminants from water. Proceeding of the 1st European Conference on Pesticides and related Organic Micropollutans in the Environment. (ed. T. Albanis), University of Ioannina, Greece, pp. 101-104.

Cox, L.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. **1993**. Adsorption of methomil by soils of Southern Spain and soil components. *Chemosphere* 27, 837-849.

Cox, L.; Hermosín, M.C. y Cornejo, J. **1994**. Retention of thiazafuron by surface horizons of some Spanish soils. *Fresenius Environ. Bull.* 3, 129-134.

- Cox, L.; Hermosin, M.C.; Cornejo, J. **1995a**. Adsorption and Desorption of the Herbicide Thiazafurion As A Function of Soil Properties. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 58, 305-314.
- Cox, L.; Hermosin, M.C.; Cornejo, J. **1995b**. Adsorption Mechanisms of Thiazafurion in Mineral Soil Clay Components. *Eur. J. Soil Sci.* 46, 431-438.
- Cox, L.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **1996a**. Sorption of metamitron on soils with low organic matter content. *Chemosphere*, 32, 1391-1400.
- Cox, L.; Calderón, M.J.; Celis, R.; Hermosín, M.C., Moreno, F.; Cornejo, J. **1996b**. Mobility of metamitron in soils under conventional and reduced tillage. *Fresenius Envir. Bull.* 5, 528-533.
- Cox, L.; Walker, A.; Welch, S.I. **1996c**. Evidence for the accelerated degradation of isoproturon in soils. *Pestic. Sci.* 48, 253-260.
- Cox, L.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J.; Mansour, M. **1996d**. Photolysis of metamitron in water in the presence of soils and soils components. *Chemosphere* 33, 2057-2064.
- Cox, L.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; Becker, A.; Cornejo, J. **1997a**. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agriculture, Ecosystems Environ.* 65, 151-161.
- Cox, L.; Koskinen, W.C.; Yen, P.Y. **1997b**. Sorption-desorption of imidacloprid and its metabolites in soils. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1468-1472.
- Cox, L.; Koskinen, W.C.; Celis, R.; Yen, P.Y.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **1998**. Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62(4), 911-915.
- Cox, L.; Calderón, M. J.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **1999a**. Leaching of clopyralid and metamitron under conventional and reduced tillage systems. *J. Environ. Qual.* 28, 605-610.
- Cox, L.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **1999b**. Leaching of simazine in organic-amended soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30, 1697-1706.

Cox, L.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J.; Zsolnay, A., Zeller, K. **2000a**. Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4600-4605.

Cox, L.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. **2000b**. Natural soil colloids to retard simazine and 2,4-D leaching in soil. *J. Agric. Food Chem.* 48, 93-99.

Cox, L.; Cecchi, A.; Celis, R.; Hermosin, M.C.; Koskinen, W.C.; Cornejo, J. **2001**. Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1688-1695.

Cox, L.; Velarde, P.; Cabrera, A.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **2007**. Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *Eur. J Soil Sci.* 58, 714-721.

Crespín, M.A.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; González, J.L. **2001**. Study of the degradation of the herbicides 2,4-D and MCPA at different depths in contaminated agricultural soil. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4265-4270.

Cuevas, M.V.; Cox, L.; Calderón, M.J.; Hermosín, M.C.; Fernández, J.E. **2008**. Chloridazon and lenacil dissipation in a clayey soil of the Guadalquivir river marshes (southwest Spain). *Agric. Ecosystems Environ.* 124, 245-251.

Cullington, J.E. y Walker, A. **1999**. Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium. *Soil Biol. Biochem.* 31, 677-686.

Cupples, A.M.; Sims, G.K.; Hultgren, R.P.; Hart, S.E. **2000**. Effect of soil conditions on the degradation of chloransulam-methyl. *J. Environ. Qual.* 29, 786-794.

Dakhel, N.; Barriuso, E.; Charnay, M.P.; Touratier, C.; Ambrosi, D. **2001**. Amitrole degradation in vineyard soils in relation to pedo-climatic conditions. *Biol. Fertility Soils.* 33, 490-494.

Dann, R.L.; Close, M.E.; Lee, R.; Pang, L. **2006**. Impact of data quality and model complexity on prediction of pesticide leaching. *J. Environ. Qual.*, 35, 628-640.

Davison, E.M. y McKay, A. G. **1999**. Reduced persistence of metalaxil in soil associated with its failure to control cavity spot of carrots. *Plant Pathology* 48, 830-835.

- Day, B.E.; Jordan, L.S.; Jolliffe, V.A. **1968**. The influence of soil characteristics on the adsorption and phytotoxicity of simazine. *Weed Sci.* 1, 209-213.
- De Prado, R y de Prado, R. Jr. **2003**. Control integrado de malas hierbas resistentes a herbicidas. *Vida Rural*, 178, 26-29.
- De Prado, R.; Fontanilla, J.M.; Ruiz-Santaella, J.P. **2003**. Importancia y control de las malas hierbas en el olivar. *Vida Rural*, 178, 30-34.
- Delgado-Moreno, L. y Peña, A. **2007**. Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6213-6218.
- Delgado-Moreno, L.; Almendros, G., Peña, A., **2007**. Raw or incubated olive-mill wastes and its biotransformed products as agricultural soil amendments - Effect on sorption-desorption of triazine herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 55, 836-843.
- Delgado-Moreno, L. y Peña, A. **2008**. Sorption/desorption behaviour of sulfonylurea herbicides as affected by the addition of fresh and composted olive cake to soil. *Weed Res.* 48, 461-469.
- Dolaptsoglou, C.; Karpouzias, D.G.; Menkissoglu-Spiroudi, U.; Eleftherohorinos, I.; Voudrias, E.A. **2007**. Influence of different organic amendments on the degradation, metabolism, and adsorption of terbuthylazine. *J. Environ. Qual.* 36, 1793-1802.
- Dorado, J.; López-Fando, C.; Zancada, M.C.; Almendros, G. **2005**. Sorption-desorption of alachlor and linuron in a semiarid soil as influenced by organic matter properties after 16 years of periodic inputs. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5359-5365.
- Dubus, I.G.; Barriuso, E., Calvet, R. **2001**. Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere.* 45, 767-774.
- Dungan, R.S.; Gan, J.Y.; Yates, S.R. **2001**. Effect of temperature, organic amendment rate and moisture content on the degradation of 1,3-dichloropropene in soil. *Pest Manage. Sci.* 57, 1107-1113.
- Ebato, M. y Yonebayashi, K. **2005**. Method for estimating competitive adsorption of herbicides on soils. *J. Pest. Sci.* 30, 220-224.

Ehlers, W. **1975**. Observation on earthworm channels and infiltration on tilled and untilled loess soils. *Soil Sci.* 119, 242-249.

El proceso de compostaje. http://www3.uva.es/cc_agrof/eq2Comp.1.doc

Eurostat. Statistical books. The use of plant protection products in the European Union. Data 1992-2003. **2007** Edition.

Fava, L.; Orru, M.A.; Businelli, D.; Scardala, S.; Funari, E. **2006**. Leaching potential of some phenylureas and their main metabolites through laboratory studies. *Environ. Sci. Pollution Res.* 13, 386-391.

Fava, L.; Orru, M.A.; Scardala, S.; Funari, E. **2007**. Leaching potential of carbarnates and their metabolites and comparison with triazines. *Microchem. J.* 86, 204-208.

Felsot, A.S. y Shelton, D.R. **1993**. Enhanced biodegradation of soil pesticides: interactions between physicochemical processes and microbial ecology. En: *Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soils.* (Soil Science Society of America and American Society of Agronomy) SSSA Special Publication, n 32, pp. 227-251.

Fernandes, M.C.; Cox, L.; Hermosín, M.C. y Cornejo, J. **2003**. Adsorption-desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest. Manag. Sci.* 59, 545-552.

Fernandes, M.C.; Cox, L.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. **2006**. Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Manag. Sci.* 62, 1207-1215.

Fernández-Bayo, J.D.; Nogales, R.; Romero, E. **2008**. Evaluation of the sorption process for imidacloprid and diuron in eight agricultural soils from southern Europe using various kinetic models. *J. Agric. Food Chem.* 56, 5266-5272.

Ferreira, J.A.; Martín-Neto, L.; Vaz, C.M.P.; Regitano, J.B. **2002**. Sorption interactions between imazaquin and a humic acid extracted from a typical Brazilian Oxisol. *J. Environ. Qual.* 31, 1665-1670.

Fogg, P.; Boxall, A.B.A.; Walker, A.; Jukes, A.A. **2003**. Pesticide degradation in a "biobed" composting substrate. *Pest Manag. Sci.* 59, 527-537.

Gallardo Lancho, J. **1982**. *La materia orgánica del suelo - su importancia en suelos naturales y cultivados*. Temas de divulgación (Instituto de Orientación y Asistencia Técnica del Oeste) nº 6, Instituto de Orientación y Asistencia Técnica del Oeste, Salamanca.

Gan, J.; Yates, S.R.; Papiernik, S.; Crowley, D. **1998**. Application of organic amendments to reduce volatile pesticide emissions from soil. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3094-3098.

García-González, V.; Govantes, F.; Shaw, L.J.; Burns, R.G.; Santero, E. **2003**. Nitrogen control of atrazine utilization in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:6987-6993.

Ghadiri, H.; Rose, C.W.; Connell, D.W. **1995**. Degradation of organochlorine pesticides in soils under controlled environment and outdoor conditions. *J. Environ. Manage.* 43, 141-151.

Giacomazzi, S. y Cochet, N. **2004**. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere.* 56, 1021-1032.

Giles, C.H.; MacEwan, T.H.; Nakhwa, S.N. y Smith, D. **1960**. Studies in adsorption. Part XI. A System of Clasification of Solution Adsorption Isotherms, and its Use in Diagnosis of Adsorption Mechanisms and in Measurement of Specific Surface Areas of Solids. *J. Chem. Soc.* 3973-3993.

Gish; T.J.; Shirmohammadi, A.; Vyravipillai, R.; Wienhold, B.J. **1995**. Herbicide leaching under tillage and no-tillage fields. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 859-901.

Glotfelty, D. E. y Caro, J. M. **1975**. Introduction, transport and fate of persistent pesticides in the atmosphere. *Am. Chem. Soil Symp. Ser. N° 17: Removal of trace contaminants from air*, pp 42-62.

González-Pradas, E.; Villafranca-Sánchez, M.; Fernández-Pérez, M.; Socias-Viciana, M.; Ureña-Amate, M.D., **1998**. Sorption and leaching of diuron on natural and peat-amended calcareous soil from Spain. *Water Res.* 32, 2814-2820.

Goody, D.C.; Chilton, P.J.; Harrison, I. **2002**. A field study to assess the degradation and transport of diuron and its metabolites in a calcareous soil. *Sci. Total Environ.* 297, 67-83.

Graber, E.R.; Dror, I.; Bercovich, F.C.; Rosner, M. **2001**. Enhanced transport of pesticides in a field trial with treated sewage sludge. *Chemosphere*. 44, 805-811.

Grass, B.; Wenclawiak, B.W.; Rüdell, H. **1994**. Influence of air velocity, air temperature, and air humidity on the volatilization of trifluralin from soil. *Chemosphere*. 28, 491-499.

Gray, K.R., Sherman, K., Biddlest, A.J. **1971a**. Review of Composting-1. *Process Biochem*. 6, 32-36.

Gray, K.R., Sherman, K., Biddlest, A.J. **1971b**. Review of Composting-2. *Practical Process*. *Process Biochem*. 6, 22-28.

Gray, K.R., Biddlest, A.J., Clark, R. **1973**. Review of Composting .3. Processes and Products. *Process Biochem*. 8, 11-15.

Green, R.E. **1974**. Pesticide-clay-water interactions. En: *Pesticides in Soil and Water*. W.D. Guenzi (ed.), SSSA, WI, Madison, pp. 3-33.

Green, R. E. y Karichoff, S.W. **1990**. Sorption estimates for modeling. En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling* H.H. Cheng (ed.), SSSA, WI, Madison, pp. 79-101.

Guenzi, W.D. y Beard, W.E. **1974**. Volatilization of pesticides. En: *Pesticides in Soil and Water*. W.E. Guenzi (ed.) Madison, WI. pp. 108-122.

Guo; L. Bicki, T.J.; Felsot, A.S. y Hinesly, T. D. **1993**. Sorption and movement of alachlor in soil modified carbo-rich wastes. *J. Environ. Qual.* 22, 186-194.

Guo, L.; Wagenet, R.J. **1999**. Evaluation of alachlor degradation under transport conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 443-449.

Guo, L.; Jury, W.A.; Wagenet, R.J.; Flury, M. **2000**. Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. *J. Contaminant Hydrology*. 43, 45-62.

Haberhauer, G.; Pfeiffer, L.; Gerzabek, M.H.; Kirchmann, H.; Aquino, A.J.A.; Tunega, D., Lischka, H. **2001**. Response of sorption processes of MCPA to the amount and origin of organic matter in a long-term field experiment. *Eur. J. Soil Sci.* 52, 279-286.

- Haddadin, M.S.; Abdulrahim, S.M.; Al-Khawaldeh, G.Y.; Robinson, R.K. **1999**. Solid state fermentation of waste pomace from olive processing. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 74, 613-618.
- Hamaker, J.W. y Thompson, J.M. **1972**. Adsorption. En: *Organic Chemicals in the Soil Environment* C.A.I. Goring y J.W. Hamaker (eds.). Vol. 1, Marcel Dekker, New York, pp. 49-143.
- Hance, R.J. **1967**. The speed of attainment of sorption equilibria in some systems involving herbicides. *Weed Res.* 7, 29-36.
- Haug, R.T. **1993**. *The practical handbook of compost engineering*. Lewis Publishers. London.
- Hayes, M.H.B y Swift, R.S. **1978**. The chemistry of soil organic colloids. En: *The Chemistry of soil constituents*. D.J. Greenland y M.H.B. Hayes (eds.). Wiley-Interscience, NY, pp 179-320.
- Hederlein, S. B. y Schawarzenbach, R. P. **1993**. Adsorption of substituted nitrobenzenes and nitrophenols to mineral surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 27, 316-328.
- Hermosín, M. C. y Cornejo, J. **1987**. Maleic hydrazide adsorption by soil and the use of the mole fraction form of Freundlich equation. *Soil Sci.* 144, 250-256.
- Hermosín, M. C.; Cornejo, J.; Perez-Rodrigues, J. L. **1987**. Adsorption and desorption of maleic hydrazide as a function of soil properties. *Soil. Sci.* 44, 250-256.
- Hermosín, M. C. y Cornejo, J. **1991**. Soil adsorption of 2,4-D as affected by clay mineralogy. *Toxicol. Environ. Chem.* 31-32, 69-77.
- Hermosín, M.C.; Roldan, I.; Cornejo, J. **1991**. Adsorption-desorption of maleic hydrazide on mineral soil componentes. *J. Environ. Sci. Health B.* 26, 165-183.
- Hermosín, M. C.; Martín, P.; Cornejo, J. **1993**. Adsorption mechanisms of monobutyltin in clay minerals. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2606-2611.
- Hermosín, M. C. y Cornejo, J. **1994**. Suggesting soil clay fraction (K_{clay}) as predictor for polar or ionic pesticide adsorption. En: *Proceedings of the 5th*

International Workshop of Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects A. Copin *et al.* (eds.) ESS, Rixensart, Belgium, pp. 206-207.

Hermosín, M.C.; Cornejo, J.; Cox, L. **2000**. Calculation and validation of K_{clay} as predictor for polar or ionoc pesticide adsorption by soils. Pesticide-soil interactions: Some current research methods. J. Cornejo, P. Jamet (eds.) INRA, Paris, pp 131-139.

Herwig, U.; Klumpp, E.; Narres, H.D.; Schwuger, M.J. **2001**. Physicochemical interactions between atrazine and clay minerals. *Applied Clay Sci.* 18, 211-222.

Hiller, E.; Krascenits, Z.; Cernansky, S. **2008**. Sorption of acetochlor, atrazine, 2,4-D, chlorotoluron, MCPA, and trifluralin in six soils from Slovakia. *Bull. Environ. Contamination Toxicol.* 80, 412-416.

Hingston, F. J.; Posner, A. M.; Quirk, J. P. **1972**. Anion adsorption by gorthite and gibbsite. I. The role of the proton in determining adsorption envelopes. *J. Soil. Sci.* 23, 177-192.

Hole, S.J.; McClure, N.C.; Powles, S.B. **2001**. Rapid degradation of carbetamide upon repeated application to Australian soils. *Soil Biol. Biochem.* 33, 739-745.

Houot, S.; Barriuso, E.; Bergheaud, V. **1998**. Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 30, 2147-2157.

Impel Olive Oil Project. **2003**. European Union for the Implementation and Enforcement of Environmental Law.

Inoue, M.H.; Oliveira, R.S.; Regitano, J.B.; Tormena, C.A.; Constantin, J. Tornisielo, V.L. **2006**. Sorption-desorption of atrazine and diuron in soils from southern Brazil. *J. Environ. Sci. Health B.* 41, 605-621.

Jacobsen, C.S.; Shapir, N.; Jensen, L.O.; Jensen, E.H.; Juhler, R.K.; Streibig, J.C.; Mandelbaum, R.T.; Helweg, A. **2001**. Bioavailability of triazine herbicides in a sandy soil profile. *Biol. Fertil. Soils.* 33, 501-506.

Jarvis, N.J. **2007**. A review of non-equilibrium water flow and solute transport in soil macropores: principles, controlling factors and consequences for water quality. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 523-546.

Jensen, P.H.; Hansen, H.C.B.; Rasmussen, J.; Jacobsen, O.S. **2004**. Sorption-controlled degradation kinetics of MCPA in soil. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6662-6668.

Johannesen, H. y Aamand, J. **2003**. Mineralization of aged atrazine, terbuthylazine, 2,4-D, and mecoprop in soil and aquifer sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 722-729.

Johnson, W.G.; Lavy, T.L.; Gbur, E.E. **1995**. Sorption, Mobility and Degradation of Triclopyr and 2,4-D on 4 Soils. *Weed Sci.* 43, 678-684.

Juhler, R.K.; Henriksen, T.H.; Ernstsen, V.; Vinther, F.P.; Rosenberg, P. **2008**. Impact of basic soil parameters on pesticide disappearance investigated by multivariate partial least square regression and statistics. *J. Environ. Qual.* 37, 1719-1732.

Jurado, F.; Cano, A.; Carpio, J. **2003**. Modelling of combined cycle power plants using biomass. *Renewable Energy.* 28, 743-753.

Jury, W. A.; Spencer, W.F.; Farmer, W.J. **1983**. Behavior assesment model for trace organics in soil. I. Model description. *J. Environ. Qual.* 12, 558-564.

Kah, M. y Brown, C.D. **2007**. Prediction of the adsorption of ionizable pesticides in soils. *J. Agric. Food Chem.* 55, 2312-2322.

Kalbitz, K.; Popp, P.; Geyer, W.; Hanschmann, G. **1997**. β -HCH mobilization in polluted wetland soils as influenced by dissolved organic matter. *Sci. Total Environ.* 204, 37-48.

Kamiya, M.; Kameyama, K. Ishiwata, S. **2001**. Effects of cyclodextrins on photodegradation of organophosphorous pesticides in humic water. *Chemosphere* 42, 251-255.

Khan, S.U. **1980**. Physicochemical processes affecting pesticides in soils. En: *Pesticides in the soil environment*. R.J. Wakeman (ed.). Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, pp. 29-118.

Khan, S.U. **1982**. Distribution and characteristics of bound residues of prometryn in an organic soil. *J. Agric. Food Chem.* 30, 175-179.

Kodesova, R.; Kocarek, M.; Kodes, V.; Simunek, J.; Kozak, J. **2008**. Impact of soil micromorphological features on water flow and herbicide transport in soils. *Vadose Zone Journal* 7, 798-809.

Kononova, M.M. **1966**. Soil Organic Matter; Its nature, its role in soil formation and in soil fertility. 2nd Eng. Ed., Pergamon Press, Oxford, pp 544.

Koskinen, W.C.; Cox, L.; Yen, P.Y. **2001**. Changes in sorption /bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biol. Fertil. Soils*, 33:546-550.

Koskinen, W.C.; Calderón, M.J.; Rice, P.J.; Cornejo, J. **2006**. Sorption-desorption of flucarbazone and propoxycarbazone and their benzenesulfonamide and triazolinone metabolites in two soils. *Pest Manag. Sci.* 62, 598-602.

Kristensen, G.B.; Johannesen, H.; Amand, J. **2001**. Mineralization of aged atrazine and mecoprop in soil and aquifer chalk. *Chemosphere.* 45, 927-934.

Kuhlman, L.R. **1990**. Windrow composting of agricultural and municipal wastes. *Resour. Conserv. Recycl.* 4, 151-160.

Laird, D. A. **1996**. Interactions between atrazine and smectite surfaces. En: *Herbicides metabolites in surface waters and ground waters Meyers y Truman (eds.) Am. Chem. Soc., Washington D. C., pp. 86-100.*

Lambert, S. M. **1968**. Omega: a useful index of soil sorption equilibria. *J. Agric. Food Chem.* 16, 340-343.

Landry, D.; Dousset, S.; Andreux, F. **2004**. Laboratory leaching studies of oryzalin and diuron through three undisturbed vineyard soil columns. *Chemosphere.* 54, 735-742.

Larsson, M.H.; Jarvis, N.J.; Torstensson, G.; Kasteel, R. **1999**. Quantifying the impact of preferential flow on solute transport to tile drains in sandy field soil. *J. Hydrology.* 215, 116-134.

- Lee, L.S.; Rao, P.S.C.; Nkedi-kizza, P.; Delfino, J.J. **1990**. Influence of Solvent and Sorbent Characteristics on Distribution of Pentachlorophenol in Octanol-Water and Soil-Water Systems. *Environ. Sci. Technol.* 24, 654-661.
- Li, H.; Lee, L.S., Fabrege J.R., Jatvert, C.T. **2001**. Role of pH in partitioning and cation exchange of aromatic amine on water-saturated soils. *Chemosphere.* 44, 627-635.
- Linares, A.; Manuel Caba, J.; Ligeró, F.; de la Rubia, T.; Martínez, J. **2003**. Detoxification of semisolid olive-mill wastes and pine-chip mixtures using *Phanerochaete flavidio-alba*. *Chemosphere.* 51, 887-891.
- Liñan, C. *Vademecum de productos fitosanitarios.* **2006**.
- Liu, J.B. y Qian, C.F. 1995. Hydrophobic Coefficients of S-Triazine and Phenylurea Herbicides. *Chemosphere.* 31, 3951-3959.
- Lopez-Piñeiro, A.; Albarrán, A.; Nunes, J.M.R.; Barreto, C. **2008**. Short and medium-term effects of two-phase olive mill waste application on olive grove production and soil properties under semiarid mediterranean conditions. *Biores. Technol.* 99, 7982-7987.
- Loumou, A. y Giourga, C. **2003**. Olive groves: "The life and identity of the Mediterranean". *Agriculture and Human Values.* 20, 87-95.
- Luchetti, F. **2002**. Importance and future of olive oil in the world market - an introduction to olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 559-563.
- Madejón, E.; Galli, E.; Tomati, U. **1998**. Composting of wastes produced by low water consuming olive mill technology. *Agrochimica.* 42, 135-146.
- Madhum, Y.A.; Freed, V.H.; Young, J.L.; Fang, S.C. **1986**. Sorption of Bromacil, Chlortoluron, and Diuron by Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 1467-1471.
- Madhum, Y.A. y Freed, V.H.. **1987**. Degradation of the herbicides bromacil, diuron and chlortoluron in soil. *Chemosphere.* 16, 1003-1011.
- Madrid, L. y Díaz-Barrientos, E. **1991**. Effect of phosphate on the adsorption of 2,4-D on lepidocrocite. *Aust. J. Soil. Res.* 29, 15-23.

Majumdar, K. y Singh, N. Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*. **2007**, 66, 630-637.

Manual de buenas prácticas agrarias en los diferentes sistemas productivos del olivar andaluz. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. **2006**

Martins, J.M. y Mermoud, A. **1998**. Sorption and degradation of four nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. *J Contaminant Hydrology*. 33, 187-210.

Masaphy, S. y Mandelbaum, R.T. **1997**. Atrazine mineralization in slurries from soils irrigated with treated waste water. *Appl. Soil Ecol*. 6, 283-291.

Mazellier, P.; Jirkovsky, J.; Bolte, M. **1997**. Photodegradation of diuron induced by iron(III) in aqueous solution. *Pestic. Sci*. 49, 259-267.

McCarthy, J.F. y Zachara, J.M. **1989**. Subsurface transport of contaminants. *Environm. Sci. Technol*. 23, 496-502.

McGechan, M.B. y Lewis, D.R. **2002**. Transport of particulated and colloid-sorbed contaminants through soil, Part 1: General principles. *Biosystems Engineering* 83(3), 255-273.

Menasseri, S.; Koskinen, W.C.; Yen, P.Y. **2004**. Sorption of aged dicamba residues in soil. *Pest Manage. Sci*. 60, 297-304.

Mersie, W. y Foy, C. L. **1985**. Phytotoxicity and adsorption of chlorsulfuron as affected by soil properties. *Weed Sci*. 33, 564-568.

Monkiedje, A. y Spiteller, M. **2002**. Sorptive behavior of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, and their acid metabolite in typical Cameroonian and German soils. *Chemosphere*. 49, 659-668.

Moore, D.M. y Reynolds, Jr. R.C. **1987**. X-Ray diffraction, identification and analysis of Clay Minerals. Oxford University Press. New York.

Moorman, T.B.; Cowan, J.K.; Arthur, E.L.; Coats, J.R. **2001**. Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biol. Fertility Soils*. 33, 541-545.

- Morillo, E.; Pérez-Rodríguez, J.L.; Maqueda, C. **1991**. Mechanisms of Interaction Between Montmorillonite and 3-Aminotriazole. *Clay Minerals*. 26, 269-279.
- Morillo, E.; Maqueda, C.; Reinoso, R.; Undabeytia, T. **2002**. Effect of two organic amendments on norflurazon retention and release by soils of different characteristics. *Environ. Sci. Technol.* 36, 4319-4325.
- Mordaunt, C.J.; Gevao, B.; Jones, K.C.; Semple, K.T. **2005**. Formation of non-extractable pesticide residues: observations on compound differences, measurement and regulatory issues. *Environ. Pollut.* 133, 25-34.
- Muller, K.; Smith, R.E.; James, T.K.; Holland, P.T.; Rahman, A. **2003**. Spatial variability of atrazine dissipation in an allophanic soil. *Pest Manag. Sci.* 59, 893-903.
- Muñoz, A.; López-Piñero, A.; Cox, L.; Cornejo, J.; Ramírez, M. **2008**. Effect of terbuthylazine and diuron on the microbial communities of soils amended with olive-mill waste. 5th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment. 11th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides. Marseille, France. pp.169.
- Nair, D.R y Schnoor, J.L. **1994**. Effect of soil conditions on model parameters and atrazine mineralization rates. *Water Res.* 28, 1199-1205.
- Nakasaki, K., Yaguchi, H., Sasaki, Y., Kubota, H. **1992**. Effects of C/N Ratio on Thermophilic Composting of Garbage. *J. Fermentation Bioeng.* 73, 43-45.
- Navarro Blaya, S. **1986**. Dinámica de los plaguicidas en el suelo. En: *Plaguicidas en Suelos, Serie: Monografías del Medio Ambiente nº 4* J. Cornejo y J.L. Pérez Rodríguez (Eds.), Agencia de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, Sevilla, pp.11-41.
- Navarro, S.; Vela, N.; García, C.; Navarro, G. **2003**. Persistence of simazine and terbuthylazine in a semiarid soil after organic amendment with urban sewage sludge. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7359-7365.
- Nearpass, D.C. **1976**. Adsorption of picloram by humic acids and humin. *Soil Sci.* 121, 272-277.

Negre, M.; Schulten, H.R.; Gennari, M.; Vindrola, D. **2001**. Interaction of imidazolinone herbicides with soil humic acids. Experimental results and molecular modeling. *J. Environ. Sci. Health B*. 36, 107-125.

Nelson, D.V. y Sommers, L.E. **1982**. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Biological Methods*, American Society of Agronomy and Soil Science of America, Madison, WI. pp. 539-579.

Nelson, S.D.; Letey, J.; Farmer, W.J.; Williams, C.F.; Ben-Hur, M. **1998**. Facilitated transport of napropamide by dissolved organic matter in sewage sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.* 27, 1194-1200.

Nemeth-Konda, L.; Füleky, G.; Morovjan, G.; Csokan, P. **2002**. Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazin, diazinon, imidacloprid and isoproturon on Hungarian agricultural soil. *Chemosphere*. 48, 545-552.

Nicholls, P. H. **1988**. Factors influencing the entry of pesticides into soil water. *Pest. Sci.* 22,123-137.

Nkedi-Kizza, P. y Brown, K.D. **1998**. Sorption, degradation, and mineralization of carbaryl in soils, for single-pesticide and multiple-pesticide systems. *J. Environ.Qual.* 27, 1318-1324.

Nogales, R.; Melgar, R.; Guerrero, A.; Lozada, G.; Benítez, E.; Thompson, R. Gómez, M. **1999**. Growth and reproduction of *Eisenia andrei* in dry olive cake mixed with other organic wastes. *Pedobiologia*. 43, 744-752.

Oades, J.M. **1989**. An introduction to organic matter in mineral soils. En: *Minerals in soil environments*. J.B. Dixon y S.B. Weed (eds.). 2nd Ed., Wiley-Interscience, Madison, pp. 89-159.

Oconnor, G.A.; Wierenga, P.J.; Cheng, H.H.; Doxtader, K.G. **1980**. Movement of 2,4,5-T Through Large Soil Columns. *Soil Sci.* 130, 157-162.

Oesterreich, T.; Klaus, U.; Volk, M.; Neidhart, B.; Spiteller, M. **1999**. Environmental fate of amitrole: Influence of dissolved organic matter. *Chemosphere*. 38, 379-392.

Osgerby, J.M. **1970**. Sorption of un-ionized pesticides by soils. En: *Sorption and Transport Processes in Soils*. SCI Monograph 37, pp.63-78.

- Paredes, C.; Roig, A.; Bernal, M.P.; Sánchez-Monedero, M.A.; Cegarra, J. **2000**. Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biol. Fertility Soils*. 32, 222-227.
- Paredes, C.; Cegarra, J.; Bernal, M.P.; Roig, A. **2005**. Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. *Environ. Int.* 31, 305-312.
- Parker, L.W. y Doxtader, K.G. **1983**. Kinetics of the microbial degradation of 2,4-D in soil: Effects of temperature and moisture. *J. Environ. Qual.* 12, 553-558.
- Patakioutas, G. y Albanis, T.A. **2002**. Adsorption-desorption studies of alachlor, metolachlor, EPTC, chlorothalonil and pirimiphos-methyl in contrasting soils. *Pest Manag. Sci.* 58, 352-362.
- Perrin-Ganier, C.; Sciavon, F.; Morel, J.L.; Schiavon, M. **2001**. Effect of sludge-amendment or nutrient addition on the biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *Chemosphere*. 44, 887-892.
- Piccolo, A.; Conte, P.; Scheunert, I.; Paci, M. **1998**. Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. *J. Environ. Qual.* 27, 1324-1333.
- Pignatello, J.J. **1989**. Sorption dynamics of organic chemicals in soils and sediments. En: *Reaction and Movement of Organic Chemicals in Soils*. B.L. Sawhney y K. Brown (eds.). Amer. Soc. Agr., Madison, WI, pp. 45-80.
- Pignatello J.J.; Ferrandino, F.J.; Huang, L.Q. **1993**. Elution of aged and freshly added herbicides from a soil. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1563-1571.
- Piotrowska, A.; Iamarino, G.; Rao, M.A.; Gianfreda, L. **2006**. Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 600-610.
- Piutti, S.; Marchand, A.L.; Lagacherie, B.; Martin-Laurent, F.; Soulas, G. **2002**. Effect of cropping cycles and repeated herbicide applications on the degradation of diclofopmethyl, bentazone, diuron, isoproturon and pendimethalin in soil. *Pest Manag. Sci.* 58, 303-312.

Prado, A.G.S. y Airoidi, C. **2001a**. Microcalorimetry of the degradation of the herbicide 2,4-D via the microbial population on a typical Brazilian red Latosol soil. *Termochimica Acta*. 371, 169-174.

Prado, A.G.S. y Airoidi, C. **2001b**. The effect of the herbicide diuron on soil microbial activity. *Pest Manag. Sci.* 57, 640-644.

Pusino, A.; Braschi, I.; Petretto, S.; Gessa, C. **1999**. Photodegradation of herbicide triasulfuron. *Pest. Sci.* 55, 479-481.

Reddy K. S. y Gambrell, R.P. **1987**. Factors affecting the adsorption of 2,4-D and methyl parathion in soils and sediments. *Agric. Ecosys. Environ.* 18, 231-241.

Regitano, J.B.; Alleoni, L.R.F.; Vidal-Torrado, P.; Casagrande, J.C.; Tornisielo, V.L. **2000**. Imazaquin sorption in highly weathered tropical soils. *J. Environ. Qual.* 29, 894-900.

Regitano, J.B.; Koskinen, W.C.; Sadowsky, M.J. **2006**. Influence of soil aging on sorption and bioavailability of simazine. *J. Agric. Food Chem.* 54, 1373-1379.

Roig, A.; Cayuela, M.L.; Sánchez-Monedero, M.A. **2006**. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Manag.* 26, 960-969.

Romero, E.; Dios, G.; Mingorance, M.D.; Matallo, M.B.; Peña, A.; Sánchez-Rasero, F. **1998**. Photodegradation of mecoprop and dichlorprop on dry, moist and amended soil surfaces exposed to sunlight. *Chemosphere* 37, 577-589.

Romero, E.; Benitez, E.; Nogales, R. **2005**. Suitability of wastes from olive-oil industry for initial reclamation of a Pb/Zn mine tailing. *Water Air Soil Pollut.* 165, 153-165.

Romero, E.; Salido, A.; Cifuentes, C.; Fernandez, J.D.; Nogales, R. **2006**. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 86, 289-297.

Rouchaud, J.; Neus, O.; Bulcke, R.; Cools, K.; Eelen, H.; Dekkers, T. **2000**. Soil dissipation of diuron, chlorotoluron, simazine, propyzamide, and diflufenican herbicides after repeated applications in fruit tree orchards. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 60-65.

- Roy, S.B. y Dzombak, D.A. **1997**. Chemical factors influencing colloidal-facilitated transport of contaminants in porous media. *Environ. Sci. Technol.* 31, 656-664.
- Roy, C.; Gaillardon, P.; Montfort, F. **2000**. The effect of soil moisture content on the sorption of five sterol biosynthesis inhibiting fungicides as a function of their physicochemical properties. *Pest Manag. Sci.* 56, 795-803.
- Russell, J.D.; Cruz, M.I.; White, J.L. **1968**. Adsorption of 3-Aminotriazole by Montmorillonite. *J. Agric. Food Chem.* 16, 21-24.
- Rutherford, D.W. y Chiou, C.T. **1992**. Effect of Water Saturation in Soil Organic-Matter on the Partition of Organic-Compounds. *Environ. Sci. Technol.* 26, 965-970.
- Rutherford, D.W.; Chiou, C. T.; Kile, D.E. **1992**. Influence of soil organic matter on the partition of organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 26, 965-970.
- Said-Pullicino, D.; Gigliotti, G.; Vella, A.J. **2004**. Environmental fate of triasulfuron in soils amended with municipal waste compost. *J. Environ. Qual.* 33, 1743-1751.
- Sakaliene, O.; Papiernik, S.K.; Koskinen, W.C.; Spokas, K.A. **2007**. Sorption and predicted mobility of herbicides in Baltic soils. *J. Environ. Sci. Health B.* 42, 641-647.
- Salvestrini, S.; Coppola, E.; Capasso, S. **2004**. Determination of the microscopic rate constants for the hydrolysis of diuron in soil/water mixture. *Chemosphere.* 55, 333-337.
- Samanta, S.; Kole, R. K.; Chowdury, A. **1999**. Photodegradation of metsulfuron methyl in aqueous solution. *Chemosphere.* 39, 873-879.
- Sánchez, L.; Romero, E.; Castillo, A.; Peña, A. **2006**. Field study of methidathion in soil amended with biosolid and a cationic surfactant under different irrigation regimes. Solute transport modeling. *Chemosphere.* 63, 616-625.
- Sánchez-Camazano, M.; Sánchez-Martín, M.J.; Poveda, E.; Iglesias-Jiménez, E. **1996**. Study of the effect of exogenous organic matter on the mobility of

pesticides in soils using soil thin-layer chromatography. *J. Chromatography A*. 754, 279-284.

Sánchez-Camazano, M.; Sánchez-Martín, M.J.; Delgado-Pascual, R. **2000**. Adsorption and mobility of linuron in soils as influenced by soil properties, organic amendments, and surfactants. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3018-3026.

Sanjuán, A.; Aguirre, G.; Álvaro, M.; García, H. **2000**. 2,4,6-triphenylpyrylium ion encapsulated within Y zeolite as photocatalyst for the degradation of methyl parathion. *Water Res.* 34, 320-326.

Santiago-Mora, R.; Martin-Laurent, F.; de Prado, R.; Franco, A.R. **2005**. Degradation of simazine by microorganisms isolated from soils of Spanish olive fields. *Pest Manag. Sci.* 61, 917-921.

Sarmah, A.J.; Kookana, R.S.; Alston, A.M. **1998**. Fate and behaviour of triasulfuron, metsulfuron-methyl, and chlorsulfuron in the Australian soil environment: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 49, 775-790.

Schmidt, D. y Fedkte, C. **1997**. Metamitron activity in tolerant and susceptible plants. *Pest. Sci.* 8, 611-617.

Schulten, H-R; Thomsen, M.; Carlsen, L. **2001**. Humic complexes of diethyl phthalate: molecular modelling of sorption process. *Chemosphere*. 45, 357-369.

Schwertmann, U. y Taylor, R. M. **1989**. Iron oxides. En: *Minerals in Soil Environments*. J. B. Dixon y S. B. Weed (eds.). 2nd Ed., Madison WI, pp. 379-439.

Scow, K.M. y Hutson, J. **1992**. Effect of Diffusion and Sorption on the Kinetics of Biodegradation - Theoretical Considerations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 119-127.

Senesi, N; Testini, C.; Miano, T.M. **1987**. Interaction mechanisms between humic acids of different origin and nature and electron donor herbicides: a comparative IR and ESR study. *Org. Geochem.* 11, 25-30.

Senesi, N. **1992**. Binding Mechanisms of Pesticides to Soil Humic Substances. *Sci. Total Environ.* 123, 63-76.

Senesi, N. **1993**. Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter. Molecular mechanistic aspects. En: Migration and fate of Pollutants in Soils and Subsoils D. Petruzzelli y F.G. Helfferich (eds.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 47-77.

Senesi, N.; LaCava, P.; Miano, T.M. **1997**. Adsorption of imazethapyr to amended and nonamended soils and humic acids. *J. Environ. Qual.* 26, 1264-1270.

Seybold, C.A. y Mersie, W. **1996**. Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, hydroxyatrazine, and metolachlor in two soils from Virginia. *J. Environ. Qual.* 25, 1179-1185.

Shea, P. J. y Weber, J. B. **1983**. Effect of soil pH on flouiridone activity and persistence as determinated by chlorophyl measurements. *Weed Sci.* 31, 347-350.

Sheals, J.; Sjoberg, S.; Persson, P. **2002**. Adsorption of glyphosate on goethite: Molecular characterization of surface complexes. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3090-3095.

Si, Y.; Zhang, J.; Wang, S.; Zhang, L.; Zhou, D. **2006**. Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuron-methyl in acidic soils in China. *Geoderma.* 130, 66-76.

Singer, J.W.; Logsdon, S.D.; Meek, D.W. **2008**. Soybean growth and seed yield response to tillage and compost. *Agron. J.* 100, 1039-1046.

Singh, N. ; Kloeppeel, H. ; Klein, W. **2001**. Sorption behavior of metolachlor, isoproturon, and terbuthylazine in soils. *J. Environ. Sci. Health B.* 36, 397-407.

Singh, N.; Kloeppeel ,H.; Klein, W. **2002**. Movement of metolachlor and terbuthylazine in core and packed soil columns. *Chemosphere.* 47, 409-415.

Silva, J.P.D.; Silva, A.M.D.; Khimelinskii, I.V.; Martinho, J.M.G.; Ferreira, L.F.V. **2001**. Photophysics and photochemistry of azole fungicides: triadimefon and triadimenol. *J. Photochem. Photobiol. A.* 142, 31-37.

Slusznny, C.; Graber, E.R.; Gerstl, Z.; **1999**. Sorption of s-triazine herbicides in organic matter amended soils: Fresh and incubated systems. *Water Air Soil Pollution.* 115, 395-410.

Socias-Viciano, M.H.; Fernández-Pérez, M.; Villafranca-Sánchez, R.; González-Pradas, E.; Flores-Céspedes, F. **1999**. Sorption and leaching of atrazine and MCPA in natural and peat-amended calcareous soils from Spain. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1236-1241.

Sorensen, S.R.; Bending, G.D.; Jacobsen, C.S.; Walker, A.; Aamand, J. **2003**. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45, 1-11.

Stevenson, F.J. **1985**. Geochemistry of soil humic substances. En: *Humic substances in soil, sediment, and water*. Aiken, G.R.; McKnight, D.M., Wershaw, R.L., MacCarthy, P. (eds.), Wiley-Interscience, New York, pp. 13-52.

Stork, P.R.; Bennett, F.R.; Bell, M.J. **2008**. The environmental fate of diuron under a conventional production regime in a sugarcane farm during the plant cane phase. *Pest Manage. Sci.* 64, 954-963.

Tan, S. y Singh, M. **1995**. Leaching of Bromacil and Norflurazon As Affected by Herbicide Mixture. *J. Environ. Qual.* 24, 970-972.

Tejada, M. y González, J.L. **2007**. Application of different organic wastes on soil properties and wheat yield. *Agron. J.* 99, 1597-1606.

Theng, B.K.G. **1974**. The chemistry of clay-organic reactions, Wiley-Interscience, New York.

Thevenot, M. ; Dousset, S. ; Rousseaux, S. ; Andreux, F. **2008**. Influence of organic amendments on diuron leaching through an acidic and a calcareous vineyard soil using undisturbed lysimeters. *Environ. Poll.* 153, 148-156.

Thompson, R.B. ; Nogales, R. **1999**. Nitrogen and carbon mineralization in soil of vermi-composted and unprocessed dry olive cake ("orujo seco") produced from two-stage centrifugation for olive oil extraction. *J. Environ. Sci. Health B.* 34, 917-928.

Thorstensen, C.W. y Lode, O. **2001**. Laboratory degradation studies of bentazone, dichlorprop, MCPA, and propiconazole in Norwegian soils. *J. Environ. Qual.* 30, 947-953.

- Tomlim, C. D. The e-Pesticide Manual. A World Compedium, version 4.1. BCPC, Farham U.K. (2007-2008).
- Topalov, A.; Molnár-Gábor, D; Csanádi, J. **1999**. Photocatalytic oxidation of fungicide metalaxyl dissolved in water over TiO₂, *Water. Res.* 33, 1371-1376.
- Turin, H.J. y Bowman, R.S. **1997**. Sorption behavior and competition of bromacil, napropamide, and prometryn. *J. Environ. Qual.* 26, 1282-1287.
- Undabeytia, T.; Sánchez-Verdejo, T.; Morillo, E.; Maqueda, C. **2004**. Effect of organic amendments on the retention and mobility of imazaquin in soils. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4493-4500.
- Van Loosdrecht, M.C.M.; Lyklema, J.; Norde, W.; Zehnder, A.J.B.. **1990**. Influence of Interfaces on Microbial Activity. *Microbiol. Rev.* 54, 75-87.
- Von Oepen, B.; Kördel, W.; Klein, W. **1991**. Sorption of nonpolar and polar compounds to soils: Processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. *Chemosphere.* 22, 285-304.
- Walker, A. y Welch, S.J. **1989**. The relative movement and persistence in soil of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl and triasulfuron. *Weed Res.* 29, 375-383.
- Walker, A.; Cotterill, E. G; Welch, S. J. **1989**. Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soils from differents depths. *Weed Res.* 29, 281-287.
- Walker, S.R. y Blacklow, W.M. **1994**. Adsorption and Degradation of Triazine Herbicides in Soils Used for Lupin Production in Western-Australia - Laboratory Studies and A Simulation-Model. *Aus. J. Soil Res.* 32, 1189-1205.
- Watson, J.R.; Posner, A. M.; Quirk, J.P. **1973**. Adsorption of the herbicide 2,4-D on goethite. *J. Soil Sci.* 24, 503-511.
- Wauchope, R. D. **1978**. The pesticide content of surface water drainage from agricultural fields: a review. *J. Environ. Qual.* 7, 459-472.
- Wauchope, R. D. y Myers, R. S. 1985. Adsorption-desorption kinetics of atrazine and linuron in freshwater sediments aqueous slurries. *J. Environ. Qual.* 14, 132-136.

Wauchope, R.D.; Buttler, T.M.; Hornsby, A.G.; Augustijn-Beckers, P.W.M.; Burt, J.P. **1992**. The SCS/ARS/CES Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making. *Rev. Environ. Contamination Toxicol.* 123, 1-155.

Wauchope, R.D.; Yeh, S.; Linders, J.B.H.J.; Kloskowski, R.; Tanaka, K.; Rubin, B.; Katayama, A.; Kördel, W.; Gerstl, Z.; Lane, M. y Unsworth, J.B. **2002**. Review: Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest. Manag. Sci.* 58, 419-445.

Weber, J. B.; Swain, L. R.; Strek, H. J. ; Sartori, J. L. **1980**. Herbicide mobility in soil leaching columns. En: *Research Methods in Weed Science*. N. D. Camper (ed.). Southern Weed Science Society. Champaign, IL, pp 189-200.

Weber, J. B. **1982**. Ionization and adsorption-desorption of tricyclazole by soil organic matter, montmorillonite clay, and Cape Fear sandy loam soil. *J. Agric. Food Chem.* 30, 584-588.

Weber J.B.; Shea, P.H.; Weed, S.B. **1986**. Fluoridona retention and release in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 582-588.

Wershaw, R.L. **1986**. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems. *J. Contam. Hydrol.* 1, 29-45.

White, R. E.; Dyso, J. S.; Gerstl, Z.; Yaron, B. **1986**. Leaching of herbicides through undisturbed cores of structures clay soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 277-283.

Wienhold, B.J. y Gish, T. J. **1994**. Effect of formulation and tillage practice on volatilization of atrazine and alachlor. *J. Environ. Qual.* 23, 292-298.

Williams, C.F.; Letey, J.; Farmer, W.J. **2002**. Molecular weight of dissolved organic matter-napropamide complex transported through soil columns. *J. Environ. Qual.* 31, 619-627.

Wolfe, N. L.; Mingelgrin, U.; Miller, G.C. **1990**. Abiotic transformations in water, sediments, and soil. En: *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts, and modeling*. H. H. Cheng (ed.). SSSA, Madison, WI, pp. 103-168.

- Worrall, F.; Parker, A.; Rae, J. E.; John, A. C. **1999**. A study of suspended and colloidal matter in the leachate from lysimeters and its role in pesticide transport. *J. Environ. Qual.* 28, 595-604.
- Worrall, F.; Fernández-Pérez, M.; Johnson, A.C.; Flores-Céspedes, F.; González-Pradas, E. **2001**. Limitation of the role of incorporated organic matter in reducing pesticide leaching. *J. Contaminant Hydrology.* 49, 241-262.
- Xing, B. y Pignatello, J.J. **1997**. Dual-mode sorption of low-polarity compounds in glassy poly (vinyl chloride) and soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 31, 792-799.
- Yang, Y.; Sheng, G.; Huang, M. **2006**. Bioavailability of diuron in soil containing wheat-straw-derived char. *Sci. Total Environ.* 354, 170-178.
- Yen, J-H; Sheu, W-S; Wang, Y-S. **2003**. Dissipation of the herbicide oxyfluorfen in subtropical soils and its potential to contaminate groundwater. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 54, 151-156.
- Zech, W; Ziegler, F., Kögel-Knabner, I; Haumaier, L. **1994a**. Humic substances distribution and transformation in forest soils. *Sci. Total Environ.* 117/118, 155-174.
- Zech, W; Guggenberger, G.; Schulten, H-R. **1994b**. Budgets and chemistry of dissolved organic carbon in forest soils: effects of anthropogenic soils acidification. *Sci. Total Environ.* 152, 49-62.
- Zsolnay, A. y Steindl, H. **1991**. Geovariability and biodegradability of the water-extractable organic material in an agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.* 23, 1077-1082.
- Zsolnay, A. **2003**. Dissolved organic matter: artefacts, defenitions, and functions. *Geoderma.* 113, 187-209.
- Zysset, M. y Berggren, D. **2001**. Retention and release of dissolved organic matter in podzol B horizons. *Eur. J. Soil Sci.* 52, 409-421.



7. PUBLICACIONES

Fate of Diuron and Terbutylazine in Soils Amended with Two-Phase Olive Oil Mill Waste

A. CABRERA,[†] LUCIA COX,^{*,†} P. VELARDE,[†] WILLIAM C. KOSKINEN,[§] AND
JUAN CORNEJO[†]

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla IRNAS CSIC, P.O. Box 1052, 41080
Sevilla, Spain, and Department of Soil, Water, and Climate, University of Minnesota,
1991 Upper Buford Circle, St. Paul, Minnesota 55108

The addition of organic amendments to soil increases soil organic matter content and stimulates soil microbial activity. Thus, processes affecting herbicide fate in the soil should be affected. The objective of this work was to investigate the effect of olive oil production industry organic waste (alperujo) on soil sorption–desorption, degradation, and leaching of diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] and terbutylazine [*N*-*tert*-butyl-6-chloro-*N*-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine], two herbicides widely used in olive crops. The soils used in this study were a sandy soil and a silty clay soil from two different olive groves. The sandy soil was amended in the laboratory with fresh (uncomposted) alperujo at the rate of 10% w/w, and the silty clay soil was amended in the field with fresh alperujo at the rate of 256 kg per tree during 4 years and in the laboratory with fresh or composted alperujo. Sorption of both herbicides increased in laboratory-amended soils as compared to unamended or field-amended soils, and this process was less reversible in laboratory-amended soils, except for diuron in amended sandy soil. Addition of alperujo to soils increased half-lives of the herbicides in most of the soils. Diuron and terbutylazine leached through unamended sandy soil, but no herbicide was detected in laboratory-amended soil. Diuron did not leach through amended or unamended silty clay soil, whereas small amounts of terbutylazine were detected in leachates from unamended soil. Despite their higher sorption capacity, greater amounts of terbutylazine were found in the leachates from amended silty clay soils. The amounts of dissolved organic matter from alperujo and the degree of humification can affect sorption, degradation, and leaching of these two classes of herbicides in soils. It appears that adding alperujo to soil would not have adverse impacts on the behavior of herbicides in olive production.

KEYWORDS: Diuron; terbutylazine; soil; organic amendment; alperujo

INTRODUCTION

Olive is one of the most important crops in the Mediterranean region, where 97% of the world's olive oil is produced (1). Spain is the main olive oil producing country in the world, followed by Italy. In the early 1990s, a two-phase centrifugation process was introduced for olive oil extraction. This process extracts more oil from the olives and consumes less water and energy as compared to other processes and does not produce olive mill wastewater (2). The two-phase process for olive oil extraction produces a solid waste (alperujo), which is rich in organic matter, including lignin (3, 4). Large amounts of this residue are generated in short periods of time: in Spain alone, this new system generates approximately 4 000 000 Mg per year of alperujo, usually from November to January, and represents a major potential environmental problem.

The soils of the countries of the Mediterranean region are characterized by a low organic matter (OM) content (5). To improve the amount of organic matter in these soils, the use of organic amendments, such as sewage sludge, manure, and urban waste, has been suggested. Alperujo has a very high organic matter content (90%); therefore, its use as soil amendment has been proposed to enrich soils poor in organic matter and as a solution for its disposal without any expensive chemical or thermal treatment (6, 7). Also, this residue has the advantage of being free of pathogens and heavy metals. The application of olive mill wastes to the land, either raw or after composting, properly mixed, and incorporated at acceptable loading rates, might constitute an extremely effective contribution to increasing crop yields and to maintaining or improving soil fertility (8, 9).

Diuron and terbutylazine are commonly used herbicides in olive tree cultures in Spain. Diuron is a substituted-urea herbicide used to control a wide variety of annual and perennial weeds. It is absorbed by plant roots and interferes in the

* Corresponding author: e-mail, lcox@irnase.csic.es.

[†] Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla IRNAS CSIC.

[§] University of Minnesota.

photosynthetic process in the Hill reaction. It is used on many agricultural crops and also for long-term pre-emergence weed control in noncrop areas (10). It is relatively persistent in soil with half-lives from 1 month to 1 year (11). Microbial degradation is considered to be the primary mechanism for its dissipation from soil (12, 13). Diuron has been detected in surface waters at concentrations of $>5 \mu\text{g/L}$ (14).

Terbutylazine is a chloro-*S*-triazine herbicide used for pre-emergence and postemergence weed control (15). It is absorbed by roots and inhibits the Hill reaction and CO_2 sorption in the chlorophyll function. Triazines are weak bases with low water solubility. The main degradation process is microbial (16–18). The main terbutylazine metabolites, formed by dealkylation (desethylterbutylazine) and hydroxylation (2-hydroxydesethylterbutylazine), and the parent compound have been detected in groundwater and are considered to be potential pollutants for aquifer contamination (19).

It is known that sorption–desorption, leaching, and dissipation of chemicals in soils are influenced by the soil OM content. Increased OM in soil generally results in greater pesticide sorption, decreased leaching, and greater persistence in soil. Increased sorption may decrease the bioavailability of the pesticides, resulting in inadequate pest control. These effects have been observed in soils amended with sewage sludge and carbon-rich waste materials (20, 21). The aim of this work was to determine the influence of the two-phase olive oil mill waste (alperujo), when added to soils as amendment, on the soil processes affecting the bioavailability, that is, sorption–desorption, degradation, and leaching, of the herbicides diuron and terbutylazine.

MATERIALS AND METHODS

Herbicides. Diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] (purity = 99%), purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) is a crystalline colorless solid, which has solubility in water of 36.4 mg L^{-1} at 25°C and $\log K_{ow}$ (25°C) of 2.85 ± 0.03 (22). [^{14}C]Diuron (5.43 MBq/mg, $>95\%$ radiochemical purity) was purchased from IZOTOP Institute of Isotopes Co. (Budapest, Hungary). Terbutylazine (*N*²-*tert*-butyl-6-chloro-*N*⁴-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) (99% purity) was also purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH. It is a colorless powder with a water solubility of 8.5 mg L^{-1} at 20°C and $\log K_{ow}$ of 3.21 (22). [^{14}C]Terbutylazine (1.99 MBq/mg and 94.3% radiochemical activity) was kindly supplied by Syngenta (Basel, Switzerland).

Soils and Organic Amendments. Two soils were used in this study: a sandy soil (SS) (pH 8.4, 0.63% OM, 20% clay, 71% sand) from an olive grove located in Coria del Río (Sevilla, Spain) and a silty clay soil (SC) (pH 8.3, 1.84% OM, 52% clay, 6% sand) from an olive grove located in Mengibar (Jaen, Spain). Soil SC was amended with alperujo from Mengibar in the field (FA) from 2002 to 2005 at a rate of 18000 kg ha^{-1} (SC+FA). Soil SC amended in the field (SC+FA) and unamended soils SC and SS were sampled with a spade, air-dried, and sieved to pass a 2 mm mesh. Unamended SS and SC soils were amended in the laboratory (10% w/w) with the same alperujo added in the field (SS+A and SC+A, respectively). Alperujo had the following properties: pH 5.8, 93.2% OM, 25 g kg^{-1} dissolved organic carbon (DOC), and C/N = 18.3. Unamended SC soil was also amended in the laboratory with a 10% w/w composted alperujo (SS+CA) from the same source. This alperujo was composted by air-drying fresh alperujo in a tank to favor the fermentation process and to reduce polyphenols. Composted alperujo had the following properties: pH 7.9, 49.2% OM, $3000 \mu\text{g g}^{-1}$ DOC, and C/N = 16.5. After composting, olive tree prunings and leaves were added to facilitate aeration. The amendment was weighed and added to the soil, and the mixture was sieved twice with a 2 mm sieve to homogenize the amendment and soil. OM of the soil samples (unamended and amended) and amendments (uncomposted alperujo and composted alperujo) was determined by dichromate oxidation (23), soil pH was determined in a 1:2 (w/w) soil/deionized water mixture, and texture was determined by sedimentation.

The organic amendments were further characterized by fluorescence spectroscopy. The DOC from alperujo and composted alperujo was obtained by shaking with a 0.1 M CaCl_2 solution, which minimized the extraction of clay and mimicked the ionic strength of the pore water (24). Suspensions were shaken for 15 min at room temperature, centrifuged at 1000g for 15 min, and then filtered through a $0.4 \mu\text{m}$ pore polycarbonate filter. DOC was measured with a Shimadzu TOC-5050A Total Carbon Analyser (Duisburg, Germany). The fluorescence spectra, from 300 to 480 nm, were obtained in a Varian Cary Eclipse fluorescence spectrophotometer (Palo Alto, CA) using 1 cm cuvettes excited at 254 nm. A humification index (HIX) was calculated from the fluorescence data as (25):

$$\text{HIX} = \frac{\sum_{\text{WI}=435}^{480} I_{\text{WI}}}{\sum_{\text{WI}=300}^{345} I_{\text{WI}}}$$

where WI is the wavelength in nanometers and I_{WI} is the fluorescence intensity at this wavelength.

Sorption–Desorption Studies. Duplicate samples (5 g) of unamended and amended soils were treated with 10 mL of diuron and terbutylazine solutions (initial concentrations, C_i , ranged from 5 to $50 \mu\text{M}$ in 0.01 M CaCl_2). Previously, it was determined that equilibrium was reached in $<24 \text{ h}$ and that no measurable degradation occurred during this period. Equilibrium concentrations (C_e) in the supernatants after 24 h of equilibration time were determined by HPLC under the following conditions: Nova-Pack column, 150 mm length \times 3.9 mm i.d.; column packing, C18; flow rate, 1 mL min^{-1} ; eluent system for diuron 60:40 water/acetonitrile mixture and UV detection at 250 nm and for terbutylazine 50:50 water/acetonitrile mixture and detection at 222 nm. Differences between C_i and C_e were assumed to be the amounts sorbed (C_s). Sorption isotherms were fitted to the Freundlich equation, $C_s = K_f C_i^{1/n_f}$, and sorption coefficients K_f and $1/n_f$ calculated. Sorption coefficients K_f normalized to organic carbon (OC) content of the soils (K_{oc}) were also calculated, $K_{oc} = K_f/\text{OC} \times 100$.

Herbicide desorption was made with successive washings (three times) with 0.01 M CaCl_2 of the soil that was initially equilibrated with $50 \mu\text{M}$ herbicide concentration for 24 h. Desorption isotherms were fitted to the Freundlich equation, and the hysteresis coefficient was calculated, $H = [(1/n_{f,des})/(1/n_{f,sor})] \times 100$.

Degradation Studies. Duplicate samples (500 g) of each soil were treated with an ethanol solution of diuron or terbutylazine to give a final concentration of 3 mg kg^{-1} of dry soil. After moisture contents had been adjusted to 40% of soil water-holding capacity, soil samples were thoroughly mixed, transferred to glass jars, capped, and incubated in the dark at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 33 days. Moisture contents were maintained at a constant level throughout the experiment by adding distilled water as necessary. Soils were sampled periodically and diuron and terbutylazine extracted by shaking 5 g of soil with 10 mL of methanol for 24 h. Recoveries were $>90\%$. Methanol extracts were analyzed by HPLC as described above. Diuron and terbutylazine dissipation curves in original and amended soils were fitted to first-order kinetics ($C = C_i e^{-kt}$) and half-lives ($t_{1/2}$) calculated.

Portions (20 g) of SC soil (unamended and amended in the laboratory SC+A) were placed in 250 mL biometer flasks and treated with 0.1 mL of an ethanol solution of [*ring*- ^{14}C]diuron or terbutylazine (1682 Bq) and nonlabeled herbicide to give a concentration of 3 mg kg^{-1} of dry soil. After evaporation of the solvent, the moisture content was adjusted to -0.33 kPa and maintained at constant level throughout the experiment. The flasks were closed with rubber stoppers and incubated at 20°C for a period of 6 weeks. The side arm of the biometer flask contained 1 mL of 1 M NaOH to trap the $^{14}\text{CO}_2$ released during the experiment. The NaOH solution was sampled periodically and replaced with fresh solution. The amount of $^{14}\text{CO}_2$ in the vials was determined by mixing 1 mL of NaOH solution with 5 mL of Beckman Ready Safe Scintillation cocktail and counting radioactivity using a LD 5000 TD Beckman liquid scintillation analyzer.

For photolysis studies, 100 mL of diuron and terbutylazine aqueous solutions (10 mg L^{-1}) was irradiated in 250 mL quartz flasks for 48 h in a Suntest photoreactor equipped with a xenon lamp and a permanent filter selecting wavelength $>290 \text{ nm}$. This apparatus exhibits a radiation

Table 1. Diuron and Terbutylazine Sorption–Desorption Coefficients and Half-Lives ($t_{1/2}$) in Dissipation Studies

	soil pH/%OM	K_f		$1/n$	R^2		$H(\%)$	$t_{1/2}$ (days)	$R^2(t_{1/2})$
		($\text{mg}^{-1}/n \text{ kg}^{-1} \text{ mL}^{1/n}$)	K_{oc}		SORP	DESORP			
diuron	SS 8.4/0.63	2.50 (2.37–2.65) ^a	685 (649–726)	0.79 ± 0.02 ^b	1.00	0.97	62.2	24.0 (22.4–25.7) ^a	0.98
	SS+A 6.8/4.80	10.0 (9.7–10.3)	360 (348–371)	0.87 ± 0.02	1.00	1.00	68.4	342 (125–463)	0.08
	SC 8.2/1.84	4.31 (4.01–4.62)	404 (376–433)	0.84 ± 0.03	1.00	1.00	60.7	103 (81.6–141)	0.79
	SC+A 7.9/4.27	10.3 (9.6–11.1)	415 (386–447)	0.96 ± 0.05	0.99	0.98	54.4	150 (96.4–333)	0.52
	SC+CA 7.9/4.51	7.74 (7.21–8.31)	296 (276–318)	0.97 ± 0.04	0.99	0.98	32.7	155 (112–252)	0.63
	SC+FA 8.5/2.82	3.69 (3.52–3.87)	226 (215–237)	0.88 ± 0.02	0.99	1.00	67.5	61.9 (56.84–67.90)	0.97
terbutylazine	SS 8.4/0.63	1.29 (1.07–1.57)	353 (293–430)	0.95 ± 0.07	0.98	0.96	28.1	110 (103–108)	0.98
	SS+A 6.8/4.80	17.0 (16.3–17.8)	611 (585–639)	0.96 ± 0.04	1.00	0.60	1.67	87.1 (79.0–97.4)	0.96
	SC 8.2/1.84	2.60 (2.29–2.89)	244 (215–271)	0.96 ± 0.05	0.99	1.00	60.5	34.3 (30.7–38.8)	0.95
	SC+A 7.9/4.27	12.0 (11.3–12.8)	485 (456–518)	1.15 ± 0.06	1.00	0.69	17.9	109 (93.5–132)	0.92
	SC+CA 7.9/4.51	8.70 (7.65–9.89)	333 (292–378)	1.05 ± 0.09	0.98	0.96	56.9	88.4 (76.1–108)	0.89
	SC+FA 8.5/2.82	2.50 (2.35–2.78)	153 (144–170)	0.98 ± 0.04	1.00	1.00	64.5	50.8 (48.2–53.7)	1.00

^a Numbers in parentheses are standard errors about the mean K_f or $t_{1/2}$. ^b Numbers are mean $1/n \pm$ standard deviation.

very close to that of natural sunlight (26). Flasks were sampled periodically, and herbicide concentration was determined by HPLC. Photodegradation curves of diuron and terbutylazine as a function of irradiation time were fitted to first-order kinetics and half-lives calculated.

In the case of diuron, photolysis studies with unamended and amended SS soil were also performed. Duplicate amounts of SS and SS+A soils (5 g) were treated with diuron (10 mg kg⁻¹) and moisture content adjusted to 100% of their soil water-holding capacity in 4 cm diameter dishes, which were irradiated for 48 h in the Suntest photoreactor. Moisture content was maintained constant by the addition of water after 30 min of irradiation. After 2, 6, 12, 24, and 48 h of irradiation, soil samples were extracted with methanol (1:2 w/v) and extracts analyzed by HPLC for their herbicide content. Photodegradation curves of diuron in SC and SC+A soils as a function of irradiation time were fitted to first-order kinetics and half-lives calculated.

Leaching Studies. Duplicate columns (3.1 cm i.d.) were hand-packed with amended and unamended soils to a height of 20 cm soil in each column. Glass wool was placed at the bottom of the column to avoid soil losses, and sea sand was added at the top of the soil. After saturation of the soils with 0.01 M CaCl₂ solutions of diuron or terbutylazine in methanol were added to the soil in the column at a rate of 3 kg ha⁻¹. After 24 h, enough time for the methanol to evaporate, 10 mL of 0.01 M CaCl₂ was added daily and the leachates were collected during 30 days. The leachates were analyzed by HPLC, as previously described. At the end of the leaching study, soils were taken out of the columns with N₂ and sectioned into 5 cm increments corresponding to different depths, and the herbicides were extracted with methanol. The extracts were analyzed by HPLC.

RESULTS AND DISCUSSION

Sorption–Desorption Studies. Diuron sorption–desorption isotherm coefficients in the original and amended SS and SC soils are given in **Table 1**. In laboratory-amended sandy soil (SS+A), the addition of alperujo amendment increased OM by a factor of 8 and diuron sorption K_f value by a factor of 4. In laboratory-amended silty clay soil (SC+A), there was a similar increase (2×) in both OM and K_f . Composted alperujo has much lower organic matter and DOC contents (49.2%, 3 g kg⁻¹, respectively) than alperujo (93.2%, 25 g kg⁻¹, respectively), although this OM has a higher HIX (13) than alperujo (HIX = 3). This results in lower sorption coefficient for SC+CA than for SC+A. In field-amended silty clay (SC+FA), sorption of diuron was similar to that in unamended soil SC, despite a 50% increase in OM. These data show that both source and amount of OM can affect diuron sorption (27, 28), as also indicated by the variability in K_{oc} values (**Table 1**).

Alperujo amendments had a similar, but more pronounced, effect on terbutylazine. K_f increased by a factor of 13 in

laboratory-amended SS soil as compared with the 8-fold increase in OM. In laboratory-amended silty clay soil (SC+A), there was a 5-fold increase in K_f as opposed to the 2× increase in OM. Similarly to diuron, composted alperujo (SC+CA) rendered lower sorption coefficients, and in field-amended silty clay (SC+FA) sorption of terbutylazine was similar to that in unamended soil SC, despite a 50% increase in OM. In contrast to diuron, K_{oc} values for terbutylazine increased in every laboratory soil upon amendment (**Table 1**).

For both herbicides, higher hysteresis coefficients (higher reversibility) were observed in SC than in SS soil, which is not in accordance with SC higher sorption capacity (**Table 1**). For SS soil, amendment with alperujo slightly increased diuron hysteresis coefficients, whereas these coefficients greatly decreased in the case of terbutylazine, which indicates a very high increase in irreversibility upon amendment. This can be attributed in part to the higher affinity of terbutylazine for organic matter in SS+A soil than in unamended SS soil: K_{oc} for terbutylazine increased upon amendment by a factor of 1.7, whereas K_{oc} for diuron decreased upon amendment by a factor of 2.

In the case of laboratory-amended SC soil, hysteresis coefficients decreased upon amendment for both herbicides, suggesting lower reversibility, whereas in the field-amended soil hysteresis coefficients slightly increased. One interesting difference between the sorption behavior of diuron and that of terbutylazine in organically amended soils is the lower hysteresis coefficient for diuron in the soil amended with composted alperujo SC+CA of lower sorption capacity than in SC+A. In the case of terbutylazine we find the contrary, higher irreversibility in SC+A of higher sorption capacity (**Table 1**). The higher DOC content of alperujo together with the more polar character of the herbicide diuron when compared to terbutylazine (higher water solubility and lower K_{ow} than terbutylazine) could account for this. The greater affinity of diuron for the high amount of DOC present in alperujo would give rise to a higher reversibility of diuron sorption on SC+A soil than on SC+CA soil, in which the amount of DOC is lower and also less polar, as indicated by its higher HIX. Previous results seem to corroborate this hypothesis, because we have found that diuron is able to form stable complexes with DOC from organic amendments (28).

Degradation Studies. Incubation Studies in the Dark. The increase in organic matter content upon amendment has been shown to promote biodegradation by enhancing microbial populations and activities (29–32). However, we do not observe this effect with alperujo and the herbicides studied. In the case

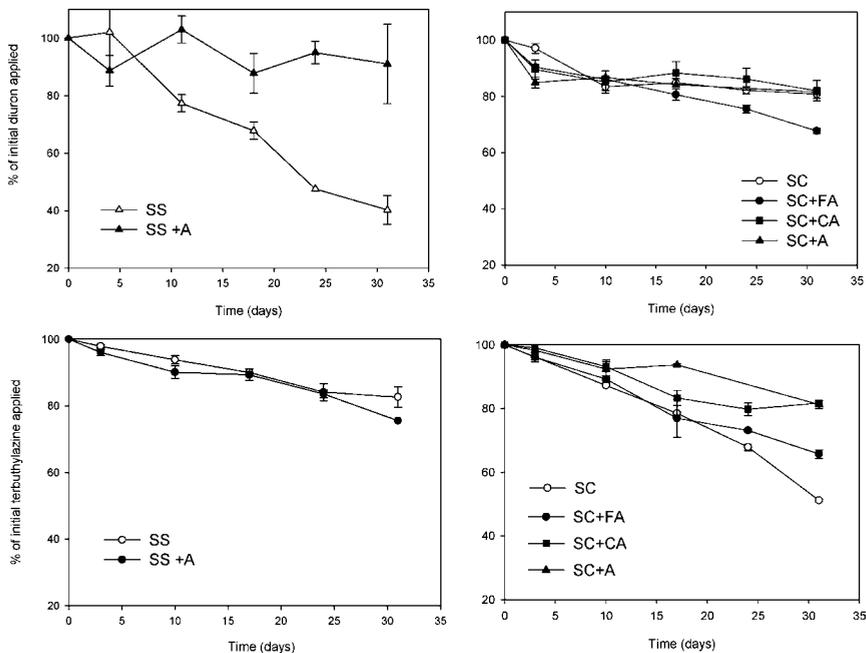


Figure 1. Dissipation of diuron and terbutylazine in unamended and amended SS and SC soils in the dark.

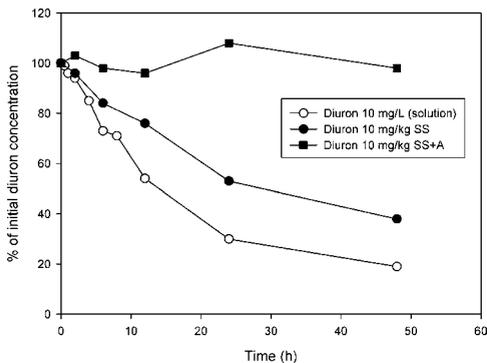


Figure 2. Diuron photodegradation in solution and in unamended and amended SS soils (error bars are smaller than symbols).

of diuron (Figure 1), the shortest half-life was observed in unamended sandy soil SS (Table 1), which had low sorption capacity. When SS was amended with alperujo, diuron concentration remained unaffected after a 30 day incubation period (Figure 1; Table 1). This can be attributed to the very high increase in diuron sorption upon amendment in this soil (Table 1), because sorption protects herbicides from biodegradation (33–35). Little difference was observed between original soil SC and soils amended in the laboratory (SC+A and SC+CA), despite the increase in sorption. However, it should be noted that this increase in sorption upon amendment was much lower than that in sandy soil (Table 1). In the soil amended in the field (SC+FA), the diuron half-life was much lower than in the original soil SC, despite the similar sorption behavior

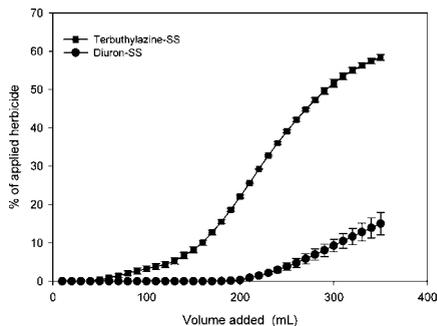


Figure 3. Cumulative leaching of diuron and terbutylazine in SS soil.

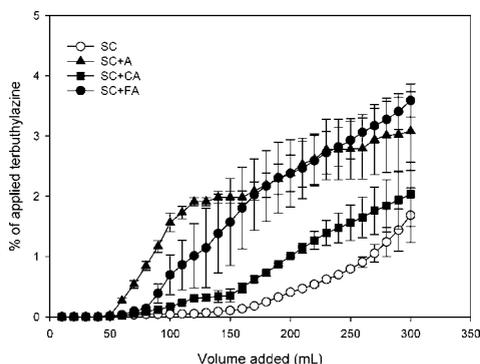
observed, indicating that sorption was not the only process affecting degradation. Previous cropping history seems to be playing an important role in the rapid dissipation of diuron in SC+FA soil, because this soil had been treated in the field with diuron in the past 5 years, whereas soils amended in the laboratory (SC+A and SC+CA) were not treated with diuron during this period. This agrees with data reported by Piutti et al. (36), who found that degradation rates of diuron, isoproturon, and pendimethalin were not affected after the first cropping cycle, but were significantly increased in planted soils after five cropping cycles.

A completely different behavior was observed with terbutylazine (Figure 1; Table 1). Dissipation was very slow in the sandy soil, with a much longer half-life than that observed for diuron, despite the lower persistence reported for terbutylazine than for diuron (22, 37). Small but significant differences were observed between SS and SS+A, despite the great increase in

Table 2. Percentage of Diuron and Terbutylazine Leached and Extracted from the Soil Columns after the Leaching Study

soil		SS	SS+A	SC	SC+A	SC+CA	SC+FA
diuron	leached	13.92 ± 2.93 ^a	0	0	0	0	0
	extracted 0–5 cm	20.05 ± 1.33	0.59 ± 0.14	5.43 ± 0.71	38.11 ± 0.09	19.35 ± 2.99	19.07 ± 1.25
	extracted 5–10 cm	15.17 ± 2.01	10.47 ± 1.63	6.10 ± 0.65	10.21 ± 4.98	17.64 ± 0.81	39.78 ± 2.47
	extracted 10–15 cm	9.95 ± 1.32	42.41 ± 9.15	6.49 ± 2.02	0.85 ± 0.44	1.95 ± 0.29	15.93 ± 0.60
	extracted 15–20 cm	4.30 ± 0.10	32.21 ± 10.2	2.85 ± 1.94	0.81 ± 0.38	0.46 ± 0.07	0.60 ± 0.12
	total recovery ^b	63.39 ± 4.85	85.68 ± 21.1	20.86 ± 3.90	49.98 ± 4.95	39.39 ± 4.16	75.38 ± 4.20
terbutylazine	leached	58.38 ± 0.76	0	1.68 ± 0.45	2.43 ± 0.65	1.50 ± 0.53	3.59 ± 0.27
	extracted 0–5 cm	2.13 ± 0.27	47.07 ± 9.62	5.62 ± 0.77	75.66 ± 1.19	46.44 ± 0.01	9.65 ± 3.81
	extracted 5–10 cm	3.01 ± 0.27	19.40 ± 0.10	18.18 ± 2.47	9.70 ± 1.57	36.20 ± 3.01	19.29 ± 1.68
	extracted 10–15 cm	3.97 ± 0.02	3.71 ± 0.56	21.39 ± 2.47	5.21 ± 1.56	5.49 ± 0.07	22.23 ± 1.99
	extracted 15–20 cm	6.70 ± 0.18	1.55 ± 1.55	8.72 ± 0.16	5.26 ± 0.39	3.59 ± 0.37	6.26 ± 2.70
	total recovery ^b	74.19 ± 1.5	71.73 ± 8.53	55.60 ± 6.33	98.27 ± 5.36	93.21 ± 3.99	61.02 ± 2.84

^a Numbers are mean value ± standard deviation ($n = 2$). ^b Total recovery = leached + extracted.

**Figure 4.** Cumulative leaching of terbutylazine in unamended and amended SC soils.

terbutylazine sorption in sandy soil upon amendment with alperujo (**Table 1**). In the case of the silty clay soil SC, the total amount of terbutylazine dissipated was in every case lower in amended soils than in the original ones (**Figure 1**), especially in the case of soils amended in the laboratory, SC+A and SC+CA, of higher organic matter content and sorption coefficients (**Table 1**). We did not find the rapid dissipation in the soil amended in the field (SC+FA) as was observed in the case of diuron, which can be attributed again to the cropping history of the soil, because terbutylazine was not applied in the past 5 years.

Diuron mineralization in SC soil after 6 weeks of incubation was low ($0.54 \pm 0.04\%$ of applied) and slightly lower in SC+A ($0.43 \pm 0.03\%$ of applied). The effect of alperujo in terbutylazine mineralization was greater than that in diuron. Terbutylazine mineralization in unamended SC soil was $0.9 \pm 0.16\%$ of applied, and when soil was amended with alperujo, the amount of terbutylazine mineralized decreased to $0.27 \pm 0.2\%$ of applied. These results do not agree with those reported by Gan et al. (32) and Wanner (38), who found increases in pesticide mineralization in amended soils due to an increase in soil microbial activity. However, similar results were obtained in ref 5 with terbutylazine in a soil amended with urban sewage sludge and in ref 7 with simazine and a soil amended with alperujo. The latter attributed this lower mineralization in amended soils to a possible toxic effect of alperujo on soil microbial population. Alternatively, soil microorganisms in soils amended with alperujo may have preferentially used the organic matter of alperujo as a carbon and energy source instead of

diuron or terbutylazine and at the same time degraded the herbicides through co-metabolic reactions that do not cause CO_2 release (7).

Photolysis Studies. Photolysis can be a significant abiotic degradation process affecting pesticides and other organic contaminants in water, soils, and plants. No changes in terbutylazine solution concentration ($20 \mu\text{M}$) were observed after 48 h of irradiation. Diuron photodegradation in aqueous solution ($20 \mu\text{M}$) and photodegradation of diuron in SS and SS+A soils are shown in **Figure 2**. Diuron concentration in the dark control (under the same conditions except for the light) did not significantly decrease (data not shown). Under the conditions studied, diuron half-life in aqueous solution was 18.8 h. The half-life increased to 33.1 h in the sandy soil SS, and the increase is attributed to absorption of light by soil components and screening or light attenuation effect of the soil particles (39). When the soil was amended with alperujo, there was no photolysis. We did not observe a photosensitizing effect of the increase in organic matter, as reported for other pesticides in the presence of organic matter (26, 40). This can be attributed not only to the higher adsorption of diuron in SS+A soil when compared with that in unamended SC (**Table 1**) but also to the dark color of SS+A, which would have a light-filtering effect, protecting diuron molecules from photodegradation.

Leaching Studies. Diuron was detected in leachates from SS soil (**Figure 3**) and was not detected in leachates from SS+A or any of the leachates of unamended or amended SC soil during the 30 day study, which can be attributed to the higher sorption in these soils (**Table 1**). The amounts of diuron extracted and leached from the soil columns are given in **Table 2**. The total amount recovered in SS soil columns (leached + extracted) is much lower than that recovered in soil extraction of the SS+A column, which can be attributed to the higher persistence and higher sorption of diuron in SS+A than in SS (**Table 1**). In the case of SC soils, the higher recoveries correspond to SC+A and SC+CA soil columns, also of higher persistence and higher sorption but lower reversibility than unamended SC soil, especially in the case of SC+CA (**Table 1**). In the case of SC+FA, the amounts recovered are similar to that recovered from unamended soil SC, which do not agree with the lower $t_{1/2}$ observed in dissipation studies (**Table 1**), suggesting that sorption prevails over dissipation, because both soils (SC and SC+FA) have similar sorption-desorption behaviors.

High amounts of terbutylazine (nearly 60% of the applied herbicide) were recovered in leachates from SS soil (**Figure 3**), of very low sorption capacity, whereas no terbutylazine

was detected in leachates from SS+A. In the latter, very high recoveries were obtained after soil column extraction (**Table 2**), which can be attributed to the great increase in terbutylazine sorption in SS upon amendment (**Table 1**). In the case of SC soil, low amounts of terbutylazine were found in the leachates from soil columns (**Figure 4**), and the total amounts recovered from soil column extraction (**Table 2**) are very high in the more sorptive soils SC+A and SC+CA and similar for unamended SC and SC+FA soils, of similar sorption capacity (**Table 1**). Surprisingly, greater amounts were found in leachates from amended soils as compared to unamended soil, especially in the case of SC+A and SC+FA, despite the increase in sorption upon amendment in SC+A soil and the similar sorption-desorption behaviors of SC and SC+FA. These results do not agree with those reported in ref 4; these authors found a decrease of simazine leaching in soils amended with solid olive mill waste, which could be due to specific interactions between terbutylazine and soluble organic carbon (DOC) favoring movement through the soil columns. The higher DOC content of fresh alperujo (25 g kg⁻¹) when compared to composted alperujo (3 g kg⁻¹) and the lower HIX of the fresh alperujo (3 vs 13) can explain the higher amounts leached in SC+A and SC+FA when compared to SC+CA. These results would agree with those found in ref 41, where a decrease in terbutylazine recovery from DOC solutions was reported, suggesting DOC-terbutylazine interactions, which again reveals the complexity and specificity of the processes involved in pesticide-soil-solution interactions in organically amended soils.

Conclusions. The addition of olive oil mill wastes, alperujo, from two-phase decanter centrifuges, either composted or untreated, can modify the sorption capacity of soil for diuron and terbutylazine and subsequently their dissipation and leaching. With regard to the influence of amendments on sorption, our results show that the source and amount of OM can affect sorption and that these effects can be different for different classes of herbicides. We can also conclude that the addition of these organic amendments to soil does not always ensure slower dissipation or decreased leaching of the herbicides. Implications concerning specific interactions between the dissolved organic chemicals (DOC) of these amendments and the herbicides should be taken into account because, despite the increase in soil retention upon amendment with alperujo, leaching can be favored in the case of terbutylazine. The possible slight increased leaching of terbutylazine-DOC complexes would be counterbalanced by the fact that the application of fresh or composted alperujo to the land would appear to be an extremely effective contribution to increasing crop yields (9) and to maintaining or improving soil fertility if properly mixed and incorporated at acceptable loading rates. At the same time, this practice could mitigate a large potential environmental problem associated with olive oil production wastes.

LITERATURE CITED

- Borja, R.; Rincón, B.; Raposo, F. Review anaerobic biodegradation of two-phase olive mill solid wastes and liquid effluents: kinetic studies and process performance. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 1450-1462.
- Marín, J.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; García-Garrido, J. M.; Ocampo, J. A. Arbuscular mycorrhizial colonization and growth of soybean (*Glycine max*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and phytotoxic effects of olive mill residues. *Soil Biol. Biochem.* **2002**, *34*, 1769-1775.
- Albuquerque, J. A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. Composting of a solid olive-mill by-product ("alperujo") and the potential of the resulting compost for cultivating pepper under commercial conditions. *Waste Manage.* **2006**, *26*, 620-626.
- Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; López-Piñero, A.; Comejo, J. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* **2004**, *54*, 717-724.
- Navarro, S.; Vela, N.; García, C.; Navarro, G. Persistence of simazine and terbutylazine in a semiarid soil after organic amendment with urban sewage sludge. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7359-7365.
- Abu-Zreig, M.; Al-Widyan, M. Influence of olive mills solid waste on soil hydraulic properties. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2002**, *33*, 505-517.
- Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; López-Piñero, A.; Ortega-Calvo, J. J.; Comejo, J. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* **2003**, *19*, 150-156.
- Brunetti, G.; Plaza, C.; Senesi, N. Olive pomace amendment in Mediterranean conditions: effect on soil and humic acid properties and wheat (*Triticum turgidum* L.) yield. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 6730-6736.
- López-Piñero, A.; Fernandez, J.; Nunes, J. M. R.; García-Navarro, A. Response of soil and wheat crop to the application of two-phase olive-mill waste to Mediterranean agricultural soils. *Soil Sci.* **2006**, *171*, 728-736.
- The Pesticide Manual*, 9th ed.; Worthing, C. R., Hance, R. J., Eds.; The British Crop Protection Council: Farnham, U.K., 1991.
- Field, J. A.; Reed, R. L.; Sawyer, T. E.; Griffith, S. M.; Wigington, P. J., Jr. Diuron occurrence and distribution in soil and surface and ground water associated with grass seed production. *J. Environ. Qual.* **2003**, *32*, 171-179.
- Tixier, C.; Sancelme, M.; Bonnemoy, F.; Veschambre, H. Fungal biodegradation of a phenylurea herbicide, diuron: structure and toxicity of metabolites. *Pest Manage. Sci.* **2000**, *56*, 455-462.
- Giacomazzi, S.; Cochet, N. Review. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* **2004**, *56*, 1021-1032.
- Beernaerts, S.; Gerard, M.; Debongnie, P.; Barthelemy, J. P.; Pussemier, L.; Copin, A. Two years of pesticides monitoring in a Belgian watershed. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2003**, *83*, 469-480.
- Guzella, L.; Rullo, S.; Pozzoni, F.; Giuliano, G. Studies on mobility and degradation pathways of terbutylazine using lysimeters on a field scale. *J. Environ. Qual.* **2003**, *32*, 1089-1098.
- Lányi, K.; Dinya, Z. Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiocarbamate-type herbicides. *Microchem. J.* **2005**, *80*, 79-87.
- Johannesen, H.; Aamand, J. Mineralization of aged atrazine, terbutylazine, 2,4-D, and mecoprop in soil and aquifer sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, *22*, 722-729.
- Jacobsen, C. S.; Shapir, N.; Jensen, L. O.; Jensen, E. H.; Juhler, R. K.; Streibig, J. C.; Mandelbaum, R. T.; Helweg, A. Bioavailability of triazine herbicides in a sandy soil profile. *Biol. Fertil. Soils* **2001**, *33*, 501-506.
- Guzella, L.; Pozzoni, F.; Giuliano, G. Herbicide contamination of surficial groundwater in northern Italy. *Environ. Pollut.* **2006**, *142*, 344-353.
- Barriuso, E.; Calvet, R.; Houot, S. Field study of the effect of sewage sludge application on atrazine behaviour in soil. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1995**, *59*, 107-121.
- Guo, L.; Bicki, T. J.; Hinesly, T. D.; Felsot, A. S. Effect of carbon-rich waste materials on movement and sorption of atrazine in a sandy, coarse-textured soil. *Environ. Toxicol. Chem.* **1991**, *10*, 1273-1282.
- The e-Pesticide Manual. A World Compendium*, ver. 4.0, 14th ed.; Tomlin, C. D. S., Ed.; BCPC: Farnham, U.K., 2006-2007.

- (23) Nelson, D. W.; Sommers, L. E. Total carbon, organic carbon, and organic amendment. In *Methods of Soil Analysis*, part 2, 2nd ed.; Page, A. L., Miller, R. H., Keeney, D. R., Eds.; ASA and SSSA: Madison, WI, 1982; pp 539–579.
- (24) Zsolnay, A. Dissolved humus in soil waters. In *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*; Piccolo, A., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1996; pp 171–223.
- (25) Zsolnay, A.; Baigar, E.; Jimenez, M.; Steinweg, B.; Saccomandi, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* **1999**, *38*, 45–50.
- (26) Cox, L.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J.; Mansour, M. Photolysis of metamitron in water in the presence of soils and soil components. *Chemosphere* **1996**, *33*, 2057–2064.
- (27) Gonzalez-Pradas, E.; Villafranca-Sanchez, M.; Fernandez-Perez, M.; Socias-Viciana, M.; Ureña-Amate, M. D. Sorption and leaching of diuron on natural and peat-amended calcareous soil from Spain. *Water Res.* **1998**, *32*, 2814–2820.
- (28) Cox, L.; Velarde, P.; Cabrera, A.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J. Dissolved organic carbon interaction with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *Eur. J. Soil Sci.* **2006**, in press.
- (29) Felsot, A. S.; Shelton, D. R. Enhanced biodegradation of soil pesticides: Interactions between physicochemical processes and microbial ecology. In *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil*; Linn et al., Eds.; ASA and SSSA: Madison, WI, 1993; No. 32, pp 227–271.
- (30) Topp, E.; Tessier, L.; Gregorich, E. G. Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil. *Can. J. Soil Sci.* **1996**, *76*, 403–409.
- (31) Cox, L.; Celis, R.; Hermosin, M. C.; Becker, A.; Cornejo, J. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agric. Ecosyst. Environ.* **1997**, *65*, 151–161.
- (32) Gan, J.; Yates, S. R.; Papiernik, S.; Crowley, D. Application of organic amendments to reduce volatile pesticide emissions from soil. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 3094–3098.
- (33) Scow, K. M.; Hutson, J. Effect of diffusion and sorption on the kinetics of biodegradation: theoretical considerations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1992**, *56*, 119–127.
- (34) Johnson, W. G.; Lavy, T. L.; Gbur, E. E. Persistence of triclopyr and 2,4-D in flooded and nonflooded soils. *J. Environ. Qual.* **1995**, *24*, 493–497.
- (35) Fernandes, M. C.; Cox, L.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J. Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soil. *Pest Manage. Sci.* **2006**, *62*, 1207–1215.
- (36) Piutti, S.; Marchand, A. L.; Lagacherie, B.; Martin-Laurent, F.; Soulas, G. Effect of cropping cycles and repeated herbicide applications on the degradation of diclofop-methyl, bentazone, diuron, isoproturon, and pendimethalin in soil. *Pest Manage. Sci.* **2002**, *58*, 303–312.
- (37) Spliid, N. H.; Helweg, A.; Heinrichson, K. Leaching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. *Chemosphere* **2006**, *65*, 2223–2232.
- (38) Wanner, U.; Fuhr, F.; Burauel, P. Influence of the amendment of corn straw on the degradation behaviour of the fungicide dithianon in soil. *Environ. Pollut.* **2005**, *133*, 63–70.
- (39) Miller, G. C.; Zepp, R. G. Effects of suspended sediments on photolysis rates of dissolved pollutants. *Water Res.* **1979**, *13*, 453–459.
- (40) Zamy, C.; Mazellier, P.; Legube, B. Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions. *Water Res.* **2004**, *38*, 2305–2314.
- (41) Giessler, H. DOM-flocculation: a suitable approach for separating free and DOM-bound herbicides? *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **1999**, *6*, 77–82.

Received for review February 22, 2007. Revised manuscript received April 13, 2007. Accepted April 13, 2007. This work has been partially financed by Project AGL 2004-05818-CO2-01 from the Spanish MEC and Research Group RNM 124 of Junta de Andalucía. A.C. thanks the MEC for her FPI fellowship.

JF070525B

Availability of Triazine Herbicides in Aged Soils Amended with Olive Oil Mill Waste

ALEGRIA CABRERA,[†] LUCIA COX,^{*†} WILLIAM C. KOSKINEN,[‡] AND
MICHAEL J. SADOWSKY[§]

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla IRNAS CSIC, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, 1991 Upper Buford Circle, 439 BorH, St. Paul, Minnesota 55108, and Department of Soil, Water, and Climate, and The BioTechnology Institute, University of Minnesota, 1991 Upper Buford Circle, 439 BorH, St. Paul, Minnesota 55108

Amendments are frequently added to agricultural soils to increase organic matter content. In this study, we examined the influence of alperujo, an olive oil mill waste, on the availability of two triazine herbicides, terbuthylazine and atrazine, in two different sandy soils, one from Sevilla, Spain, and the other from Minnesota. The effect of aging on herbicide sorption and bioavailability was also studied. Soils were amended with alperujo at a rate of 3–5% (w:w) in laboratory studies. Apparent sorption coefficients for the triazine herbicides were calculated as the ratio of the concentrations of each herbicide sequentially extracted with water, followed by aqueous methanol, at each sampling time. These data showed greater sorption of terbuthylazine and atrazine in amended soils as compared to nonamended soils, and an increase in the amount of herbicide sorbed with increasing aging time in nonamended soils. The triazine-mineralizing bacterium *Pseudomonas* sp. strain ADP was used to characterize triazine bioavailability. Less mineralization of the herbicides by *Pseudomonas* sp. strain ADP was observed in soils amended with alperujo, as compared to the unamended soils, and, despite the increase in sorption with aging in unamended soils, herbicide mineralization also increased in this case. This has been attributed to *Pseudomonas* sp. strain ADP first using alperujo as a more readily available source of N as compared to the parent triazines. In summary, addition of alperujo to the soils studied was shown to increase triazine herbicides sorption and hence to reduce its availability and potential to leach.

KEYWORDS: Triazine herbicides; sorption; bioavailability; *Pseudomonas* sp. strain ADP; soil; alperujo; olive oil mill waste; aging

INTRODUCTION

As demonstrated by numerous studies in Europe and the United States, the use of pesticides involves a risk of potentially contaminating surface and groundwater (1–3). However, because pesticides often ensure an abundant and affordable food supply, the use of these products continues worldwide. For instance, in the United States, the amount of pesticides increased from 401 500 tons of active ingredient in 1992 to 443 700 tons in 1997. The amount of herbicides has also increased in the same period of time, to 207 600 tons of active ingredient in 1997, with atrazine the most widely used herbicide in crops (33 600 tons) (4). Also, over the last 10 years, the US-EPA has registered many new active ingredients and new uses of pesticides (www.epa.gov/oppfead1/annual/2006/06annual-rpt.pdf).

In Europe, the use of plant protection products increased from 50 000 tons in 1992 to 95 000 tons in 2002, after which it decreased to 85 000 tons in 2003. The use of herbicides has followed the same trend (5). The use of triazine herbicides, such as atrazine, cyanazine, simazine, and terbuthylazine, which are applied widely for weed control in a variety of crops including corn, sorghum, citrus orchards, olive groves, fruit trees, and grapes, has fallen from 5th to 12th place in a ranking of the most used chemicals in Europe. During 2003, 3624 tons of triazine herbicides was used in Europe, which represents 4.3% of the total of herbicides (5).

The decrease in triazine usage in Europe is chiefly due to legal provisions limiting the use of these products. Atrazine and simazine have been classified as priority substances by the European Parliament and the Council of the European Union in water policy Directive 2455/2001/EC. Triazine parent compounds and their microbial metabolites (the most important dissipation mechanism in soil is by microbial degradation) (6)

* Author to whom correspondence should be addressed [telephone 34 95 462 4711; fax 34 95 462 4002; e-mail lcx@irnase.csic.es].

[†] IRNAS CSIC.

[‡] U.S. Department of Agriculture.

[§] University of Minnesota.

have been detected in surface and ground waters in several European countries and in the United States (7–12).

It has been suggested that the use of organic amendments in soils can reduce the amounts of pesticide available for leaching to groundwater and for runoff to surface water (13). These amendments increase the organic matter (OM) content of the soil, enhancing herbicide sorption, and thereby decreasing availability for both transport and degradation processes. For instance, commercial peat used as a soil amendment increased herbicide sorption and decreased herbicide leaching as compared to humic acid-amended soil (14). Likewise, soil amended with sludge, urban waste compost, and composted straw have also been shown to increase atrazine sorption as compared to unamended soil (15, 16), and the latter additions were shown to decrease atrazine mineralization (16). It has also been reported that metribuzin has a lower mobility in soils amended with organic manure and with fly ash (17). Addition of organic amendments, however, does not protect against the leaching of highly water-soluble compounds or prevent the degradation of pH-sensitive compounds (18).

The extraction of oil from olives generates a large amount of organic waste. The impacts of liquid waste from olive oil extraction (13, 19), and the solid byproduct (alperujo) of the two-phase olive oil extraction process as organic amendments on pesticide leaching and degradation (20–22), have been recently studied. Cox et al. (13) reported that soils amended with olive-mill wastewater reduced or stopped leaching of the herbicides clopyralid (3,6-dichloropicolinic acid) and metamitron (4-amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5(4H)-one), respectively, in a clay soil, as compared to unamended soil. These authors speculated that an increase in sorption and degradation of the herbicides in the amended soil occurred via the reduction of soil porosity caused by the amendment. However, a decrease in imazaquin sorption was found in different soils amended with olive mill wastewater, except for a loamy sand soil, where herbicide sorption increased and leaching decreased (19).

When alperujo solids were used as an organic amendment in a sandy soil freshly treated with simazine, sorption was reported to increase, and leaching decrease, as compared to unamended soil (20, 21). Delgado-Moreno et al. (22) also found an increase in sorption and decrease in desorption of four triazine herbicides freshly applied to a soil amended with alperujo as compared to unamended soil; however, the magnitude of the increase in sorption decreased if the soil amended with alperujo had been aged for months prior to treatment with the triazines. Albarrán et al. (20, 21) also found that simazine dissipation in freshly treated soil was shown to be initially slower in the unamended soil as compared to amended soil, as characterized by solvent extractability, presumably due to increased sorption. However, after 30 d of incubation, simazine dissipation was faster in the unamended soil than in the amended soil, as shown in part by the decrease in simazine mineralization in the alperujo amended soil. Similarly, Farenhorst et al. (23) reported that there was less mineralization of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) in soils amended with biosolids or with manure as compared to the original soils.

In the studies described here, we examined the effect of alperujo amendment on the availability of terbuthylazine and atrazine, two triazine herbicides widely used for weed control, for transport, and for degradation in two sandy soils. The availability of parent triazine for transport was characterized using sequential solvent extraction techniques to determine sorption in freshly treated and aged unamended and amended soils. Characterization of bioavailability of freshly treated and

aged parent terbuthylazine and atrazine residues in alperujo-amended and unamended soils was facilitated by using *Pseudomonas* sp. strain ADP, a bacterium that can rapidly mineralize these two herbicides, but none of their metabolites.

MATERIALS AND METHODS

Soil, Organic Amendment, and Chemicals. Two different sandy soils were used in this study, one from Sevilla, Spain (SP-U), and another from Becker, Minnesota (MN-U). The same soils were also amended with alperujo (SP-A and MN-A, respectively), the organic solid waste from the two-phase, olive oil extraction process. The SP-U soil was taken from the 0–15 cm depth from an olive grove located in Coria del Rio (Sevilla, Spain), air-dried, and sieved with a 2-mm mesh screen. Soil properties were as follows: pH 8.4, 0.36% organic carbon (OC), 20% clay, 9% silt, and 71% sand. The soil was classified as Typic Rhodoxeralf. The MN-U soil, which was classified as a Hubbard loamy sand, had a pH of 5.8, and contained 86.0% sand, 6.0% clay, and 1.5% OC. Neither soil had a history of triazine application in the previous 7–10 yrs. The soils were amended in the laboratory with alperujo to 2.78% OC in SP-A and 4.38% OC in MN-A. The properties of the alperujo used were: pH 5.8, 93.2% OM, 25 g kg⁻¹ dissolved organic carbon (DOC), and a C:N ratio of 18.3.

Terbuthylazine (*N*²-tert-butyl-6-chloro-*N*⁴-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) (99% purity) was purchased from Riedel-de Haën (Seelze, Germany), and UL-ring-¹⁴C- labeled terbuthylazine (1.99 MBq mg⁻¹ specific activity; 94.3% radiochemical activity) was kindly supplied by Syngenta (Basel, Switzerland). Atrazine (6-chloro-*N*²-ethyl-*N*⁴-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) was purchased from Chem Service (West Chester, PA) (98% purity), and UL-ring-¹⁴C-labeled atrazine (1.63 Mbq mg⁻¹ specific activity; 98.7% radiochemical purity) was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

¹⁴C-Herbicide Sorption in Aged Soil Studies by Analysis of Extractable Herbicides. Unamended and alperujo-amended soils (10 g dry weight) were individually weighed into triplicate glass tubes, and methanolic terbuthylazine (0.6 mL) or atrazine (1.1 mL) solutions were added to each soil to a final triazine concentration of 1 μg g⁻¹ and 168.2 Bq g⁻¹. After evaporation of the methanol (~1 h), distilled water was added to obtain a soil moisture content of 40% of the water-holding capacity. Glass wool was placed on the soil surface, and a vial containing 1 mL of 0.5 N NaOH was placed in the tube to trap ¹⁴CO₂ resulting from the mineralization of ¹⁴C-terbuthylazine or ¹⁴C-atrazine. Tubes were stoppered, and soils were incubated in the dark at 25 ± 1 °C for 7, 14, and 28 days for terbuthylazine studies, and for 14 and 25 days for atrazine studies. The NaOH was replaced weekly, and a 1 mL aliquot was mixed with 6 mL of EcoLite scintillation cocktail. Radioactivity in vials was counted, for 5 min, using a Tri-Carb 1500 Packard liquid scintillation analyzer. Vials were kept in the dark overnight prior to counting to reduce chemiluminescence.

At time 0 (immediately after solvent evaporation) and after each incubation period, soil samples were extracted by shaking with 20 mL of 0.01 N CaCl₂ for 20 h on a horizontal shaker, and centrifuged at 1500g for 30 min. The supernatant volume was measured, and a 1 mL aliquot was mixed with 6 mL of EcoLite scintillation cocktail. Radioactivity was measured as described above. The remaining aqueous supernatant was kept at 4 °C until it was extracted with dichloromethane (DCM) for analysis of parent herbicide.

The soil was subsequently extracted with 20 mL of methanol:water (80:20, v:v), by shaking for 20 h in a horizontal shaker. After the sample was centrifuged at 1500g for 30 min, the supernatant was removed, a 1 mL aliquot was mixed with 6 mL of EcoLite scintillation cocktail, and radioactivity was determined as described above. The remaining aliquot was analyzed by HPLC to quantify the organic-extractable parent herbicide as described below. The extracted soils were then frozen at -25 °C until they were later combusted to determine unextractable (bound) ¹⁴C.

The methanol was removed from the aqueous methanol supernatant using a Zymark Turbo Vap II evaporator at 35 °C. The water extracts remaining and the supernatants of the 0.01 N CaCl₂ extractions were each extracted twice with DCM (1:4 DCM:aqueous, v:v). The two DCM

solutions from the 0.01 N CaCl₂ extractions were combined and evaporated using N₂ gas, just to dryness, in a water bath at 35 °C. The two DCM solutions from the aqueous methanol supernatants were combined and similarly processed. The residues were redissolved with 1 mL of acetonitrile (ACN):water (40:60, v:v) and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), using a 1090 Hewlett-Packard high performance liquid chromatograph and a Waters Spherisorb C8 5 μ m 150 mm \times 4.6 mm i.d. column. The mobile phase, at a flow rate of 1 mL min⁻¹, was a gradient of ACN and milli Q water, starting at 40% of ACN until minute 15 and changing to 70% ACN at minute 22. The injection volume was 50 μ L.

For terbutylazine, fractions were collected from time 0 to 10 min, and then at each minute until minute 16, and another fraction from 16 to 22 min. For atrazine, fractions were collected from time 0 to 5 min, then each minute until 10 min and from 10 to 15 min. One milliliter aliquots of the fraction corresponding to terbutylazine and atrazine were mixed with 6 mL of EcoLite scintillation cocktail, and radioactivity was measured in the LSC to calculate the amount of herbicide in supernatants. One milliliter aliquots of the remaining fractions were also counted to enable calculation of the percentage of parent herbicide in the extracted ¹⁴C. No standards were available to determine individual ¹⁴C-metabolites in the solutions.

Sorption coefficients, K_d values, were calculated assuming that the methanol-extractable herbicide was the amount of herbicide sorbed by soil (C_s) and that the water-extractable pesticide was the equilibrium concentration of herbicide in solution (C_e) as in the batch equilibration method: $K_d = C_s/C_e$. The K_{oc} values were calculated as $(K_d/OC) \times 100$.

Quantification of Unextractable (Bound) ¹⁴C-Residues. Before nonextractable [¹⁴C]terbutylazine or [¹⁴C]atrazine was determined, soil moisture was measured in the previous extracted soils. Soil samples, 0.33 g (dry weight) of each sample in triplicate, were combusted by using a Packard 307 sample oxidizer. The ¹⁴CO₂ released was trapped in Carbo-Sorb E mixed with Permafluor V, and the ¹⁴C was quantified by liquid scintillation counting (LSC) as described above.

¹⁴C-Triazine Bioavailability to *Pseudomonas* in Aged Soil Studies.

In parallel studies, an experiment was conducted to determine herbicide bioavailability using *Pseudomonas* sp. strain ADP, an atrazine degrading bacterium. Alperujo-amended and unamended soils (10 g dry weight) were individually placed in tubes and treated with 0.6 mL of ¹⁴C-labeled terbutylazine or 1.1 mL of ¹⁴C-labeled atrazine solutions in the same way as was done in the sorption studies. At time 0, and after each incubation period (7, 14, and 28 d for terbutylazine in SP soil and 9, 17, and 26 d for atrazine in MN soil, and 10 and 26 d for atrazine in SP soil), soils were inoculated with a 1 or 2 mL suspension of *Pseudomonas* sp. strain ADP (final inoculum density 1×10^8 or 2×10^8 microorganisms g⁻¹ soil, respectively), and mixed thoroughly. Methods for growing and maintaining the organism have been previously reported (24, 25). Glass wool was placed on the soil surface, and a vial containing 1 mL of 0.5 N NaOH was placed in the tube to trap ¹⁴CO₂ resulting from the mineralization of ¹⁴C-terbutylazine or ¹⁴C-atrazine. The NaOH in vials was replaced 24, 48, and 72 h after inoculation. A 1 mL aliquot of the NaOH solution was mixed with 6 mL of EcoLite scintillation cocktail, vials were kept in dark overnight, and radioactivity was measured using LSC as described above.

RESULTS AND DISCUSSION

To characterize the availability of aged terbutylazine and atrazine residues for transport in alperujo-amended and unamended soils, the partitioning of terbutylazine and atrazine between aqueous extractable, solvent extractable, and bound residues, as a function of time, was determined. The bacterium *Pseudomonas* sp. strain ADP was also used to determine the bioavailability of aged terbutylazine and atrazine residues in unamended and alperujo-amended soils. To facilitate these experiments, ¹⁴C-labeled triazine herbicides were used.

The mass balance of applied ¹⁴C-triazines in the tested soils was excellent. The mass balance of ¹⁴C from ¹⁴C-terbutylazine

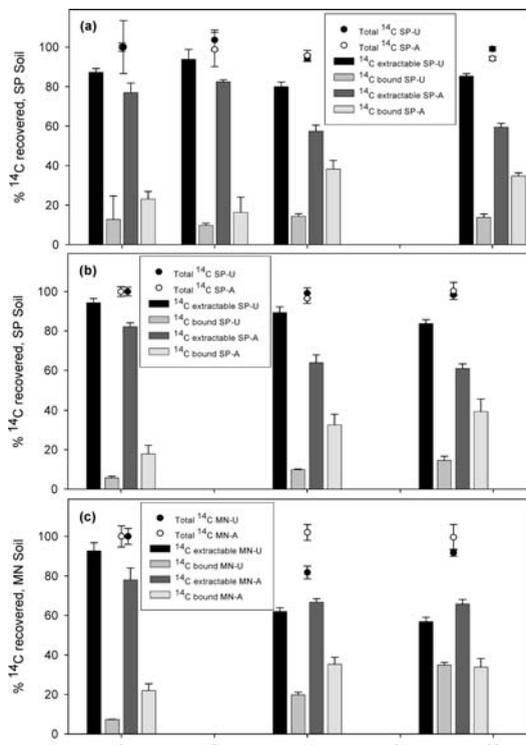


Figure 1. Mass balance of extractable and bound ¹⁴C in unamended (U) and amended (A) soils: (a) from ¹⁴C-terbutylazine in SP soil; (b) from ¹⁴C-atrazine in SP soil; (c) from ¹⁴C-atrazine in MN soil.

in SP-U and SP-A, averaged over all sampling times, was 99.3% and 97.2%, respectively (**Figure 1a**). Aging did not significantly affect the extractability of the terbutylazine ¹⁴C-residues from SP-U; the ratio of total extractable to unextractable ¹⁴C was about the same for the four sampling times, with >80% extractable and $\leq 15\%$ unextractable (bound) ¹⁴C at all sampling times. In contrast, terbutylazine ¹⁴C-residues became increasingly bound with time in the SP-A soil; the ratio of extractable to unextractable residues decreased from 3.3 to 1.7 during the incubation period. Total extractable terbutylazine ¹⁴C residues decreased from 76.9% to 59.5% during the 4 wk incubation period, while ¹⁴C unextractable residues increased with time from 23.1% at time 0 to 34.8% after 4 wks of incubation.

The results for atrazine in SP soil were similar to those for terbutylazine. The average mass balance of ¹⁴C from ¹⁴C-atrazine in SP-U and SP-A was 99.2% and 98.9%, respectively (**Figure 1b**). The percentage of total atrazine ¹⁴C residues extracted decreased with aging in both unamended and amended SP soil, from 94.3% to 83.7% in SP-U after 26 d, and from 82.2% to 60.9% during the same period in the SP-A soil, respectively. Bound atrazine ¹⁴C residues increased with aging, from 5.7% to 14.6% in SP-U and from 17.8% to 39.4% in SP-A after nearly 4 wks. The ratio of total extractable to unextractable ¹⁴C decreased in both unamended and amended soils, from 17 to 6 after the 26 d incubation period in SP-U, and from 5 to 2 in the SP-A soil.

The average amount of ¹⁴C from ¹⁴C-atrazine recovered, averaged over all sampling times, for MN-U and MN-A was 91.2% and 100.5%, respectively (**Figure 1c**). The ratio between

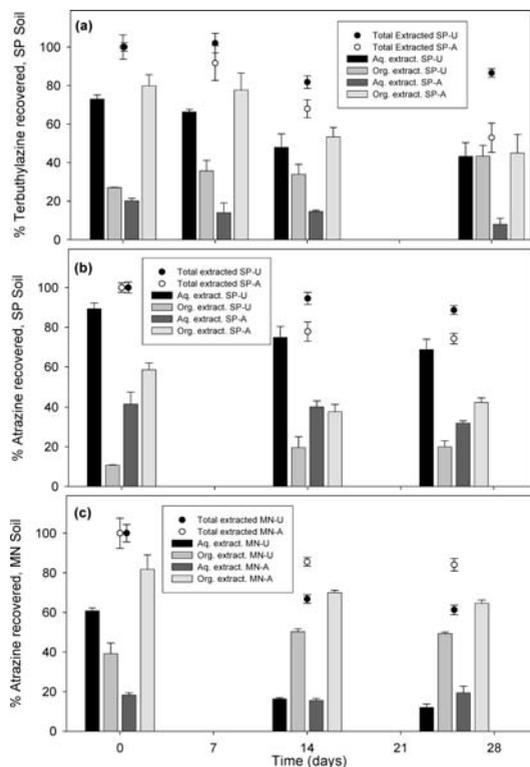


Figure 2. Aqueous-extractable and organic-extractable herbicide in unamended (U) and amended (A) soils: (a) terbutylazine in SP soil; (b) atrazine in SP soil; (c) atrazine in MN soil.

extractable and unextractable ^{14}C -atrazine residues decreased from 13 to 2 in the MN-U soil after the 26 d incubation period; however, the ratio only slightly decreased (3.5 to 1.9) in the MN-A soil. Extractable ^{14}C residues in the MN-U decreased with aging, from 92.7% to 56.9% after 26 d, and from 78.0% to 65.8% in the MN-A soil during the same time period. Bound atrazine ^{14}C residues increased in both soils, from 7.3% to 34.9% in MN-U and from 22.0% to 33.8% in MN-A during the 26 d incubation period.

The amount of terbutylazine and atrazine in the extractable ^{14}C residues was determined by HPLC. Less terbutylazine was recovered from the amended SP soil after 4 wks (50% of applied) as compared to unamended soil (90% of applied) (Figure 2a). After 26 d of incubation, atrazine recovery also was lower in amended SP soil (75% of applied recovered) as compared to that in unamended soil (90% recovered) (Figure 2b). The recovery of atrazine from MN soil was slightly lower as compared to the SP soil; after 26 d 60% and 85% of applied atrazine was recovered from unamended and amended MN soils, respectively (Figure 2c). The decrease in recovery of both herbicides may be attributed to microbial degradation during the incubation period. Although there was no attempt to determine metabolites in this study, we did determine that ^{14}C -terbutylazine and ^{14}C -atrazine mineralization by soil microorganisms was $<0.1\%$ of the initially applied herbicides in all tested amended and unamended soils (data not shown). The lack of mineralization of triazines in numerous soils has been shown by others. For example, insignificant amounts of atrazine were reported to

be mineralized in five of six soils (three unamended soils and three amended with treated wastewater), and the percentage of atrazine mineralized in those soils only slightly increased with increasing aging time (26).

The decrease in recovery of parent herbicide may also be due to an increase in the amounts of unextractable herbicides bound to soil components due to a soil aging effect, similar to that reported by Gevaio et al. (27). Bound pesticide residues tend to lose their biological activity with longer residence times in soil, becoming more resistant to degradation and extraction. Numerous studies have reported that the formation of bound residues by organic chemicals is enhanced after amendment of soils with organic matter (16, 28). The large amount of total ^{14}C recovered during the 4 wk incubation period (Figure 1), however, suggests that microbial degradation of the herbicides, and formation of metabolites, is the likely cause of the decreased recovery of parent herbicide in our studies.

Since 60–90% and 50–85% of the applied herbicides remained in unamended and alperujo-amended soils after aging, the quantity of the remaining herbicides available for transport and degradation was determined at selected times during the incubation. To do this, the herbicides were sequentially extracted with 0.01 N CaCl_2 , followed by extractions with aqueous methanol. The amounts of aqueous extractable (readily available) herbicides decreased with incubation time in unamended SP and MN soils, while the amounts of organic solvent extractable (sorbed herbicide) increased (Figure 2). Aqueous extractable terbutylazine in SP-U soil decreased from 73% of initially applied to 43% after 4 wks, whereas the amount extracted with organic solvent increased from 27% to 43% (Figure 2a). Aqueous extractable atrazine also decreased after 26 d of incubation (from 89.3% of initially applied to 68.7% in SP-U, and from 60.8% to 12.1% in MN-U) (Figure 2b,c). The amount of solvent extractable atrazine increased by 10% in both SP-U and MN-U after the 25 d incubation period (from 10.7% to 20.0%, SP-U; from 39.2% to 49.3% in MN-U) (Figure 2b,c).

In contrast to the unamended soils, both aqueous and organic extractable terbutylazine decreased with time in amended SP soil (from 20% to 8.0%, and from 80% to 45%, respectively) (Figure 2a). The amounts of both aqueous and organic extractable atrazine also decreased with time, by 10–16% in SP-A (from 41.5% to 31.9% for aqueous extractable), and from 58.5% to 42.4% for solvent extractable (Figure 2b). In contrast, aqueous extractable atrazine in MN-A did not vary significantly during the 25 d incubation period (from 18.2% to 19.4%), whereas organic extractable decreased with time (from 81.8% to 64.6%) (Figure 2c).

The availability of herbicides for transport has been traditionally characterized by determination of aqueous extractable herbicide or by calculation of sorption coefficients, K_d values, or Freundlich coefficients, K_f and $1/n_f$ values. The K_d values (Table 1) were calculated using the quantity of herbicides measured in the aqueous (solution phase) and in organic extracts (sorbed phase) at each incubation time. The terbutylazine sorption K_d , averaged over the 4 wk incubation period, was higher by a factor of 8 in the amended SP soil, as compared to unamended SP soil. In amended soils (SP-A and MN-A), the K_d values for atrazine were also higher as compared to the K_d values in the unamended soils, except for the MN soil after the 25 d incubation period. The greater sorption in amended soils was attributed to the higher content of OC (2.78% OC in SP-A, vs 0.36% OC in SP-U; and 4.36% OC in MN-A, vs 1.50%

Table 1. K_d and K_{oc} Values Calculated for Unamended (U) and Amended (A) Spanish (SP) and Minnesota (MN) Soils after Different Aging Times

triazine	soil	incubation time (d)							
		K_d (mL g ⁻¹)				K_{oc} (mL g ⁻¹)			
		0	7	14	28 ^a	0	7	14	28 ^a
terbutylazine	SP-U	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.3	2.0 ± 0.6	2.8 ± 0.8	278 ± 7	389 ± 72	556 ± 157	778 ± 216
	SP-A	10.7 ± 0.9	12.1 ± 2.0	10.0 ± 1.2	22.2 ± 0.5	385 ± 32	435 ± 71	360 ± 43	799 ± 17
atrazine	SP-U	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.0		0.9 ± 0.1	83 ± 8	167 ± 0		250 ± 16
	SP-A	3.9 ± 0.7	2.6 ± 0.3		3.6 ± 0.2	140 ± 25	94 ± 11		129 ± 6
	MN-U	1.7 ± 0.3	7.9 ± 0.2		10.7 ± 1.4	113 ± 18	527 ± 11		713 ± 93
	MN-A	11.6 ± 1.1	11.7 ± 0.6		8.8 ± 1.5	265 ± 26	266 ± 14		201 ± 35

^a Atrazine incubation was 25 d.

OC in MN-U), as has been widely reported by many authors (29–32). Delgado-Moreno et al. (22) also observed an increase in K_f values for four triazine herbicides, including terbutylazine, in soil freshly amended with olive-mill waste as compared to unamended soil. However, if the soil was preincubated with the organic amendment for 1–3 months, there was no difference in sorption for amended and unamended soils (22).

Aging, or residence time, of the herbicides in soil, caused an increase, with time, in the apparent K_d and K_{oc} values for terbutylazine in both unamended and amended SP soils. In SP-U, the K_d increased by a factor of 2.8 after 4 wk of incubation and by a factor of 2.1 in the SP-A soil during the same period of time (Table 1). Atrazine K_d and K_{oc} values also increased with aging time in the unamended SP-U soil by a factor of 3.0, and by a factor of 6.5 for the MN-U soil. However, in the amended soils (SP-A and MN-A), the atrazine K_d and K_{oc} values did not change significantly during the incubation period. Similar results were reported by Johannesen and Aamand (33) who calculated K_d in aged soils from the pore-water content of ¹⁴C and found an increase in sorption of atrazine and terbutylazine in unamended soil with aging time. Similar increases in sorption with incubation time have also been observed for a variety of classes of herbicides, including the sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides (34). In contrast, Menasseri et al. (35) did not observe an increase in sorption of dicamba in either amended or unamended soil with increased aging time.

Sorption is one of the main processes that affects the fate of pesticides in soil and water (36), and sorption-desorption interactions of pesticides with soil determine the availability of these organic compounds for plant uptake, transport, and microbial degradation in soil (37). Equilibrium sorption estimates (K_d and K_{oc} values) can be used to predict the mobility of pesticides in soil (38, 39).

Transport models typically use K_d or K_{oc} values to describe pesticide retention by soil (40). The accuracy of the sorption estimates can be more important than the choice of transport model in correctly simulating pesticide leaching (40), emphasizing the need for evaluating pesticide sorption in aged soils. Aging effects on sorption can also impact mobility classifications of pesticides. For instance, mobility classification based on a unitless retardation factor (RF) (41), which in turn is a function of K_d , would change from moderately mobile to moderately immobile for terbutylazine and atrazine in the unamended soils. In contrast, aging would not have an effect on amended MN soil.

Pseudomonas sp. strain ADP, a triazine mineralizing bacterium (24), has previously been used to determine the bioavailability of selected triazines in soil (42, 43). In freshly treated soil, atrazine and terbutylazine mineralization by *Pseudomonas* sp. strain ADP has been shown to be inversely related to soil sorption (i.e., less mineralization was seen with increased

sorption) (42). Atrazine bioavailability has been reported to decrease in aged soil, as evidenced by decreased mineralization of atrazine by *Pseudomonas* ADP in soils aged for different lengths of time soil prior to inoculation with *Pseudomonas* ADP (43). In the same study with a subsurface soil, atrazine mineralization was significantly reduced when the aging time exceeded 1 d, whereas no differences were observed between mineralization rates of samples aged 7–30 d. In a similar study done using a surface soil, atrazine mineralization decreased as a function of increased aging time; however, no effect of aging on atrazine mineralization was observed for an aquifer sediment (33).

In the above-mentioned studies on aging effects on atrazine mineralization, however, there were no independent measurements of the amounts of atrazine present in the aged soils. Since *Pseudomonas* sp. strain ADP has been shown to be able to mineralize, within hours, the same amount of atrazine and simazine in aged soils that was extractable from the same aged soils using aqueous methanol (25, 44), it may be possible that the reported decrease in mineralization of ¹⁴C-atrazine by *Pseudomonas* ADP (33, 42, 43) was due to decreased amounts of atrazine present with aging, as opposed to decreased availability of the aged residues to the degrading microorganism. Although there are studies on bioavailability of pesticides in soils of different organic matter content, we are aware of no research that has used a specific degrading bacterium to study the effects of organic amendments, such as alperujo, on bioavailability of aged atrazine and terbutylazine residues.

To examine the influence of organic amendments on bioavailability of aged pesticide residues in more detail, *Pseudomonas* sp. strain ADP was added to aged, alperujo-amended, and unamended soils, and ¹⁴C mineralization was followed over time. In unamended SP soil (SP-U), the amount of ¹⁴C-terbutylazine mineralized by *Pseudomonas* ADP increased from 6% to 11% of applied chemical at the end of a 28 d incubation period (Table 2). Even though *Pseudomonas* sp. strain ADP has been shown to be less efficient at mineralizing terbutylazine as compared to atrazine (33, 42), the amount of ¹⁴C-terbutylazine mineralized by *Pseudomonas* sp. strain ADP was less than expected considering the amount of water extractable terbutylazine (>70% of applied terbutylazine) (Figure 2a). In the case of ¹⁴C-atrazine, the total amount of herbicide mineralized by the bacterium was also lower than expected at time 0, particularly because >90% of the atrazine was aqueous extractable. Increasing the inoculation density of *Pseudomonas* sp. strain ADP in the SP-U soil from 1×10^8 to 2×10^8 organisms g⁻¹ nearly doubled the amount of atrazine mineralized at time 0, from 5% to 8% of applied. The average amount of atrazine mineralized in unamended MN soil (MN-U) by the lower density inoculum during the 17 d incubation period (23% of applied) was slightly higher than when MN-U

Table 2. ¹⁴C Herbicide Mineralized by *Pseudomonas* sp. Strain ADP in Unamended (U) and Amended (A) Spanish (SP) and Minnesota (MN) Soils during a 28 day Incubation

triazine	soil	inoculum density (organisms g ⁻¹)	herbicide mineralized during incubation (% of applied)			
			T = 0 d	T = 7–10 d ^a	T = 14–17 d ^b	T = 26–28 d ^c
terbutylazine	SP-U	1 × 10 ⁸	5.7 ± 1.6	<1	5.9 ± 0.5	11.1 ± 3.1
	SP-A	1 × 10 ⁸	<1	<1	1.0 ± 0.5	<1
atrazine	SP-U	1 × 10 ⁸	5.3 ± 1.4	34.4 ± 11.2		
	SP-U	2 × 10 ⁸	8.2 ± 1.6	12.0 ± 2.5		30.8 ± 11.3
	SP-A	1 × 10 ⁸	<1	1.7 ± 0.9		
	SP-A	2 × 10 ⁸	<1	3.5 ± 1.4		25.2 ± 9.8
	MN-U	1 × 10 ⁸	13.3 ± 0.3	29.0 ± 12.6	23.1 ± 2.6	
	MN-U	2 × 10 ⁸	18.3 ± 5.1		19.0 ± 11.8	15.4 ± 5.0
	MN-A	1 × 10 ⁸	<1	<1	<1	
	MN-A	2 × 10 ⁸	<1	<1	<1	<1

^a T = 7 d terbutylazine SP, T = 10 d atrazine SP, T = 9 d atrazine MN. ^b T = 14 d terbutylazine, T = 17 d atrazine. ^c T = 28 d terbutylazine, T = 26 d atrazine.

soil was inoculated with twice as many microorganisms and incubated for 26 d (15% of applied).

The amount of atrazine mineralized in SP-U at time 0 was also low in comparison with other studies of atrazine and simazine mineralization by *Pseudomonas* sp. strain ADP, but increased to comparable levels as has been previously reported by the end of the incubation period (25, 33, 43, 44). An increase in atrazine mineralization was observed in MN-U soil with incubation. Jacobsen et al. (42) also observed less mineralization of terbutylazine as compared to atrazine; in both cases, the amount of herbicide mineralized by the bacteria increased at the end of the aging period.

The amount of labeled herbicide mineralized by *Pseudomonas* sp. strain ADP in alperujo-amended soils was much less than that seen in the unamended soils, <1% of applied at every aging time, except for atrazine in SP-A soil after 10 or 26 d incubation. These results indicate that olive mill waste used as organic amendment reduces either bioavailability or degradation of terbutylazine and atrazine in soil. Masaphy and Mandelbaum (26) reported a significant decrease in atrazine mineralization rates in soils irrigated with treated wastewater as compared to the soils not irrigated. They attributed this decrease in mineralization to a combination of factors, the increase in sorption and complexation of atrazine with the OM in the soil with aging, and the increase in N of soil by the wastewater irrigation.

The low rate of triazine mineralization by *Pseudomonas* sp. strain ADP in these studies may be due to the microorganism's use of inorganic sources of N preferentially over herbicide-derived N, thereby reducing triazine degradation. Laboratory studies have previously shown that inorganic nitrogen inhibits the ability of *Pseudomonas* ADP to degrade atrazine (45). It is possible that once the inorganic sources of N were depleted by microbial activity during the incubation in the unamended soils, particularly in SP soil, the *Pseudomonas* sp. strain ADP then used the triazines as a N source. It is suggested that in amended soil, alternate sources of N (alperujo C:N ratio was relatively high, 18.3) were not depleted during the incubation, resulting in very little triazine mineralization (<1% of applied triazine). However, the reported relationship between available N and atrazine mineralization is contradictory. Shapir et al. (46) found that atrazine mineralization activity of *Pseudomonas* sp. strain ADP was not negatively influenced by the addition of wastewater and sludge as amendments.

It appears that bioavailability of triazines in aged soil is a complex process that may be difficult to characterize. While Barriuso et al. (25) reported a correlation between the amounts of ¹⁴C-residues in water and organic extracts and bioavailable residues, and proposed that this may help to

determine the bioavailability of other triazines, we could not use this correlation in our studies due to the low mineralization of herbicide by *Pseudomonas* sp. strain ADP in comparison with the amounts of extractable ¹⁴C. Jacobsen et al. (42), using a two compartment model on terbutylazine mineralization and sorption data, suggested that terbutylazine mineralization in soil inoculated with *Pseudomonas* sp. strain ADP was initially controlled by the rate of mineralization by *Pseudomonas* sp. strain ADP, followed by the sorption of terbutylazine. They further suggested that in soils with high biodegrading potential, sorption was the limiting parameter for terbutylazine mineralization, whereas in soils with low biodegrading potential, the limiting parameter was the number of degrading microorganisms. However, the present research indicates that the N status of the soil may be equally of importance. More work is needed on the relationship between the availability of inorganic N in soil and triazine mineralization by *Pseudomonas* sp. strain ADP.

In conclusion, addition of alperujo, a solid olive-mill waste, as an organic amendment to sandy soils from Spain and Minnesota resulted in reduced availability of two triazine herbicides, terbutylazine and atrazine, as compared to unamended soils. In the Spanish soil, terbutylazine sorption increased with aging in both amended and unamended soils. Aging/amendment interactions appear to be triazine dependent, and atrazine sorption increased with aging in both unamended Spanish and Minnesota soils. Although atrazine sorption was greater in alperujo-amended soils, as compared to unamended soils, aging had no effect on atrazine sorption in amended soils. Addition of alperujo decreased mineralization of both herbicides by *Pseudomonas* sp. strain ADP as compared to unamended soils. The mineralization of the herbicides in unamended soil increased with aging, possibly because of decreased readily available inorganic N in the soils during incubation.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Andrea Bolks for her help with the sample oxidation and Brian Barber for his technical assistance.

LITERATURE CITED

- Leistra, M.; Boesten, J. J. T. I. Pesticide contamination of groundwater in Western-Europe. *Agric. Ecosyst. Environ.* **1989**, *26*, 369–389.
- Kolpin, D. W.; Barbash, J. E.; Gilliom, R. J. Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: Initial results from the National Water-Quality Assessment Program. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 558–566.

- (3) Barbash, J. E.; Thelin, G. P.; Kolpin, D. W.; Gilliom, R. J. Major herbicides in ground water. Results from the National Water-Quality Assessment. *J. Environ. Qual.* **2001**, *30*, 831–845.
- (4) National Center for Food and Agriculture Policy (NCFAP). Pesticide use in U.S. crop production: 1997 National Summary Report. Giannesi, L. P.; Marcelli, M. B. November, 2000; www.ncfap.org/ncfap/nationalsummary1997.pdf.
- (5) Eurostat. Statistical books. The use of plant protection products in the European Union. Data 1992–2003. 2007 ed.
- (6) *The e-Pesticide Manual. A World Compendium*, ver. 4.0, 14th ed.; Tomlin, C. D., Ed.; BCPC: Farham, U.K., 2006–2007.
- (7) Cerrejeira, M. J.; Viana, P.; Batista, S.; Pereira, T.; Silva, E.; Valério, M. J.; Silva, A.; Ferreira, M.; Silva-Fernandes, A. M. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Water Res.* **2003**, *37*, 1055–1063.
- (8) Carabias-Martínez, R.; Rodríguez-Gonzalo, E.; Fernández-Laespada, M. E.; Calvo-Seronero, L.; Sánchez-San Román, F. J. Evolution over time of the agricultural pollution of waters in an area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Res.* **2003**, *37*, 928–938.
- (9) Guzzella, L.; Pozzoni, F.; Giuliano, G. Herbicide contamination of surficial groundwater in Northern Italy. *Environ. Pollut.* **2006**, *142*, 344–353.
- (10) Barth, J. A. C.; Steidle, D.; Kuntz, D.; Gocht, T.; Mouvet, C.; von Tümpling, W.; Lobe, I.; Langenhoff, A.; Albrechtsen, H.-J.; Janniche, G. S.; Morasch, B.; Hunkeler, D.; Grathwohl, P. Deposition, persistence and turnover of pollutants. First results from the EU project AquaTerra for selected river basins and aquifers. *Sci. Total Environ.* **2007**, *376*, 40–50.
- (11) Kolpin, D. W.; Thurman, E. M.; Goolsby, D. A. Occurrence of selected pesticides and their metabolites in near-surface aquifers of the midwestern United States. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30*, 335–340.
- (12) Lerch, R. N.; Blanchard, P. E.; Thurman, E. M. Contribution of hydroxylated atrazine degradation products to the total atrazine load in Midwestern streams. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 40–48.
- (13) Cox, L.; Celis, R.; Hermosin, M. C.; Becker, A.; Cornejo, J. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agric. Ecosyst. Environ.* **1997**, *65*, 151–161.
- (14) Si, Y.; Zhang, J.; Wang, S.; Zhang, L.; Zhou, D. Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuron-methyl in acidic soils in China. *Geoderma* **2006**, *130*, 66–76.
- (15) Celis, R.; Barriuso, E.; Houot, S. Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere* **1998**, *37*, 1091–1107.
- (16) Houot, S.; Barriuso, E.; Bergheaud, V. Modification to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* **1998**, *30*, 2147–2157.
- (17) Majumdar, K.; Singh, N. Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere* **2007**, *66*, 630–637.
- (18) Worrall, F.; Fernandez-Perez, M.; Johnson, A. C.; Flores-Céspedes, F.; Gonzalez-Pradas, E. Limitations on the role of incorporated organic matter in reducing pesticide leaching. *J. Contam. Hydrol.* **2001**, *49*, 241–262.
- (19) Undabeytia, T.; Sanchez-Verdejo, T.; Morillo, E.; Maqueda, C. Effect of organic amendments on the retention and mobility of imazaquin in soils. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4493–4500.
- (20) Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosin, M. C.; López-Piñeiro, A.; Ortega-Calvo, J. J.; Cornejo, J. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* **2003**, *19*, 150–156.
- (21) Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosin, M. C.; López-Piñeiro, A.; Cornejo, J. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* **2004**, *54*, 717–724.
- (22) Delgado-Moreno, L.; Almendros, G.; Peña, A. Raw or incubated olive-mill wastes and its biotransformed products as agricultural soil amendments - effect on sorption-desorption of triazine herbicides. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 836–843.
- (23) Farenhorst, A.; Reimer, M.; Londry, K.; Saiyed, I. 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid mineralization in amended soil. *J. Environ. Sci. Health, Part B* **2006**, *41*, 509–522.
- (24) Mandelbaum, R. T.; Allan, D. L.; Wackett, L. P. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.* **1995**, *61*, 1451–1457.
- (25) Barriuso, E.; Koskinen, W. C.; Sadowsky, M. J. Solvent extraction characterization of bioavailability of atrazine residues in Soils. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 6552–6556.
- (26) Masaphy, S.; Mandelbaum, R. T. Atrazine mineralization in slurries from soils irrigated with treated waste water. *Appl. Soil Ecol.* **1997**, *6*, 283–291.
- (27) Gevaio, B.; Semple, K. T.; Jones, K. C. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ. Pollut.* **2000**, *108*, 3–14.
- (28) Navarro, S.; Vela, N.; García, C.; Navarro, G. Persistence of simazine and terbuthylazine in a semiarid soil after organic amendment with urban sewage sludge. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7359–7365.
- (29) Cox, L.; Koskinen, W. C.; Yen, P. Y. Changes in sorption of imidacloprid with incubation time. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1998**, *62*, 342–347.
- (30) Sánchez-Camazano, M.; Sánchez-Martín, M.; Delgado-Pascual, R. Adsorption and mobility of linuron in soils as influenced by soil properties, organic amendments, and surfactants. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3018–3026.
- (31) Said-Pullicino, D.; Gliottoli, G.; Vella, A. J. Environmental fate of triasulfuron in soils amended with municipal waste compost. *J. Environ. Qual.* **2004**, *33*, 1743–1751.
- (32) Dorado, J.; López-Fando, C.; Zancada, M. C.; Almendros, G. Sorption-desorption of alachlor and linuron in a semiarid soil as influenced by organic matter properties after 16 years of periodic inputs. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5359–5365.
- (33) Johannesen, H.; Aamand, J. Mineralization of aged atrazine, terbuthylazine, 2,4-D, and mecoprop in soil and aquifer sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, *22*, 722–729.
- (34) Koskinen, W. C.; Rice, P. J.; Anhalt, J. A.; Sakaliene, O.; Moorman, T. B.; Arthur, E. L. Sorption-desorption of “aged” sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5368–5372.
- (35) Menasseri, S.; Koskinen, W. C.; Yen, P. Y. Sorption of aged dicamba residues in soil. *Pest Manage. Sci.* **2004**, *60*, 297–304.
- (36) Koskinen, W. C.; Harper, S. S. The Retention Process: Mechanisms. In *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modelling*; Cheng, H. H., Ed.; ASSS: Madison, WI, 1990; Book Series, no. 2, pp 51–77.
- (37) Koskinen, W. C.; Calderón, M. J.; Rice, P. J.; Cornejo, J. Sorption-desorption of flucarbazone and propoxycarbazonone and their benzenesulfonamide and triazolinone metabolites in two soils. *Pest Manage. Sci.* **2006**, *62*, 598–602.
- (38) Wauchope, R. D.; Yeh, S.; Linders, J. B.; Kloskowski, R.; Tanaka, K.; Rubin, B.; Katayama, A.; Kördel, W.; Gerstl, Z.; Lane, M.; Unsworth, J. B. Review pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Manage. Sci.* **2002**, *58*, 419–445.
- (39) Weber, J. B.; Wilkerson, G. G.; Reinhardt, C. F. Calculating pesticide sorption coefficients (K_d) using selected soil properties. *Chemosphere* **2004**, *55*, 157–166.
- (40) Dann, R. L.; Close, M. E.; Lee, R.; Pang, L. Impact of data quality and model complexity on prediction of pesticide leaching. *J. Environ. Qual.* **2006**, *35*, 628–640.
- (41) Bernard, H.; Chaballier, P. F.; Chopat, J. L.; Legube, B.; Vauclin, M. Assessment of herbicide leaching risk in two tropical soils of Reunion Island (France). *J. Environ. Qual.* **2005**, *34*, 534–543.
- (42) Jacobsen, C. S.; Shapir, N.; Jensen, L. O.; Jensen, E. H.; Juhler, R. K.; Streibig, J. C.; Mandelbaum, R. T.; Helweg, A. Bioavail-

- ability of triazine herbicides in a sandy soil profile. *Biol. Fertil. Soils* **2001**, *33*, 501–506.
- (43) Kristensen, G. B.; Johannesen, H.; Aamand, J. Mineralization of aged atrazine and mecoprop in soil and aquifer chalk. *Chemosphere* **2001**, *45*, 927–934.
- (44) Regitano, J. B.; Koskinen, W. C.; Sadowsky, M. J. Influence of soil aging on sorption and bioavailability of simazine. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 1373–1379.
- (45) García-González, V.; Govantes, F.; Shaw, L. J.; Burns, R. G.; Santero, E. Nitrogen control of atrazine utilization in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, 6987–6993.
- (46) Shapir, N.; Mandelbaum, R. T.; Fine, P. Atrazine mineralization by indigenous and introduced *Pseudomonas* sp strain ADP in sand irrigated with municipal wastewater and amended with composted sludge. *Soil Biol. Biochem.* **2000**, *32*, 887–897.

Received for review January 11, 2008. Revised manuscript received March 18, 2008. Accepted March 19, 2008. We thank the MEC of Spain for a predoctoral FPI fellowship (for A.C.).

JF800095T

Terbuthylazine persistence in an organic amended soil

ALEGRÍA CABRERA, LUCÍA COX, PILAR VELARDE and JUAN CORNEJO

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Sevilla, Spain

The aim of this work was to study the effect of the application of a solid waste from olive oil production (alperujo) on the movement and persistence of the herbicide terbuthylazine (N^2 -tert-butyl-6-chloro- N^4 -ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine). An experimental olive grove was divided in two plots: (i) Plot without organic amendment (blank) and (ii) Plot treated with alperujo during 3 years at a rate of 17920 kg of alperujo ha^{-1} . Terbuthylazine was applied to both plots at a rate of 2 kg ha^{-1} a.i. Triplicates from each plot were sampled at 3 depths (0–10, 10–20 and 20–30 cm), air-dried, remains of olive leaves, grass roots, and stones removed and sieved through a 5 mm mesh sieve. Terbuthylazine was extracted with methanol 1:2 weight:volume ratio, the extracts were evaporated to dryness, resuspended in 2 mL of methanol, filtered and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Higher amounts of terbuthylazine were detected at each sampling depth in plots treated with alperujo. The increase in soil organic matter content upon amendment with alperujo slightly increased sorption, suggesting that other factors beside sorption affect terbuthylazine degradation rate in organic amended soils.

Keywords: Olive oil production waste; terbuthylazine; soil; dissipation; field study.

Introduction

Olive is one of the most important crops in the Mediterranean region, where 97% of the world olive oil is produced.^[1] The two-phase centrifugation process, introduced in the early 1990s for olive oil extraction, extracts more oil from the olives, consumes less water and energy as compared to other processes, and does not produce olive mill wastewater.^[2] The two-phase process for olive oil extraction produces a solid waste called *alperujo*, which is rich in organic matter and lignin.^[3–4]

Soil amendment with alperujo increases soil organic matter affecting soil physico-chemical and biological environments and, consequently, affecting immobilization and degradation of herbicides.^[5] The increase in soil organic matter can increase sorption potential and reduce pesticide contamination of ground water.^[6–7] Under controlled laboratory conditions, an increase in sorption and a decrease in leaching of simazine was observed in soils amended with alperujo.^[4,8–9] Albarrán et al.^[9] also found that in soils enriched with alperujo, biodegradation of simazine is reduced, which has been attributed in part to microbial preference to use the exogenous organic matter rather than

herbicide. These results suggest that in some cases herbicide persistence can be increased upon organic amendment, and consequently the risk of soil and associated water resources contamination can be increased. The aim of the present study was to investigate the effect that soil amendment with alperujo has on immobilization and mobility of the herbicide terbuthylazine, and for this purpose a field experiment was performed. Terbuthylazine is a chloro-S-triazine herbicide used for pre-emergence and post-emergence weed control.^[10] Triazines are weak bases with low water solubility. The main degradation process is microbial^[11], although it is slowly degraded when environmental conditions are unfavorable, being persistent in soil and aquifer sediment.^[12–13] The main terbuthylazine metabolites, formed by dealkylation and hydroxylation, and the parent compound have been detected in groundwater, and are considered as potential pollutants for aquifer contamination.^[14]

Materials and methods

Herbicide, soil and organic waste

Terbuthylazine (N^2 -tert-butyl-6-chloro- N^4 -ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) (99% purity), was purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). It is a colorless powder with a water solubility of 8.5 mg L^{-1} at 20°C and log Kow of 3.21.^[15] It is absorbed by roots and inhibits Hill reaction and CO_2 sorption in the chlorophyll

Address correspondence to Dr. Lucía Cox, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain; E-mail: lcox@imase.csic.es.

Received: February 15, 2008.

Table 1. Physicochemical properties of organic residue alperujo (A) and soil, unamended (S) and amended with A (S + A).

Residue/soil	pH	Organic matter %	C/N
Alperujo	5.81	93.2	18.3
S	8.2	1.84	16.5
S + A	8.5	2.82	10.6

function. The commercial formulation ANIBAL (28.5% terbuthylazine) was purchased from Aragonesas Agro (Madrid, Spain). Physicochemical properties of the solid residue from olive oil production industry, alperujo, are given in Table 1, together with properties of unamended soil (S) and amended soil (S+A).

Sorption studies

Duplicate samples (5 g) of unamended (S) and amended soil (S + A) (air dried) were treated with 10 mL of terbuthylazine solutions (initial concentrations, C_i , ranging from 5 to 50 μM in 0.01 M CaCl_2). Previously, it was determined that equilibrium was reached in less than 24 h, and that no measurable degradation occurred during this period. Equilibrium concentrations (C_e) in the supernatants were determined by HPLC under the following conditions: Nova-Pack column, 150 mm length \times 3.9 mm i.d.; column packing, C18; flow rate, 1 mL min^{-1} ; eluent system 50:50 water-acetonitrile mixture and UV detection at 222 nm. Terbuthylazine retention time was 4.3 min. Sorption isotherms were fitted to Freundlich equation ($C_s = K_f \times C_e^{n_f}$) and sorption coefficients K_f and n_f were calculated.

Field study

Field experiment was carried out in a 50 ha olive grove located in an experimental farm at Mengibar (Jaen, Southern Spain). The climate of the area is typically Mediterranean. The olive trees (64 years old on 2008) were irrigated under drip irrigation from April 15 until October 15 (2006). The total amount of water received was 8,544 L per olive tree. Total rainfall was 492 mm in 2006.

Two subplots composed of four olive trees (12 \times 12 m plantation distance) were randomly selected from the 50 ha olive grove for the two different treatments: soil amended with alperujo and herbicide treatment (S + A) and unamended soil and terbuthylazine treatment (S). Alperujo was applied to S + A plots during three consecutive years at the rate of 17,920 kg ha^{-1} on the first days of April. After amendment, soil was tilled to a depth of 4 cm. Commercial herbicide formulation ANIBAL was applied with a standard spraying machine to S + A and S plots on October 5 (2005) at the rate of 7 L ha^{-1} . At each subplot, three soil samples were taken with a spade at 0–10, 10–20 and 20–30 cm depth. Samples were extracted twice with methanol at

Table 2. Terbuthylazine sorption coefficients in unamended (S) and amended soils (S + A).

Soil	S	S+A
K_f	2.60 (2.29–2.89)	2.50 (2.35–2.78)
n_f	0.96 \pm 0.05	0.98 \pm 0.04
R^2	1.00	1.00

1:2 soil/solution ratio (recoveries >90% for each herbicide). Extracts were mixed and rotary-vacuum evaporated almost to dryness at 40°C. The residue was dissolved in 2 mL of methanol and analyzed by HPLC as described above.

Statistical analysis

Statistical analysis was carried out using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows v. 14.0. Repeated measures analyses of variance (ANOVA) were used. All pairwise multiple comparisons were performed using the Duncan test. Differences between results were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

Sorption studies

Terbuthylazine sorption isotherms were performed and sorption coefficients after fitting sorption isotherms to Freundlich equation are given in Table 2. Terbuthylazine sorption has been reported to depend on organic matter.^[16] However, in our study, we do not find significant differences in sorption of terbuthylazine between the unamended soil and the amended soil (Table 2), despite the increase in organic matter from 1.84 to 2.82 (Table 1). In a previous study we have shown alperujo has very high content in dissolved organic matter of very low humification index.^[15] This dissolved organic matter has been shown to be able to interact with soil components^[17] which can decrease terbuthylazine sorption.

Field studies

The total amounts of terbuthylazine recovered from unamended soil (S) and soil treated with alperujo (S + A) plots are given in Table 3 and in Figure 1. Very low mobility of terbuthylazine in depth is observed in both soils, since greater amounts of terbuthylazine are found within the first 10 cm of the soil profile even after 100 days of herbicide application. Except for the first sampling date (7 days), there are significant differences between treatments in the total amounts of terbuthylazine recovered. Higher amounts of herbicide were detected in S + A plots when compared to S plots. The small increase in sorption upon amendment (Table 2) suggests that sorption is not the main factor affecting terbuthylazine distribution in the soil. Differences

Table 3. Amounts of terbutylazine ($\mu\text{g g}^{-1}$ soil) recovered from unamended soil (S) and amended soil (S + A) at different sampling dates. Values with different letters at each sampling date and each soil depth are significantly different. (Duncan test, $p < 0.05$).

Days after Herbicide treatment	Soil	Soil depth (cm)		
		0-10	10-20	20-30
7	S	0.225 ^a	0.104 ^a	0.138 ^a
	S + A	0.280 ^a	0.129 ^a	0.104 ^a
14	S	0.127 ^b	0.077 ^b	0.059 ^{a/b}
	S + A	0.361 ^a	0.144 ^a	0.080 ^a
21	S	0.188 ^{a/b}	0.069 ^b	0.052 ^b
	S + A	0.226 ^a	0.136 ^a	0.113 ^a
49	S	0.121 ^b	0.088 ^b	0.053 ^b
	S + A	0.202 ^a	0.087 ^b	0.101 ^a
70	S	0.076 ^b	0.036 ^b	0.033 ^b
	S + A	0.159 ^a	0.063 ^a	0.077 ^a
117	S	0.070 ^a	0.015 ^b	0.020 ^b
	S + A	0.079 ^a	0.040 ^a	0.061 ^a

in degradation rates should explain this. In fact, in previous laboratory dissipation studies, higher half life for terbutylazine was found in a sandy soil treated with alperujo when compared to unamended soil.^[5] Also, in the case of the

herbicide simazine and a soil amended with alperujo, Albarrán et al.^[9] found lower mineralization of this herbicide in amended soils, which was attributed to a possible toxic effect of alperujo on soil microbial population.

Conclusions

Addition of organic amendments to soil is becoming a common practice in agriculture. Numerous previous studies with different types of organic amendments, urban sewage sludge, urban waste compost, manure etc., have shown an increase in pesticide sorption, reducing the amount of pesticide available for leaching to groundwater and for run off to surface waters. However, in our study, soil addition of organic wastes from olive oil production industry (alperujo) does not modify the sorption capacity of soil for terbutylazine. Field dissipation study has shown an increase in terbutylazine persistence in the amended soil with alperujo, suggesting that other factors, such as different degradation rates upon amendment, are involved. Further experiments to confirm this should be carried out.

Acknowledgments

This work has been partially financed by Project AGL 2007-65771 from the Spanish MEC and Research Group RNM 124 of Junta de Andalucía. Alegria Cabrera thanks the Ministerio de Educación y Ciencia for her FPI fellowship.

References

- [1] Borja, R.; Rincón, B.; Raposo, F. Review anaerobic biodegradation of two-phase olive mill solid wastes and liquid effluents: kinetic studies and process performance. *J. Chem. Technol. Biot.* **2006**, *81*(9), 1450-1462.
- [2] Martín, J.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; García-Garrido, J.M.; Ocampo, J.A. Arbuscular mycorrhizial colonization and growth of soybean (*Glycine max*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and phytotoxic effects of olive mill residues. *Soil Biol. Biochem.* **2002**, *34*(11), 1769-1775.
- [3] Albuquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. Composting of a solid olive-mill by-product ("alperujo") and the potential of the resulting compost for cultivating pepper under commercial conditions. *Waste Manag.* **2006**, *26*(6), 620-626.
- [4] Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; López-Piñero, A.; Cornejo, J. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* **2004**, *54*(6), 717-724.
- [5] Cabrera, A.; Cox, L.; Velarde, P.; Koskinen, W.C.; Cornejo, J. Fate of diuron and terbutylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*(12), 4828-4832.
- [6] Barriuso, E.; Houot, S.; Serra-Wittling, C. Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pestic. Sci.* **1997**, *49*(1), 65-75.
- [7] Cox, L.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; Becker, A.; Cornejo, J. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agric. Ecosystems and Environ.* **1997**, *65*(2), 151-161.

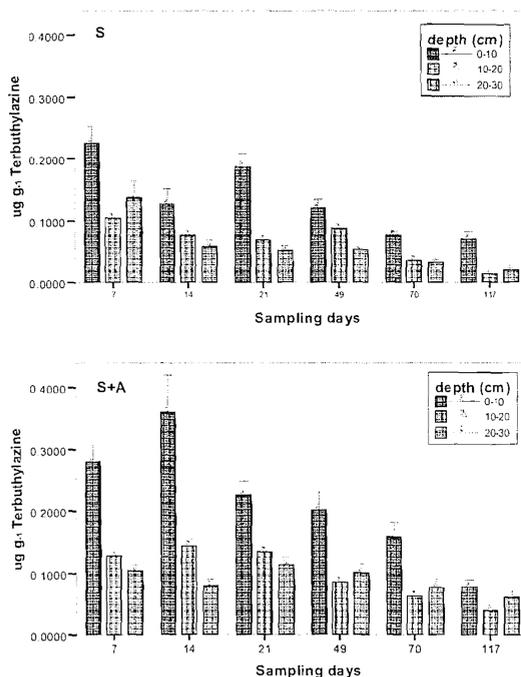


Fig. 1. Amounts of terbutylazine ($\mu\text{g g}^{-1}$) recovered at each sampling day at 0-10, 10-20 and 20-30 cm depth in unamended soil (S) and alperujo-amended soil (S + A) plots.

- [8] Cox, L.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. Leaching of simazine in organic amended soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1999**, *30*(11–12), 1697–1706.
- [9] Albarrán, A.; Celis, R.; Hermosín, M.C.; López-Piñero, A.; Ortega-Calvo, J.J.; Cornejo, J. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* **2003**, *19*(2), 150–156.
- [10] Guzzella, L.; Rullo, S.; Pozzoni, F.; Giuliano, G. Studies on mobility and degradation pathways of terbutylazine using lysimeters on a field scale. *J. Environ. Qual.* **2003**, *32*(3), 1089–1098.
- [11] Lányi, K.; Dinya, Z. Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiolcarbamate- type herbicides. *Microchem. J.* **2005**, *80*(1), 79–87.
- [12] Johannesen, H.; Aamand, J. Mineralization of aged atrazine, terbutylazine, 2,4-D, and mecoprop in soil and aquifer sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, *22*(4), 722–729.
- [13] Jacobsen, C. S.; Shapir, N.; Jensen, L.O.; Jensen, E. H.; Juhler, R.K.; Streibig, J.C.; Mandelbaum, R.T.; Helweg, A. Bioavailability of triazine herbicides in a sandy soil profile. *Biol. Fertil. Soils.* **2001**, *33*(6), 501–506.
- [14] Guzzella, L.; Pozzoni, F.; Giuliano, G. Herbicide contamination of surficial groundwater in Northern Italy. *Environ. Pollut.* **2006**, *142*(2), 344–353.
- [15] Tomlin, C.D.S (Ed.). *The e-Pesticide Manual. A World Compendium*. Version 4.0. Fourteenth Edition, British Crop Protection Council: Surrey, UK, 2006–07.
- [16] Dousset, S.; Mouvet, C.; Schiavon, M. Sorption of terbutylazine and atrazine in relation to the physico-chemical properties of three soils. *Chemosphere*. **1994**, *28* (3), 467–476.
- [17] Cox, L.; Velarde, P.; Cabrera, A.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J. Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *Eur. J. Soil Sci.* **2007**, *58*(3), 714–721.

Alegria Cabrera¹
Carmen Trigo¹
Lucia Cox¹
Rafael Celis¹
Juan Cornejo¹

¹Instituto de Recursos Naturales y
Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC,
Sevilla, Spain.

Research Article

A Comparative Study of the Use of Organoclay-Based Formulations and Organic Amendment to Reduce the Leaching of the Herbicide MCPA in Soil

MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) is an acidic herbicide widely used on olive crops in Spain. Due to its anionic form at natural soil pH, there is high risk of leaching and groundwater contamination by the use of this herbicide. The aim of this work was to study the effects of organoclay-based formulations of MCPA and olive oil waste amendment on MCPA leaching in a sandy loam soil. For this purpose, batch adsorption and column leaching studies were performed. The organoclays used to prepare the clay-based formulations of MCPA were obtained by treating Wyoming montmorillonite (SWy-2) and Arizona montmorillonite (SAz-1) with an amount of hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) cation equal to 100% of the CEC of the montmorillonites. The organic residue used in this study was a solid waste from olive oil production (olive oil waste, OOW). The soil was amended with the organic residue at the rate of 10% (w/w). Batch release and column leaching studies indicated that organoclay-based formulations of MCPA reduced the release rate and the leaching of the herbicide as compared to the use of a conventional formulation containing the herbicide in an immediately available form. The increase in soil organic matter of the soil upon amendment with the organic residue also resulted in greater adsorption and reduced leaching of MCPA in the soil. Accordingly, both the use of organoclay-based formulations and the amendment of soil with OOW are proposed as efficient strategies to reduce extensive leaching losses associated with the application of MCPA in high-risk scenarios, such as Mediterranean olive groves.

Keywords: Herbicide leaching; MCPA; Olive oil waste; Organoclays; Soil

Received: July 17, 2008; *revised:* September 10, 2008; *accepted:* October 1, 2008

DOI: 10.1002/clean.200800159

1 Introduction

Surface and groundwater contamination by herbicides used in olive groves in Spain and other Mediterranean countries has become a serious issue, and has led authorities to prohibit or restrict the application of widely used active ingredients, e.g., simazine, diuron, terbutylazine, or MCPA [1]. In olive groves, conditions that favor offsite movement of the applied herbicides predominate. Soil texture, pronounced slopes, and climatic conditions favor losses of herbicide by leaching and runoff processes. To compensate for such losses, herbicides need to be applied in concentrations greatly exceeding those strictly required for weed control, and the excessive quantities added increase the risk of surface and groundwater pol-

lution. In this context, there is a need to develop strategies directed to preventing water pollution by herbicides applied to olive groves, particularly in high-risk scenarios such as Mediterranean areas [2].

The use of slow release formulations has been demonstrated to be an efficient strategy to reduce the environmental impact of soil-applied pesticides. Beneficial effects related to the use of slow release formulations include reduced mobility of the active ingredient, reduction in the amount of chemical required for pest control, savings in manpower and energy from the reduction of the number of applications required in comparison to conventional formulations, increased safety for the pesticide applicator, and a general decrease in non-target effects [3]. Organoclays, i.e., natural clay minerals with their original inorganic exchange cations replaced with organic cations, have been shown to be very good adsorbents for different classes of pesticides, and therefore, have been proposed as carriers for the design of slow release formulations of pesticides [4–7].

Soils of low organic carbon content have a low capacity for retarding pesticide mobility [8], since soil organic matter is the primary adsorbent for pesticides and adsorption is one of the main processes reducing the level of pesticide leaching in soil [9]. Organic amendments can be used to modify the surfaces of soils and subsurface

Correspondence: Prof. J. Cornejo, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, Apartado 1052, 41080 Sevilla, Spain.
E-mail: cornejo@irnase.csic.es

Abbreviations: HDTMA, Hexadecyltrimethylammonium; MCPA, 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid; OOW, Olive oil waste; SA-HDTMA, HDTMA-treated Arizona montmorillonite; SW-HDTMA, HDTMA-treated Wyoming montmorillonite

materials, promoting adsorption and reducing groundwater contamination by pesticides [10, 11]. Furthermore, the addition of organic amendments modifies soil chemical and biological conditions, which can affect degradation and, in some cases, accelerate this process [11–13], reducing the total amount of chemical potentially available for leaching. The new technologies for olive-oil extraction generate a solid residue rich in organic matter. This olive oil waste (OOW) is generated in great amounts in Spain (4,000,000 Mg/year), and represents a major environmental problem. Soil incorporation of OOW has been shown to increase fertility and control erosion [14, 15], but also to reduce pesticide leaching [16].

In this work, batch and column leaching experiments were designed to assess and compare the ability of organoclay-based formulations and the application of OOW to soil to reduce the leaching of the herbicide MCPA in a Mediterranean sandy loam soil. MCPA was selected since it is a highly mobile herbicide commonly used in high risk scenarios of surface and groundwater contamination, such as Mediterranean olive groves.

2 Materials and Methods

2.1 Herbicide

Analytical grade MCPA (purity = 98.9%) from Riedel-de Haën (Germany) was used to prepare the clay-based formulations of the herbicide, the initial herbicide solutions used in the adsorption experiments, and the external standards for herbicide analysis. Commercial MCPA, amine salt 60% soluble concentrate (SL) from Tratamientos Guadalquivir S.L. (Spain), was used as a reference standard formulation in the release and leaching experiments.

2.2 Soil and Organic Amendment

The soil used in the experiments was a sandy loam soil (0–20 cm) with 73% sand, 7% silt and 20% clay sampled from an experimental olive field located in Seville (Spain). It contained 1.0% CaCO₃ and 1.62% organic matter. The pH measured in a 1:2 (w/w) soil:deionized water suspension was 8.2. The organic amendment used was a fresh, uncomposted olive oil waste (OOW). The properties of this organic waste are: pH 5.8, 93.2% organic matter, 25 g/kg dissolved organic carbon, and a C/N ratio of 18.3. The soil was amended in the laboratory with OOW at the rate of 10% (w/w).

2.3 Organoclays and Organoclay-Based Formulations of MCPA

The organoclays used in this work, i.e., SW-HDTMA and SA-HDTMA, were prepared by treating Na-rich SWy-2 Wyoming montmorillonite and Ca-rich SAz-1 Arizona montmorillonite with an ethanol/

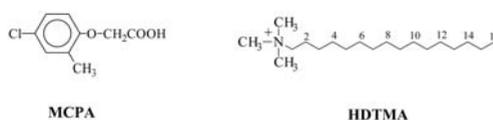


Figure 1. Chemical structures of MCPA and HDTMA.

water (50:50) solution containing an amount of hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) cation, Fig. 1, as the chloride salt, equal to the cation exchange capacity (CEC) of the montmorillonites [6]. The CEC of SWy-2 and SAz-1 are 74.6 and 120 cmol_c/kg, respectively. Additional physicochemical properties of SWy-2 and SAz-1 can be found in van Olphen and Fripiat [17]. The suspensions were shaken for 24 h, centrifuged, washed with distilled water until Cl⁻-free, and then lyophilized. Some characteristics of the resultant organoclays are given in Tab. 1. The percentage of the CEC occupied by HDTMA cations (OCtS) was calculated from the N-content of the samples, determined by elemental analysis. The basal spacing values, *d*₀₀₁, were measured on air-dried oriented specimens in a Siemens D5000 diffractometer using CuKα radiation.

The organoclay-based formulations of MCPA were prepared by treating 400 mg of organoclay (SW-HDTMA or SA-HDTMA) with 160 mL of an aqueous solution of MCPA. The concentration of MCPA in solution was 600 mg/L for SW-HDTMA and 200 mg/L for SA-HDTMA, in order to achieve similar herbicide content in both formulations. Extractions with a 60:40 methanol:diluted H₃PO₄ (pH = 2) mixture revealed that the final amounts of MCPA adsorbed on SW-HDTMA and SA-HDTMA were 6.5 and 5.6%, respectively.

2.4 Batch Adsorption Isotherms

Adsorption isotherms of MCPA on the organoclays and on unamended and amended soil were obtained by the batch equilibration procedure. MCPA adsorption isotherms on the organoclays were obtained by shaking suspensions containing 20 mg of organoclay and 8 mL of MCPA aqueous solutions with initial herbicide concentrations ranging between 0.1 and 2 mg/L at 20 ± 2°C for 24 h. MCPA adsorption isotherms on unamended and amended soil were obtained in a similar manner by equilibrating 5 g of soil with 10 mL of MCPA solutions with initial herbicide concentrations ranging between 1 and 10 mg/L. After equilibration, the suspensions were centrifuged and 4 mL of the supernatant solutions was removed for analysis. The herbicide concentration in the supernatant solutions, *C*_e, was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) as described below. The amount of herbicide adsorbed in the soil and the organoclays, *C*_s, was calculated from the difference between the initial and the equilibrium solution concentrations.

Table 1. Some characteristics of the organoclays used as adsorbents of MCPA.

Organoclay	Montmorillonite	Organic cation	OCtS ^{a)}	<i>d</i> ₀₀₁ ^{b)} (Å)
SW-HDTMA	SWy-2	Hexadecyltrimethylammonium	93	18.0
SA-HDTMA	SAz-1	Hexadecyltrimethylammonium	100	24.0

^{a)} Organic cation saturation: percentage of the CEC of the montmorillonites compensated by HDTMA cations (calculated from the N content of the organoclays)

^{b)} *d*₀₀₁: basal spacing value for air-dried oriented specimens.

2.5 Kinetics of MCPA Release from the Organoclay-Based Formulations

Ten milligrams of organoclay-based formulations of MCPA were added to 250 mL of distilled water in glass bottles sealed with screw caps. At selected times, the bottles were hand-shaken, allowed to settle for 10 min, and then 3 mL of the supernatant solution was removed, filtered, and analyzed by HPLC to determine the MCPA concentration. The aqueous concentrations of MCPA expected assuming complete release of MCPA from SW-HDTMA and SA-HDTMA were 2.6 and 2.2 mg/L, respectively. These concentrations would be at the high end in comparison to those used in the batch adsorption isotherms. The release kinetics of MCPA from the standard commercial formulation was also measured for comparison purposes.

2.6 Column Leaching Experiment

Leaching was studied in glass columns of length 30 cm and i.d. 3.1 cm. The top 5 cm was filled with sea sand and the bottom 5 cm with sea sand plus glass wool, to prevent losses of soil during the experiment. The other 20 cm was hand packed with air-dried soil, either unamended or amended with OOW at a rate of 10%, which was then saturated with deionized water from the top, and allowed to drain for 24 h. The calculated pore volume of the columns after saturation was ca. 60 mL. The amount of MCPA corresponding to an application rate of 2 kg/ha (0.15 mg a.i.) was applied to the top of duplicate unamended soil columns either as organoclay-based formulations or as the commercial standard formulation. In a separate set of experiments, the commercial standard formulation of MCPA was added to the top of duplicate columns filled with either unamended or OOW-amended soil. Daily, 15 mL of deionized water was added to the top of the columns, the leachates were collected, and the concentration of MCPA in the leachates was determined by HPLC.

2.7 Herbicide Analysis

The herbicide MCPA was analyzed by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Waters 996 diode-array detector. The analytical conditions were: Novapack C18 column (150 mm length · 3.9 mm i.d.), eluent mixture, 60:40 methanol:diluted H_3PO_4 (pH = 2) at a flow rate of 1 mL/min, 25 μL injection volume, and UV detection at 230 nm. External calibration curves with standard solutions between 0.1 and 10 mg/L were used in the calculations.

3 Results and Discussion

3.1 Characteristics of the Organoclays

The amounts of hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) present in the organoclays, Tab. 1, were calculated from the N-content of the samples, and were found to be close to the amounts of organic cation added during the synthesis. This reflects the success of the exchange reaction, as expected from the high affinity of montmorillonites for large alkylammonium cations such as HDTMA [18]. The basal spacing values, d_{001} , of air-dried oriented specimens of the organoclays, Tab. 1, indicated that the arrangement of HDTMA cations in the interlayers of SWy-2 and SAz-1 is dependent on the surface charge density of the montmorillonite. Thus, HDTMA formed

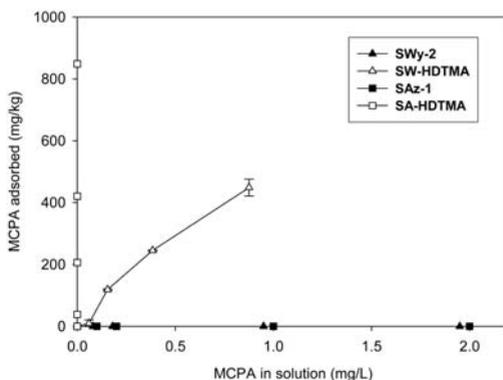


Figure 2. Adsorption isotherms of MCPA on organoclays (SW-HDTMA and SA-HDTMA) and unmodified clays (SWy-2 and SAz-1). Data were extracted from Celis et al. [2].

horizontal bilayers in the low-charge montmorillonite SWy-2 ($d_{001} \approx 18 \text{ \AA}$), whereas it formed a paraffinic structure, with vertical arrangement, in the high-charge montmorillonite SAz-1 ($d_{001} > 22 \text{ \AA}$) [19, 20]. Previous work has shown that large organic cations, e.g., HDTMA are strongly retained in the interlayers of montmorillonites. Solvents do not significantly displace the organic cation from the clay, and the structure is stable in the presence of high concentrations of metal cations [18].

3.2 Adsorption of MCPA on the Organoclays and Release from the Organoclay-Based Formulations

The organoclays used in this work (SW-HDTMA and SA-HDTMA) were selected on the basis of a preliminary adsorption-desorption study revealing their high affinity for the herbicide MCPA, see Fig. 2, and the low hysteresis of the adsorption-desorption isotherm found for SW-HDTMA, which are desirable features for the use of clays as supports for the slow release of pesticides [2]. In contrast, adsorption of MCPA by the untreated clays (SWy-2 and SAz-1) was negligible due to repulsions between the herbicide and the negatively charged clay surfaces, see Fig. 2. Replacement of the original inorganic exchange cations of SWy-2 and SAz-1 by HDTMA cations changes the nature of the montmorillonite surfaces from hydrophilic to hydrophobic, increasing their affinity for the herbicide MCPA. This behavior has also been observed for other acidic pesticides, such as 2,4-D, dicamba or imazamox [21–23]. The higher affinity of SA-HDTMA for MCPA compared to that displayed by SW-HDTMA can be explained by the paraffinic ($d_{001} > 22 \text{ \AA}$) structure resulting from incorporation of HDTMA cations in SAz-1, which creates a wide interlayer organic phase with a strong affinity for herbicides [2].

The release kinetics of MCPA into water from formulations prepared by preadsorbing the herbicide on SW-HDTMA and SA-HDTMA, are shown in Fig. 3. In contrast to the reference standard formulation, which released 100% of the herbicide instantaneously, the organoclay-based formulations of MCPA displayed slow release properties in water. The initial amount of MCPA released by SW-

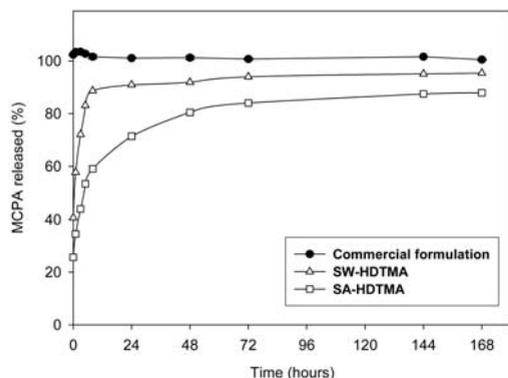


Figure 3. Release kinetics of MCPA into water from organoclay-based formulations and from a reference standard commercial formulation.

HDTMA was 41%, whereas the final amount of MCPA released by this organoclay was 95% after 168 h. For SA-HDTMA, the initial release was 26%, whereas the final release was 88% after 168 h. Both the release rate and the total amount of herbicide released at the end of the experiment was less for SA-HDTMA compared to SW-HDTMA, which is consistent with the different affinities of the organoclays for the herbicide, see Fig. 2. Since different rates and extents of MCPA occurred depending on the nature of the adsorbent, the possibility exists to select the most suitable organoclay to achieve the desired release behavior of MCPA.

3.3 Effect of the Organic Amendment on the Adsorption of MCPA by the Soil

The adsorption isotherms of MCPA on unamended soil and soil amended with OOW are shown in Fig. 4. Adsorption isotherms were fitted to the Freundlich equation and adsorption coefficients were calculated, see Fig. 4. MCPA adsorption by the unamended soil was low, due to the anionic character of the herbicide. The organic amendment (OOW) increased considerably the adsorption capacity of the soil for the herbicide MCPA, see Fig. 4, which can be attributed to the increase in organic matter content of the soil upon amendment (from 1.6 to 4.3%). Similar results were observed in a previous study with the anionic herbicide clopyralid and a soil amended with olive-mill wastewater [11].

3.4 Column Leaching Experiments

The effects of formulation and OOW addition on the breakthrough curves (BTCs) of MCPA in soil columns are shown in Fig. 5. Both the application of the herbicide as organoclay complexes on unamended soil and the amendment of the soil with the organic residue clearly resulted in lower MCPA concentration in leachates, flattening of the BTCs, and a lower total amount of herbicide leached compared to the application of the commercial formulation to unamended soil columns. The application of organoclay-based formulations of MCPA also resulted in the shifting of the maximum concentration peak of the BTC to larger water volumes compared to the commercial formulation.

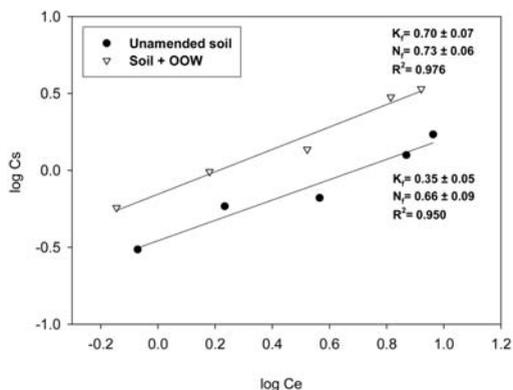


Figure 4. Freundlich adsorption isotherms of MCPA on unamended soil and soil amended with olive oil waste (OOW). Freundlich adsorption coefficients for each isotherm are included in the graph.

Regarding the effect of formulation, the maximum concentration of MCPA in leachates decreased in the order: commercial > SW-HDTMA > SA-HDTMA, which is in accordance with the affinity of the organoclays for the herbicide and the herbicide release rates observed in the batch release experiments, see Figs. 2 and 3. A very interesting feature from Fig. 5 is that for the organoclay-based formulations of MCPA, especially for SA-HDTMA, the presence of the herbicide in the leachates remained moderate after larger volumes of water added, as compared to the commercial formulation, demonstrating the slow release behavior of the formulations.

The organic amendment, OOW, also reduced the level of MCPA leaching and led to moderate concentrations of MCPA in leachates, as can be seen from the cumulative and relative BTCs, see Fig. 5, even though the maximum of the BTC occurred at the same time in unamended and amended soil and the appearance of MCPA in leachates occurred slightly earlier in amended soil. The latter observation can be attributed to the very high content in dissolved organic carbon (DOC, 25 g/kg) of the OOW, which could have initially favored leaching by formation of soluble DOC-MCPA complexes. Nevertheless, the total amount of MCPA leached from amended soil columns was much less than that leached from unamended soil, as a result of the increase in the adsorption capacity of the soil upon amendment with the organic residue.

4 Concluding Remarks

The results of this work show that both the use of organoclay-based formulations and the amendment of soil with olive oil waste (OOW) can be efficient strategies to reduce extensive leaching losses associated with the application of highly mobile herbicides, such as MCPA, in high-risk scenarios, such as Mediterranean olive groves. The reduced release rate of MCPA from organoclay-based formulations, compared to its immediate release from conventional commercial formulations, results in lower herbicide concentration in leachates and lower total amount of herbicide leached from soil columns. The enhanced adsorption of MCPA provided by the addition of OOW to soil also resulted in reduced herbicide leaching, and OOW addition to soil would have the added value of being an alter-

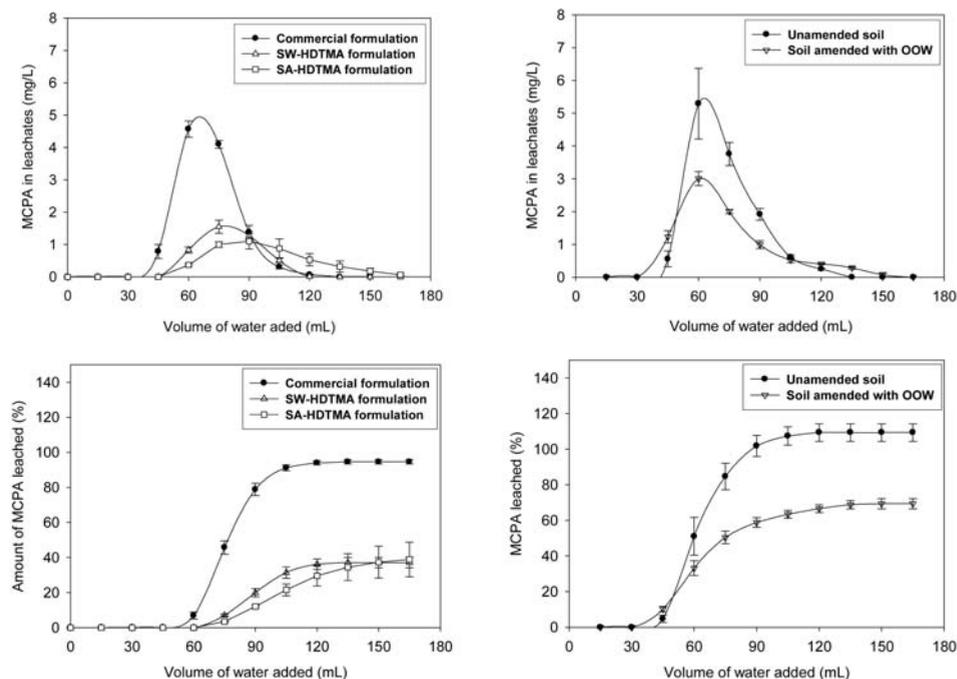


Figure 5. Relative (top) and cumulative (bottom) breakthrough curves of MCPA in soil columns as affected by formulation and organic amendment addition. The effect of formulation was studied on unamended soil, whereas the effect of OOW addition was studied using the commercial formulation of MCPA.

native for OOW disposal. However, when using this practice, the possibility of an enhanced initial leaching, due to the presence of dissolved organic carbon in the organic residue, should also be considered.

Acknowledgments

This work has been financed by the Spanish Ministry of Education and Science (MEC/FEDER) through the projects AGL2007-65771-C02-01 and AGL2008-04031-C02-01, and by Junta de Andalucía through the projects P06-AGR-1565 and P07-AGR-03077. The authors wish to thank Tratamientos Guadalquivir S.L. for kindly supplying the commercial formulation of MCPA. Carmen Trigo and Alegria Cabrera also thank the Spanish Ministry of Education and Science for their FPI fellowships.

References

- [1] R. Santiago-Mora, F. Martin-Laurent, R. de Prado, A. R. Franco, Degradation of simazine by microorganisms isolated from soils of Spanish olive fields, *Pest Manage. Sci.* **2005**, 61, 917.
- [2] R. Celis et al., Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 6650.
- [3] Z. Gerstl, A. Nasser, U. Mingelgrin, Controlled release of pesticides into soils from clay-polymer formulations, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 3797.
- [4] Y. El-Nahhal, S. Nir, L. Margulies, B. Rubin, Reduction of photodegradation and volatilization of herbicides in organo-clay formulations, *Appl. Clay Sci.* **1999**, 14, 105.
- [5] M. C. Hermosín, M. J. Calderón, J. P. Aguer, J. Cornejo, Organoclays for controlled release of the herbicide fenuron, *Pest Manage. Sci.* **2001**, 57, 803.
- [6] R. Celis, M. C. Hermosín, M. J. Carrizosa, J. Cornejo, Inorganic and organic clays as carriers for controlled release of the herbicide hexazinone, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 2324.
- [7] L. Cornejo et al., Use of modified montmorillonites to reduce herbicide leaching in sports turf surfaces: Laboratory and field experiments, *Appl. Clay Sci.*, in press. DOI: 10.1016/j.clay.2008.01.008.
- [8] L. Guo, T. J. Bicki, T. D. Hinesly, A. S. Felsot, Effect of carbon-rich waste materials on movement and sorption of atrazine in a sandy, coarse-textured soil, *Environ. Toxicol. Chem.* **1991**, 10, 1273.
- [9] C. T. Chiou, in *Reactions and Movement of Organic Chemicals in Soils*, SSSA Special Publication No. 22, Madison, WI **1989**, p. 1.
- [10] E. Barriuso, S. Houot, C. Serra-Wittling, Influence of compost addition to soil on the behavior of herbicides, *Pestic. Sci.* **1996**, 49, 65.
- [11] L. Cox et al., Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill waste water, *Agric. Ecosys. Environ.* **1997**, 65, 151.
- [12] E. Topp, L. Tessier, E. G. Gregorich, Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil, *Can. J. Soil Sci.* **1996**, 76, 403.

- [13] J. Gan, S. R. Yates, S. Papiernik, D. Crowley, Application of organic amendments to reduce volatile pesticide emissions from soil, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 3094.
- [14] G. Brunetti, C. Plaza, N. Senesi, Olive pomace amendment in Mediterranean conditions: Effect on soil and humic acid properties and wheat (*Triticum turgidum* L.) yield, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 6730.
- [15] A. López-Piñero, J. Fernández, J. M. Rato Nunes, A. García, Response of soil and wheat crop to the application of two-phase olive mill waste to Mediterranean agricultural soils, *Soil Sci.* **2006**, 171, 728.
- [16] A. Cabrera et al., Fate of diuron and terbuthylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 4828.
- [17] H. van Olphen, J. J. Fripiat, *Data Handbook for Clay Minerals and Other Non-Metallic Minerals*, Pergamon Press, Oxford **1979**.
- [18] A. Moronta, in *Clay Surfaces: Fundamentals and Applications* (Eds: F. Wypych, K. G. Satyanarayana), Elsevier, Amsterdam **2004**, p. 321.
- [19] G. Lagaly, Layer charge heterogeneity in vermiculites, *Clays Clay Miner.* **1982**, 30, 215.
- [20] W. F. Jaynes, S. A. Boyd, Clay mineral type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium exchanged clays, *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1991**, 55, 43.
- [21] M. C. Hermosín, J. Cornejo, Binding mechanism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by organoclays, *J. Environ. Qual.* **1993**, 22, 325.
- [22] H. Zhao, W. F. Jaynes, G. F. Vance, Sorption of the ionizable organic compound, dicamba (3,6-dichloro-2-methoxy benzoic acid), by organoclays, *Chemosphere* **1996**, 33, 2089.
- [23] R. Celis et al., Sorption of the ionizable pesticide Imazamox by organoclays and organohydrotalcites, *J. Environ. Sci. Health, Part B* **1999**, 34, 929.