

Formulaciones basadas en organoarcilla para reducir el impacto producido por el uso de herbicidas en suelos de olivar

Organoclay-based formulations to reduce the environmental impact caused by herbicides commonly applied to olive groves

C. Trigo¹, R. Celis, G. Facenda & J. Cornejo

RESUMEN

Los repetidos episodios de contaminación de aguas superficiales y subterráneas originados por herbicidas utilizados en el cultivo del olivar son motivo de una gran preocupación en muchas regiones mediterráneas. El hecho de que la mayoría de las formulaciones comerciales de herbicidas contengan las materias activas en una forma inmediatamente disponible acentúa el riesgo de pérdidas por transporte de los herbicidas que se aplican al olivar y, por consiguiente, el riesgo de contaminación de aguas adyacentes. En este trabajo se presenta la preparación de formulaciones de liberación lenta de tres herbicidas (diurón, terbutilazina y MCPA), muy utilizados en el control de malas hierbas en el olivar, a partir del soporte de los mismos en una montmorillonita modificada con cationes hexadeciltrimetilamonio. Posteriormente, se ha evaluado la capacidad de las formulaciones preparadas de reducir la velocidad de liberación de los herbicidas en medio acuoso y de retrasar su lixiviación a través de columnas de suelo, en comparación a formulaciones comerciales convencionales de los herbicidas. Los resultados

sugieren la utilidad de las formulaciones desarrolladas para reducir las pérdidas por transporte de los herbicidas estudiados tras su aplicación a suelos de olivar.

Palabras-clave: formulaciones, herbicidas, lixiviación, olivar, organoarcillas

ABSTRACT

Ground and surface water contamination by herbicides commonly applied to olive groves is a matter of current concern in Mediterranean regions. The fact that most commercial herbicide formulations in current use contain the herbicide in an immediately available form that is readily released into the environment exacerbates the risk of ground and surface water contamination by rapid herbicide transport losses. In this work, we prepared slow release formulations of three herbicides (diuron, terbutylazine, and MCPA) widely applied to olive groves by preadsorbing the herbicides on hexadecyltrimethylammonium-modified montmorillonite. Then, we evaluated the ability of the organoclay-based formulations

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, Spain, e-mail: ctrigo@irnase.csic.es

to slow the release of the herbicides into water and to reduce their leaching through soil columns, as compared to conventional commercial formulations containing the herbicides in a readily available form. The results indicated that organoclay-based formulations can be useful to reduce the mobility of the assayed herbicides after application to soils such as those typically used for olive growing in Mediterranean regions.

Key-words: formulations, herbicides, leaching, olive groves, organoclays

INTRODUCCIÓN

Los residuos de plaguicidas que se encuentran en los suelos y en aguas superficiales y subterráneas aumentan continuamente como resultado del creciente y continuado empleo de estas sustancias en agricultura y otros campos de actividad. En particular, la aplicación de herbicidas a suelos de olivar supone una gran preocupación en la actualidad por el impacto que dichos herbicidas pueden tener debido a su alta movilidad en diferentes compartimentos como son el suelo y las aguas superficiales y subterráneas, algunas de las cuales son utilizadas para uso doméstico y otras para riego del propio olivar y de otros cultivos (Celis *et al.*, 2007).

Una de las causas que más contribuyen a acentuar el impacto producido por los herbicidas aplicados a suelos de olivar está relacionada con el hecho de que la mayoría de las formulaciones de herbicidas que se usan actualmente contienen la materia activa en una forma libre o inmediatamente disponible y que, por lo tanto, también es susceptible de transportarse rápidamente hacia puntos alejados del lugar de aplicación por procesos de lixiviación y escorrentía (Johnson & Pepperman, 1998; Celis *et al.*, 2002). En este sentido, se ha propuesto que la aplica-

ción del herbicida en un soporte adecuado, que lo libere gradualmente a lo largo del tiempo, puede atenuar los efectos adversos de contaminación de áreas alejadas del lugar de aplicación, que afectan a los plaguicidas utilizados en escenarios de alto riesgo, como es el caso de los suelos de olivar (Gerstl *et al.*, 1998; Lagaly, 2001; Cornejo *et al.*, 2004).

En este trabajo se han desarrollado formulaciones de liberación lenta de tres herbicidas (diurón, terbutilazina y MCPA) muy utilizados en el cultivo del olivar, mediante su soporte en una montmorillonita previamente modificada con el catión orgánico hexadeciltrimetilamonio (HDTMA). La modificación de la montmorillonita se llevó a cabo con el propósito de aumentar su afinidad por los herbicidas (Prost & Yaron, 2001; Cornejo *et al.*, 2008). La organoarcilla resultante tras la modificación de la montmorillonita con HDTMA se trató con los herbicidas para obtener complejos organoarcilla-herbicida y, posteriormente, se comparó el comportamiento de estos complejos con el de formulaciones comerciales convencionales de diurón, terbutilazina y MCPA a través de ensayos de liberación en medio acuoso y de lixiviación y eficacia biológica en un suelo representativo de olivar mediterráneo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Herbicidas y suelo

Las estructuras químicas de los herbicidas diurón [3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea], terbutilazina [N^2 -*tert*-butil-6-cloro- N^4 -etil-1,3,5-triazina-2,4-diamina] y MCPA (ácido 4-cloro-2-metil-fenoxiacético) se muestran en la Figura 1. Los herbicidas utilizados en los experimentos de adsorción-desorción y para la preparación de las formulaciones con organoarcilla fueron los

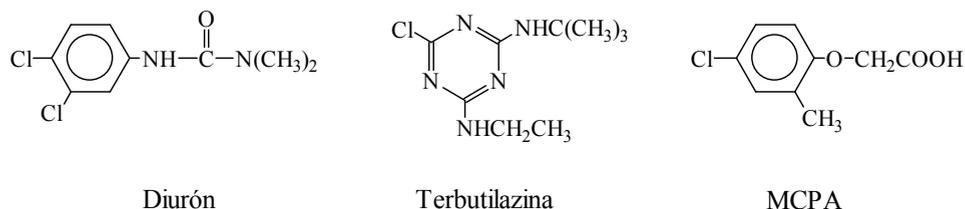


Figura 1 - Estructuras químicas de los herbicidas.

productos de alta pureza suministrados por Sigma (España). Las formulaciones comerciales de herbicida utilizadas como referencia en los ensayos de liberación en agua, lixiviación y eficacia biológica fueron: DIURÓN 80 WDG (80% diurón en forma de gránulo dispersable en agua proporcionado por la casa comercial Massó), CUÑA (terbutilazina 500 g l⁻¹ en forma de suspensión concentrada suministrada por Spicam Inagra S.A.) y AYAX (sal amina de MCPA 600 g l⁻¹ en forma de concentrado soluble suministrada por Tratamientos Guadalquivir S.L.).

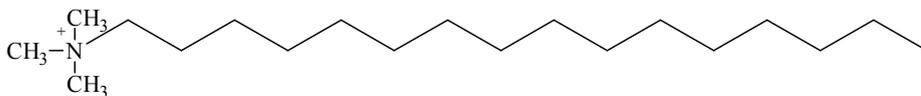
El suelo utilizado en los experimentos fue un suelo de textura franco arcillo arenosa (63% arena, 16% limo, 21% arcilla) procedente de una finca experimental del IRNAS (CSIC) localizada en Coria del Río (Sevilla, España). La muestra de suelo se tomó a una profundidad de 0-20 cm, se secó al aire y se tamizó usando un tamiz de 2 mm. El suelo tenía un 2,40% de materia orgánica, un 16,9% de CaCO₃ y un pH de 8,5.

Organoarcillas y formulaciones organoarcilla-herbicida

La organoarcilla usada en este trabajo (SA-HDTMA) se seleccionó atendiendo a estudios previos que indicaron su posible validez para preparar formulaciones de liberación lenta de los herbicidas diurón, terbutilazina y MCPA (Celis *et al.*, 2007). Para la preparación de la organoarcilla, la montmorillonita SAz-1, rica en Ca²⁺, suministrada

por “The Clay Minerals Society” fue modificada con el catión hexadeciltrimetilamonio (HDTMA, Figura 2), suministrado por Sigma (España), a través de una reacción de intercambio catiónico. Para ello, la montmorillonita SAz-1 se trató con una disolución etanol:agua (50:50) que contenía la cantidad de HDTMA correspondiente al 100% de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de la montmorillonita (CIC_{SAz-1} = 120 cmol_c kg⁻¹). La suspensión se agitó durante 24 h, se centrifugó y el sólido resultante se lavó con agua destilada y después se liofilizó.

Para la preparación de los complejos de diurón y MCPA con la organoarcilla, se mezclaron 100 mg de SA-HDTMA con 160 ml de una disolución de diurón de 40 mg l⁻¹ y 400 mg de SA-HDTMA con 160 ml de una disolución de MCPA de 600 mg l⁻¹. En ambos casos, las suspensiones se agitaron durante 24 h, se filtraron a vacío y los sólidos obtenidos se dejaron secar al aire y posteriormente se molieron en un mortero de ágata. El complejo de terbutilazina con la organoarcilla se preparó mezclando 100 mg de SA-HDTMA con 200 ml de una disolución de terbutilazina de 5 mg l⁻¹, agitando durante 24 h, centrifugando a 10.000 r.p.m. durante 10 minutos y reemplazando 180 ml del líquido sobrenadante por otros 180 ml de la disolución de terbutilazina de 5 mg l⁻¹. Este proceso se repitió tres veces consecutivas. A continuación, se filtró a vacío y el sólido resultante se dejó secar al aire y se molió en un mortero de ágata. Estudios preliminares demostraron que con estos



Hexadeciltrimetilamonio (HDTMA)

Figura 2 - Estructura química del catión orgánico HDTMA.

procedimientos de síntesis se conseguía saturar la organoarcilla con los herbicidas. El contenido final de herbicida en los complejos con organoarcilla se calculó mediante extracción de 5 mg de formulación con 10 ml de metanol, en el caso de diurón y terbutilazina, o mezcla metanol:ácido fosfórico diluido pH 2 (60:40), en el caso de MCPA. Dicho contenido final fue del 2,8% para diurón, 0,6% para terbutilazina y 15,3% para MCPA.

Experimentos de adsorción

Las isotermas de adsorción de diurón, terbutilazina y MCPA a la organoarcilla SA-HDTMA se obtuvieron equilibrando 20 mg de organoarcilla con 8 ml de disoluciones iniciales de los herbicidas a diferentes concentraciones ($C_{ini} = 0.1, 0.2, 1$ y 2 mg l^{-1}), por agitación mecánica a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h. Tras equilibrar, las suspensiones se centrifugaron y se retiraron 4 ml de las disoluciones sobrenadantes para su análisis. La concentración de herbicida en las disoluciones sobrenadantes (C_e) se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La cantidad de herbicida adsorbido (C_s) se calculó por la diferencia entre las concentraciones de las disoluciones iniciales y las de equilibrio.

Cinéticas de liberación en agua

Las cinéticas de liberación en agua de los herbicidas a partir de sus complejos con organoarcilla y de las formulaciones comerciales se obtuvieron en botellas de vidrio de

500 ml de capacidad a las que se añadieron 250 ml de agua y 0,5 mg de los herbicidas, bien como complejos con la organoarcilla o bien como producto comercial. A los tiempos seleccionados (entre 0 y 168 horas), las botellas se agitaron, se dejaron reposar durante 10 minutos y se tomaron 2 ml de las disoluciones que se filtraron y analizaron por HPLC para determinar la concentración de herbicida en disolución. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Experimentos de lixiviación en columnas de suelo

Los estudios de lixiviación se llevaron a cabo en columnas de vidrio de 30 cm de longitud y 3,1 cm de diámetro interno. Los 5 cm inferiores se rellenaron con lana de vidrio y arena de mar y los 5 cm superiores con arena de mar para evitar pérdidas de suelo durante el experimento. Los otros 20 cm se rellenaron a intervalos de 5 cm con el suelo, empaquetándose a mano, y a continuación se saturaron con agua destilada y se dejaron drenar durante 24 h. El volumen de poros de las columnas después de la saturación fue 63 ± 1 ml. Una vez saturadas las columnas, se añadió el herbicida correspondiente a una dosis de 2 kg/ha en forma de producto comercial disuelto en agua o en forma de complejo con la organoarcilla SA-HDTMA. Para facilitar la aplicación de los sólidos se utilizaron 15 ml de agua. Para cada herbicida, el experimento se realizó por triplicado. Diariamente, se aplicaron 15 ml de agua destilada, se recogieron los lixivios y se determinó su concentración por

HPLC. Al finalizar el experimento de lixiviación, el suelo contenido en las columnas se dividió en 4 porciones de 5 cm que se extrajeron mediante agitación durante 24 h con 100 ml de metanol, en el caso de diurón y terbutilazina, o mezcla metanol:ácido fosfórico diluido pH 2 (60:40), en el caso de MCPA. Los extractos se filtraron y se analizaron por HPLC para determinar la cantidad de herbicida residual en las columnas.

Bioensayos

El estudio de la eficacia biológica de las formulaciones basadas en organoarcilla de los distintos herbicidas se llevó a cabo por medio de un bioensayo realizado con berro (*Lepidum sativum*), que se eligió por ser una planta sensible a estos herbicidas y con buena tasa de germinación. Para ello se usaron macetas con una superficie de 50 cm² en el fondo de las cuales se colocó lana de vidrio y arena de mar (30 g) para facilitar el drenaje y evitar pérdidas de suelo. Posteriormente, las macetas se rellenaron con el suelo (220 g/maceta), se colocaron en placas Petri y se les añadió agua hasta que la maceta quedó saturada. Tras dejar drenar 24 h, se sembraron 15 semillas de berro en cada maceta y posteriormente se aplicó cada uno de los herbicidas a una dosis de 2 kg/ha en forma de formulación comercial y en forma de complejo con la organoarcilla SA-HDTMA, preparando además macetas a las que no se les aplicó herbicida y que sirvieron de control. Las macetas se prepararon por duplicado, se colocaron en un lugar idóneo para su germinación y se regaron diariamente.

Análisis de los herbicidas

El método analítico utilizado en el análisis de los herbicidas fue la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase reversa, usando un cromatógrafo Waters 600E

acoplado a un detector de radiación ultravioleta emitida por una lámpara de deuterio (Waters 996). Las condiciones de determinación fueron: Columna Nova-Pack C18 (150 mm longitud × 3,9 mm diámetro interno) (Waters), fase móvil acetonitrilo:agua (40:60) para diurón y (50:50) para terbutilazina. Para MCPA la fase móvil está compuesta por MeOH: ácido fosfórico pH 2 (60:40). Se utilizó un flujo de fase móvil de 1 ml min⁻¹, un volumen de inyección de 25 µl y una detección a 250 nm para diurón, 220 nm para terbutilazina y 230 nm para MCPA. Para el análisis cuantitativo de los herbicidas se utilizaron curvas de calibración externa con disoluciones patrones de los herbicidas comprendidas entre 0,1 y 2 mg l⁻¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Isotermas de adsorción de los herbicidas a la organoarcilla y liberación a partir de las diferentes formulaciones

Las isotermas de adsorción de diurón, terbutilazina y MCPA a la organoarcilla SA-HDTMA reflejan que los tres herbicidas muestran una gran afinidad por la organoarcilla (Figura 3). Por el contrario, la adsorción de los herbicidas a la montmorillonita

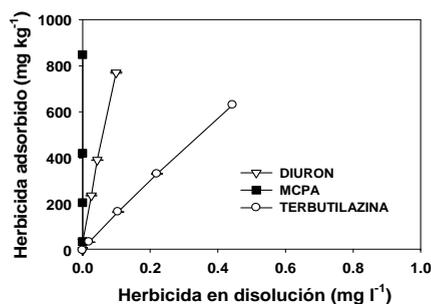


Figura 3 - Isotermas de adsorción de los herbicidas diurón, terbutilazina y MCPA a la organoarcilla SA-HDTMA.

SAZ-1 sin modificar resultó ser prácticamente nula. Esto se puede explicar por la estructura parafínica ($d_{001} > 22 \text{ \AA}$) que resulta de la disposición vertical que adoptan los cationes HDTMA en la interlámina de SAZ-1 (Jaynes & Boyd, 1991). Dicha disposición da lugar a un ambiente interlaminar marcadamente hidrofóbico con una gran afinidad por los herbicidas, tal y como ha sido observado por otros autores para diferentes compuestos orgánicos (Jaynes & Vance, 1996; Carrizosa *et al.*, 2001). Por el contrario, el carácter altamente hidrofílico de las superficies externas e internas de la montmorillonita SAZ-1 original, de elevada carga laminar, hace que su afinidad por moléculas orgánicas como los herbicidas sea muy pequeña (Celis *et al.*, 2007).

Las cinéticas de liberación en agua se obtuvieron para conocer la velocidad y la cantidad total de diurón, terbutilazina y MCPA liberado en medio acuoso y condiciones estáticas. Las cinéticas muestran que la liberación de los herbicidas se produce más lentamente a partir de sus formulaciones basadas en la organoarcilla SA-HDTMA que a partir de las correspondientes formulaciones comerciales utilizadas como referencia (Figura 4). Este comportamiento es característico de formulaciones de liberación lenta de plaguicidas (Johnson & Pepperman, 1998). La mayor parte del herbicida se libera dentro de las primeras 72 horas para las tres

formulaciones y la cantidad de herbicida liberado permanece después prácticamente constante a lo largo del tiempo.

Lixiviación en columnas de suelo

Las curvas de elución relativas para diurón, terbutilazina y MCPA aplicados a las columnas de suelo como formulaciones comerciales convencionales muestran picos de concentración máxima a 400, 300 y 75 ml, respectivamente (Figura 5). En los tres casos se da un retraso en la lixiviación del herbicida tras su aplicación como formulación basada en organoarcilla, así como una disminución de las concentraciones de los herbicidas en los lixiviados (Figura 5), lo que indica que el riesgo de contaminación de aguas subterráneas se reduce por el uso de las formulaciones basadas en organoarcilla (Cox *et al.*, 2000). Además, las cantidades totales lixiviadas se ven reducidas por el uso de las formulaciones basadas en organoarcilla respecto al uso de las formulaciones comerciales convencionales (Tabla 1). Como apuntan Celis *et al.* (2002), las cantidades de herbicida no recuperado (Tabla 1) pueden corresponder a herbicida adsorbido de forma irreversible al suelo o a las formulaciones y a herbicida degradado durante el experimento de lixiviación.

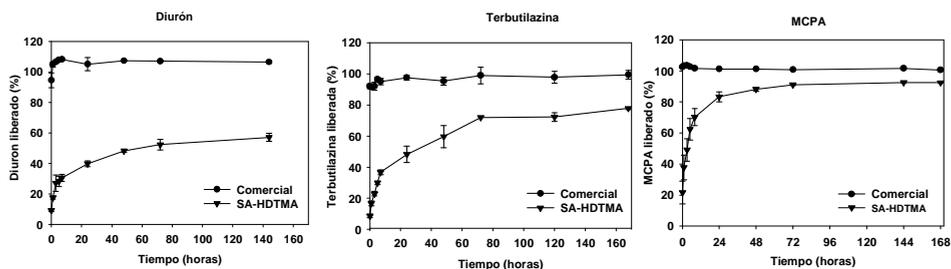


Figura 4 - Cinéticas de liberación en agua de los herbicidas a partir de formulaciones con la organoarcilla SA-HDTMA y de formulaciones comerciales convencionales.

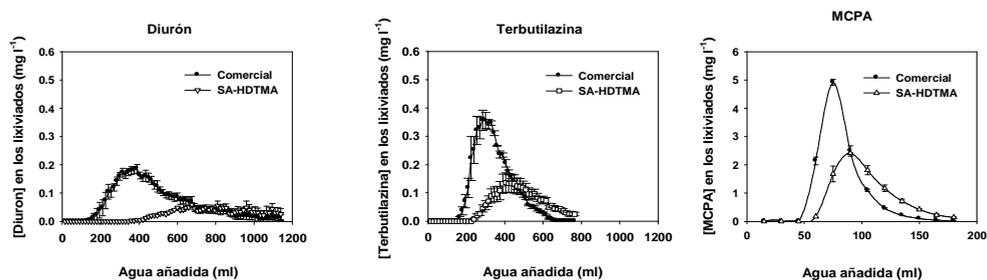


Figura 5 - Curvas de elución de los herbicidas aplicados a columnas de suelo como formulaciones comerciales y soportados en la organoarcilla SA-HDTMA.

Tabla 1 - Porcentaje de diurón, terbutilazina y MCPA lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante los experimentos de lixiviación.

	Diurón		Terbutilazina		MCPA	
	Comercial	SA-HDTMA	Comercial	SA-HDTMA	Comercial	SA-HDTMA
Lixiviado (%)	42 ± 5	15 ± 4	44 ± 2	24 ± 5	98 ± 1	79 ± 1
Extraído (%)	14 ± 5	25 ± 1	30 ± 10	23 ± 5	0	0
No recuperado (%)	44	60	26	53	2	21

Bioensayos

Las pruebas de eficacia biológica pusieron de manifiesto que los complejos organoarcilla-herbicida preparados fueron tan eficaces en el control de la planta utilizada en los bioensayos (*Lepidium sativum*) como las formulaciones comerciales correspondientes. En todos los casos se observó una mortalidad próxima al 100% de las plantas tras la aplicación de los herbicidas en pre-emergencia y a una dosis de 2 kg/ha. Estos resultados sugieren que los tres complejos preparados pueden ser aplicados a dosis similares a las recomendadas para el uso de diurón, terbutilazina y MCPA, reduciendo la lixiviación del herbicida a través del perfil de suelo y manteniendo la eficacia en el control preemergente de malas hierbas (El-Nahhal *et al.*, 1999).

CONCLUSIONES

La modificación de la montmorillonita

SAz-1 con el catión orgánico HDTMA da lugar a una organoarcilla con gran afinidad por los herbicidas diurón, terbutilazina y MCPA. Complejos preparados preadsorbiendo los herbicidas en la organoarcilla fueron ensayados en el laboratorio como formulaciones de liberación lenta de los herbicidas. La liberación en agua de los herbicidas a partir de las formulaciones de organoarcilla se produjo más lentamente que en el caso de formulaciones comerciales convencionales y también se redujo la lixiviación de los herbicidas a través de columnas de suelo. La eficacia biológica de los complejos organoarcilla-herbicida fue similar a la de las formulaciones comerciales usadas como referencia. Los resultados de este trabajo muestran que el uso de las formulaciones basadas en organoarcillas puede ser una estrategia útil para reducir las pérdidas por lixiviación asociadas a la elevada movilidad de herbicidas tales como diurón, terbutilazina y MCPA, en escenarios de alto riesgo como el cultivo del olivo en el Mediterráneo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio Español de Ciencia e Innovación (MICINN) a través de los proyectos AGL2005-05063-C02-01 y AGL2008-04031-C02-01, y por la Junta de Andalucía, a través del proyecto P07-AGR-03077. Carmen Trigo agradece al MICINN la concesión de una beca de Formación de Personal Investigador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrizosa, M.J., Koskinen, W.C., Hermosín, M.C. & Cornejo, J. 2001. Dicamba adsorption-desorption on organoclays. *Applied Clay Science*, 18: 223-231.
- Celis, R., Hermosín, M.C., Carrizosa, M.J. & Cornejo, J. 2002. Inorganic and organic clays as carriers for slow release of the herbicide hexazinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2324-2330.
- Celis, R., Trigo, C., Facenda, G., Hermosín, M.C. & Cornejo, J. 2007. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6650-6658.
- Cornejo, J., Celis, R., Cox, L. & Hermosín, M.C. 2004. Pesticide-clay interactions and formulations. In F. Wypych & K.G. Satyanarayana (eds) *Clay Surfaces: Fundamentals and Applications*, Vol. 1, pp. 247-266. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands.
- Cornejo, J., Celis, R., Pavlovic, I. & Ulibarri, M.A. 2008. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Minerals*, 43: 155-175.
- Cox, L., Celis, R., Hermosín, M.C. & Cornejo, J. 2000. Natural soil colloids to retard simazine and 2,4-D leaching in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 93-99.
- El-Nahhal, Y., Nir, S., Polubesova, T., Margulies, L. & Rubin, B. 1999. Movement of metolachlor in soil: effect of new organo-clay formulations. *Pesticide science*, 55: 857-864.
- Gerstl, Z., Nasser, A. & Mingelgrin, U. 1998. Controlled release of pesticides into soils from clay-polymer formulations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3797-3802.
- Jaynes, W.F. & Boyd, S.A. 1991. Clay mineral type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Soil Science Society of America Journal*, 55: 43-48.
- Jaynes, W.F. & Vance, G.F. 1996. BTEX sorption by organo-clays: cosorptive enhancement and equivalence of interlayer complexes. *Soil Science Society of America Journal*, 60: 1742-1749.
- Johnson, R.M. & Pepperman, A.B. 1998. Release of atrazine and alachlor from clay-oxamide controlled release formulations. *Pesticide Science*, 53: 233-240.
- Lagaly, G. 2001. Pesticide-clay interactions and formulations. *Applied Clay Science*, 18: 205-209.
- Prost, R. & Yaron, B. 2001. Use of modified clays for controlling soil environmental quality. *Soil Science*, 166: 880-895.