

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**DEGRADACIÓN DE UNA MEZCLA DE 9 PLAGUICIDA EN UN LECHO BIOLÓGICO
A ESCALA REAL**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

ALEJANDRO ARNOLDO CURINAO PURRAN

PROFESOR GUIA: DRA. MARIA CRISTINA DIEZ JEREZ

TEMUCO – CHILE

2013

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**DEGRADACIÓN DE UNA MEZCLA DE 9 PLAGUICIDA EN UN LECHO BIOLÓGICO
A ESCALA REAL**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

ALEJANDRO ARNOLDO CURINAO PURRAN

PROFESOR GUIA: DRA. MARIA CRISTINA DIEZ JEREZ

TEMUCO – CHILE

2013

**DEGRADACIÓN DE UNA MEZCLA DE 9 PLAGUICIDA EN UN LECHO BIOLÓGICO
A ESCALA REAL**

PROFESOR GUIA

: MARIA CRISTINA DIEZ JEREZ

QUIMICO

DOCTORA EN CIENCIAS DE ALIMENTOS

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
QUIMICAS**

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

PROFESOR CONSEJERO

: JORGE DIAZ SANCHEZ

INGENIERO AGRONOMO

DOCTOR EN AGRONOMIA

**INVESTIGADOR DEPARTAMENTO PRODUCCION
VEGETAL**

INIA CARILLANCA

CALIFICACION PROMEDIO TESIS:

AGRADECIMIENTO

Al término de esta etapa, quiero agradecer a mi familia, por su incondicional apoyo, fortaleza y cariño. Agradecer la hermandad, amistad, compañerismo y todos los momentos buenos y malos entregados por el Hogar Mallequino 2.

Agradecer a mi profesor guía Dra. María Cristina Diez, por la oportunidad de participar, conocer y aprender el trabajo de laboratorio. Al Dr. Jorge Díaz por su ayuda y conocimiento entregado. Agradecer por la realización de mi tesis al proyecto FONDEF D09R1006.

A mi compañero de laboratorio, Jorge por el apoyo y guía. Agradecer a Carolina por su ayuda, guía, consejos, amistad y gratos momentos.

INDICE

Capítulos

1. INTRODUCCIÓN	7
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	9
2.1 Plaguicidas.....	9
2.2 Clasificación de plaguicidas según Ramírez y Lacasaña 2001	10
2.3 Plaguicidas y medio ambiente	10
2.4 Dinámica de los plaguicidas en el ambiente.....	10
2.4.1 Difusión	10
2.4.2 Lixiviación.....	11
2.5 Condiciones ambientales	11
2.6 Propiedades fisicoquímicas	12
2.6.1 Volatilización	12
2.6.2 Presión de Vapor	12
2.6.3 Constante de la ley de Henry (H)	12
2.6.4 Persistencia	13
2.6.5 Vida media.....	13
2.6.6 Solubilidad en agua	14
2.6.7 Coeficiente de Adsorción de carbono orgánico (Koc)	14
2.7 Plaguicidas en Chile	15
2.8 Contaminación del suelo por plaguicidas.....	16
2.9 Contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas	17
2.10 Actividad microbiana	18

2.11 Sistema de biopurificación	20
2.12 Sistema lechos biológicos.....	20
2.13 Tipos de Lechos biológicos	21
2.13.1 Sistemas cerrados	22
2.13.2 Sistemas abiertos	22
2.14 Funcionamiento Lecho biológico	22
2.15 Componentes del lecho biológico.....	24
2.15.1 Capa de arcilla	24
2.15.2 La biomezcla.....	24
2.15.3 Cubierta vegetal.....	26
2.16 Proceso de adsorción y biodegradación.....	26
2.17 Hongos degradadores de lignina.....	27
2.17.1 Enzimas ligninolíticas de hongos	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Duración del ensayo.	28
3.2. Ubicación del ensayo.....	28
3.3. Características del Lecho Biológico.	28
3.4 Preparación de la biomezcla.....	29
3.4.1. Paja de Avena.....	30
3.4.2. Turba.....	30
3.4.3. Suelo	31
3.5 Diseño de ensayo	32
3.6 Contaminación de lecho biológico	32

3.7 Muestras	34
3.8 Métodos de la investigación	35
3.8.1 Determinación peso seco	35
3.8.2 Actividad Peroxidasa.....	36
3.8.3 Extracción de plaguicidas.....	36
3.8.4 Determinación del porcentaje de humedad y temperatura en la biomezcla	37
4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	38
4.1 Determinación de la actividad Peroxidasa.....	38
4.2 Degradación de plaguicidas.....	39
4.3 Determinación de la humedad	41
4.4 Determinación de la temperatura.....	42
4.5 Evaluación del pH en la biomezcla.	43
5. CONCLUSIONES	44
6. RESUMEN	45
7. SUMMARY	46
8. REVISION BIBLIOGRAFICA	47
9. ANEXOS	50

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la población a nivel mundial y el constante crecimiento de los países desarrollados, ha llevado a países en subdesarrollo a satisfacer la demanda de alimento, por esta razón se ha desarrollado una agricultura intensiva en espacios limitados esperando obtener rendimientos adecuados. Por lo tanto, para obtener estos resultados en la agricultura en sus diferentes áreas, se requiere de la utilización de agroquímicos, como los productos fitosanitarios o plaguicidas.

Chile, ha basado su desarrollo en el comercio internacional, causando que, empresas deban adecuarse a estándares internacionales. Estas exigencias respecto a la calidad de los productos, genero una agricultura sustentable y un cuidado del medio ambiente. Los manejos de plaguicidas en Chile son abordados en la Normas de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA). El incremento de la producción agrícola, ha aumentado el uso de plaguicidas, registrándose alzas en las ventas anuales de plaguicidas, concentrándose desde la Región de Copiapó hasta la Región de La Araucanía.

La contaminación puntual por plaguicidas se debe a derrames accidentales, lavado de equipos, filtraciones e inadecuada disposición de los residuos. Los derrames accidentales ocurren durante la carga de plaguicidas, involucrando plaguicidas concentrados que requieren un procedimiento de descontaminación. En Suecia se desarrolló una tecnología que permite disminuir su impacto contaminante en el ambiente. Este sistema denominado lecho biológico, que mediante la acción de microorganismos degradadores de lignina son capaces de degradar moléculas de plaguicidas.

El lecho biológico consiste en una excavación impermeabilizada, de dimensiones que depende de la carga de plaguicidas, del tamaño de la máquina utilizada y el volumen a tratar. El suelo es removido y reemplazado por una mezcla de suelo, residuo lignocelulósicos y turba, denominada biomezcla. Esta permite la retención y posterior degradación de plaguicidas.

El lecho biológico reduce la concentración de los plaguicidas debido al proceso de adsorción sobre los componentes orgánico y la degradación por la actividad microbiana de la biomezcla.

En la actualidad el sistema de lechos biológicos se ha implementado en varios países de Europa y están siendo probados en Centroamérica y Sudamérica. Sin embargo, esta tecnología no puede ser implementada sin los estudios de validación para las condiciones en la que se quiere establecer.

Objetivo

- Evaluar el comportamiento de un lecho biológico a escala real en la degradación de una mezcla de plaguicidas.

Objetivos específicos

- Efecto de la degradación de plaguicidas sobre la actividad biológica en la biomezcla del lecho biológico.
- Determinar la degradación de una mezcla de plaguicidas en el lecho biológico.
- Monitorear la temperatura y la humedad en la biomezcla del lecho biológico durante la degradación de plaguicidas.

Hipótesis

El sistema lecho biológico en condiciones controladas de contaminación, humedad y temperatura, permitirá la degradación de una mezcla de plaguicidas.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Plaguicidas

De acuerdo a la definición de la FAO y del *Codex Alimentarius*, se entiende por plaguicida a cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte.

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en la Resolución N° 3670 de 1999, define como plaguicida a cualquier compuesto químico, orgánico o inorgánico, o sustancia natural que se utilice para combatir malezas, enfermedades o plagas potencialmente capaces de causar perjuicios en organismos u objetos. Se entenderá cada producto formulado y las sustancias activas con las que se formulan, con aptitudes insecticidas, acaricidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, lagomorfocidas, avicidas, fungicidas, bactericidas, alguicidas, herbicidas, defoliantes, desecantes, fitoreguladores, coadyuvantes, antitranspirantes, atrayentes, feromonas, repelentes, y otros que se empleen en las actividades agrícolas y forestales.

El uso de plaguicidas genera efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente, por su elevado uso, manipulación inadecuada y consumo de alimentos con residuos de plaguicidas.

2.2 Clasificación de plaguicidas según Ramírez y Lacasaña 2001

- a) Organismo que controla: Insecticidas, fungicidas, herbicidas, nematocida, acaricidas, rodenticidas, etc.
- b) Grupo químico del principio activo: compuestos organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretroides, derivados de bupiridilo, triazinas, tiocarbamatos, derivados del ácido fenoxiacético, derivados de cumarina, derivados del cloronitrofenol, compuestos organomercuriales, entre otros.
- c) Persistencia en el medio ambiente: Persistentes, moderadamente persistentes, no persistentes.
- d) Toxicidad aguda: Basada en la toxicidad por vía oral en ratas y ratones. La dosis se registra como DL_{50} (Dosis Letal Media), requerida para matar al 50% de la población de animales de prueba, y se expresa en mg/kg del peso animal.

2.3 Plaguicidas y medio ambiente

El transporte ambiental de los plaguicidas, involucra el movimiento de gases, líquidos y partículas sólidas en un medio determinado, evento que ocurre a través de agua, sedimentos, suelo, plantas y animales.

2.4 Dinámica de los plaguicidas en el ambiente

2.4.1 Difusión

Es el movimiento del plaguicida por un gradiente de concentración, en el suelo se mide por la interacción conjunta de parámetros como la porosidad, procesos de adsorción, naturaleza del compuesto, entre otras. (INECC, 2012)

2.4.2 Lixiviación

Parámetro usado en la evaluación del movimiento de una sustancia en el suelo. Está relacionado con la dinámica del suelo y propiedades del plaguicida. Los compuestos aplicados al suelo, se desplazan con el agua y se lixivian a través del perfil, alcanzando capas profundas y napas subterráneas, causando contaminación. (INECC, 2012)

2.5 Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales que influyen en el movimiento de los plaguicidas son; el clima (lluvias, temperatura, humedad) y el suelo.

Las condiciones que facilitan el desarrollo de las actividades de los microorganismos, son temperatura moderada entre 20° y 30°C, esto favorece una degradación rápida. Sin embargo, después de la aplicación de un plaguicida, en conjunto con lluvias inesperadas, aumenta la probabilidad de contaminación de cursos de agua.

En el suelo, la actividad microbiológica, las partículas finas, como arcillas y materias orgánicas, interactúan con los plaguicidas y reducen su movilidad. En suelos con un contenido menor a 1% de materia orgánica, con textura gruesa, como los arenosos, presentan una escasa capacidad para retener los plaguicidas y aumenta el riesgo de contaminar corrientes de agua.

Suelos con alto contenidos de materias orgánicas, como turbaos, con un porcentaje entre 10 y 20%, poseen una alta capacidad de retención de plaguicidas y reduce el riesgo de contaminación del agua. (Tapia *et al*, 2007)

2.6 Propiedades fisicoquímicas

2.6.1 Volatilización

La volatilización representa la tendencia del plaguicida a la fase gaseosa. Todas las sustancias orgánicas son volátiles, depende de su presión de vapor, estado físico en que se encuentra y la temperatura ambiente. Se mide a partir de la constante de Henry, que depende de la presión de vapor en estado líquido y de la solubilidad en agua. (INECC, 2012)

2.6.2 Presión de Vapor

Medida de volatilidad de un plaguicida concentrado, y es un determinante importante en la velocidad de volatilización al aire desde el suelo o aguas superficiales contaminadas. La presión de vapor depende de la temperatura, ya que si aumenta la temperatura se incrementa la presión y viceversa. Los plaguicidas con presión de vapor menor a $1,0 \times 10^{-8}$ mm Hg, tienen bajo potencial para volatilizarse, y con presión de vapor mayor a $1,0 \times 10^{-3}$ mm Hg, posee un alto potencial para volatilizarse. (INECC, 2012)

2.6.3 Constante de la ley de Henry (H)

Tendencia de un plaguicida a volatilizarse del agua o suelo húmedo. Se calcula con la presión de vapor, solubilidad en agua y peso molecular de un plaguicida. Cuando el plaguicida tiene una alta solubilidad en agua con relación a su presión de vapor, el plaguicida se disolverá en agua.

Valor alto de la Ley Henry, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo, valor bajo predice un mayor potencial de lixiviado del plaguicida. (INECC, 2012)

Los rangos de la Ley de Henry están relacionado con la volatilidad del plaguicida; No volátil menor a 3×10^{-7} ; baja volatilidad 3×10^{-7} a 1×10^{-5} , el plaguicida puede disolverse en agua entre estos rangos. Volatilidad moderada 1×10^{-5} a 1×10^{-3} ; alta volatilidad mayor a 1×10^{-3} , el plaguicida en estos rangos se puede evaporar.

2.6.4 Persistencia

Capacidad de cualquier plaguicida para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio que es transportado o distribuido, durante un periodo limitado después de ser aplicado. A mayor persistencia del plaguicida en el ambiente, alta posibilidad de contaminación.(INECC, 2012)

2.6.5 Vida media

La vida media, es el tiempo requerido para que la mitad de plaguicida presente después de ser aplicado se degrade. La descomposición depende de la temperatura, el pH del suelo, los microorganismos en el suelo, clima, exposición del plaguicida a la luz, agua y oxígeno (INECC, 2012). Este parámetro se puede determinar o medir en:

a) Vida media en suelo

Tiempo requerido para que la mitad un plaguicida (ingrediente activo) se degrade en el suelo. La vida media se determina por el tipo de microorganismo (hongos, bacterias, *actinomicetos*) presente en el suelo, el tipo de suelo, pH y temperatura. Según el Departamento de Regulación de Plaguicida en California, E.U., determinó que una vida media mayor a 9 días en un suelo, tiene potencial para contaminar aguas subterráneas. (INECC, 2012).

b) Vida media por Fotólisis

Tiempo requerido para que la mitad de un plaguicida expuesto a la luz del sol se degrade. (INECC, 2012).

c) Vida media por Hidrólisis

Tiempo requerido para que la mitad de un plaguicida aplicado se degrade por acción del agua. El Departamento de Regulación de Plaguicida en California, E.U., determinó que un plaguicida con una hidrólisis mayor a 14 días, tiene potencial para contaminar aguas subterráneas. (INECC, 2012).

2.6.6 Solubilidad en agua

La solubilidad en agua de un plaguicida determina la máxima concentración de una plaguicida a disolverse en un litro de agua, va en un rango de 1 a 100.000 mg/L.

Los solubles en aguas se adsorben con baja afinidad al suelo, por lo cual son transportados del lugar de aplicación, por efecto de lluvia, riego o escurrimiento. Aquellos con baja solubilidad el plaguicida se adsorbe y acumula dificultando su degradación.

El Departamento de Regulación de plaguicida en California, E.U., determino que con una solubilidad mayor a 3 mg/L, posee el potencial de contaminar aguas subterráneas. (INECC, 2012)

2.6.7 Coeficiente de Adsorción de carbono orgánico (Koc)

Se denomina también como Coeficiente de adsorción suelo/agua o el Coeficiente de adsorción. Mide la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido y retenido por suelos o sedimentos.

El Koc es específico para cada plaguicida e independiente de las propiedades del suelo. Los valores van de 1 a 10.000.000 ml/ g de C orgánico.

El Koc elevado indica que el plaguicida orgánico se fija con firmeza a la materia orgánica, con una baja cantidad de plaguicida que se desplaza hacia aguas superficiales. (INECC, 2012)

2.7 Plaguicidas en Chile

En Chile, según el informe de ventas realizado por el SAG (2008), los plaguicidas más vendidos son: Fungicidas, bactericidas; Insecticidas, rodenticidas, acaricidas; herbicidas; Misceláneos. El total de plaguicidas con 54.980.121,69 kg o l. (Tabla 1)

Tabla 1. Plaguicidas vendidos en Chile (SAG, 2008)

Tipo plaguicidas	Total (kg/ l)
Insecticidas, Rodenticidas, Acaricidas	10.736.840,99
Fungicidas, Bactericidas	30.889.679,01
Herbicidas	7.623.451,97
Misceláneos	5.730.149,72
Total general	54.980.121,69

Por regiones, las ventas se concentran desde la Región de Atacama hasta la Región de Los Lagos, centralizándose en la región del Libertador Bernardo O'Higgins y Metropolitana. (Figura 1)

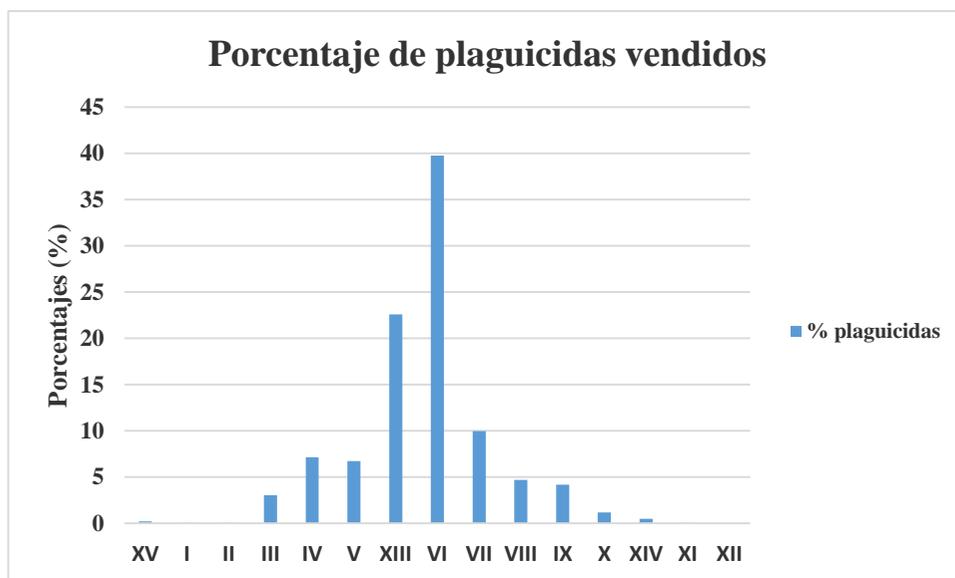


Figura 1. Plaguicidas vendidos por región – (SAG, 2008)

2.8 Contaminación del suelo por plaguicidas

El destino ambiental de los plaguicidas en el medio ambiente es influenciado por diversos procesos que determinan su persistencia y movilidad (transporte, transferencia biótica y abiótica). La interacción de los plaguicidas con, el suelo, aguas superficiales y agua subterráneas es compleja y está controlado por diversos procesos físicos, biológicos y químicos que ocurren simultáneamente.

El transporte de plaguicidas en el suelo ocurre principalmente por percolación y lixiviación (Figura 2). La concentración de plaguicidas en la solución del suelo, está controlada por procesos de adsorción/desorción, estando íntimamente ligados a las características físicas y químicas de éstos, al tipo de suelo, a la temperatura, pH e intensidad de precipitaciones (Doménech, 1998; Morell y Candela 1998; Kogan y Pérez, 2003).

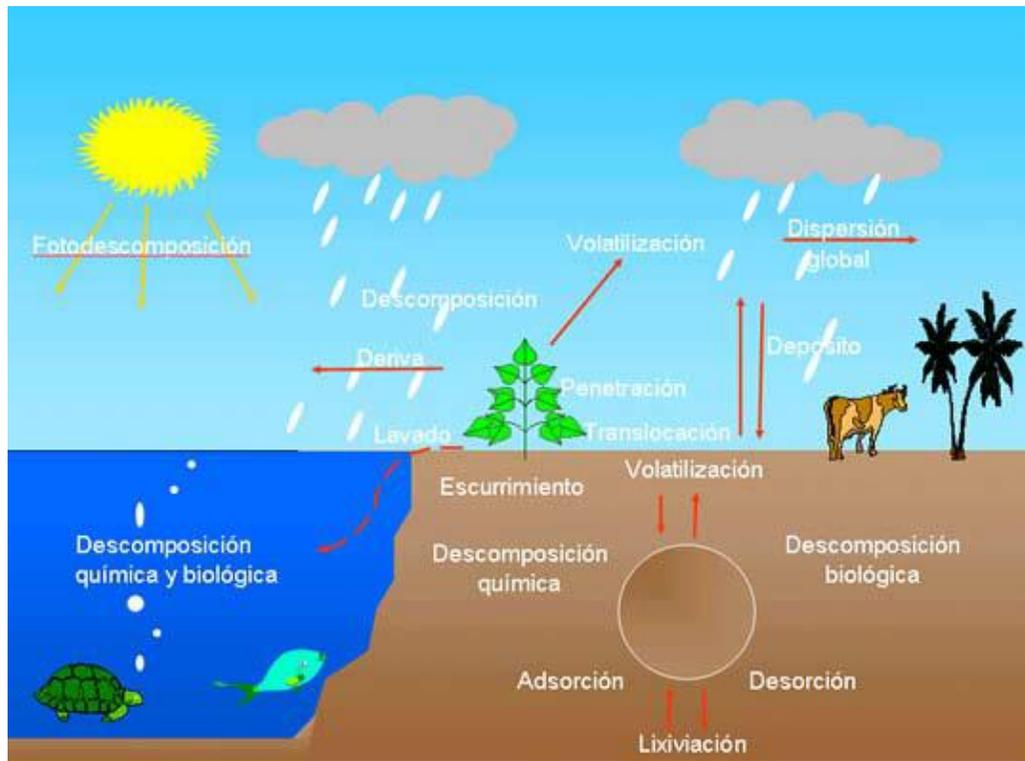


Figura 2. Movimiento y destino de los plaguicidas en el medio ambiente (Fuente: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México, 2012).

La presencia de plaguicidas en aguas subterráneas y acuíferos representa una situación frecuente, especialmente en sectores que han tenido o tienen un elevado uso de plaguicidas (Pasquarell y Boyer, 1996). Por lo tanto, el incremento en el suelo de los plaguicidas en un sector, aumenta su potencial de contaminación de aguas superficiales, sedimentos y aguas subterránea.

2.9 Contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas

Los plaguicidas pueden ingresar a los cuerpos de aguas superficiales o subterráneas vía contaminación difusa o puntual, las cuales muchas veces no están claramente diferenciadas (Jaeken y Debaer, 2005).

La contaminación difusa resulta durante la aplicación de plaguicidas en el campo, se destaca las pérdidas por escorrentías, sistemas de drenaje y deriva. Mientras que, la contaminación puntual proviene de áreas restringidas como es el área de preparación de plaguicidas previo a su aplicación.(Jaeken y Debaer, 2005).

En la contaminación puntual se incluye el llenado, la limpieza y el manejo de residuos líquidos. Los residuos provienen de volúmenes que permanecen en el equipo cuando no se realiza la limpieza en el campo, las fuentes de contaminación puntual representan entre el 40 y el 90 % en la entrada de productos fitosanitarios a fuentes hídricas. (TOPP-life, 2011)

La presencia de plaguicidas en un sistema acuático presenta un riesgo potencial no sólo para la población, sino también para la vida animal y la inocuidad alimentaria. Muchos plaguicidas pueden ser lixiviados hacia las aguas subterráneas en niveles mayores de partes por billón (ppb). (Biziuk *et al.*, 1996).

Según la Unión Europea, los límites máximos permisibles en el agua son del orden de 0,1 ug/L para un plaguicida individual y 0,5 ug/L para la suma total de los plaguicidas, incluyendo sus productos de degradación (Bushway, *et al.*, 1988). Sin embargo, valores sobre los límites permitidos han sido detectados en cursos de aguas superficiales y subterráneos en todo el mundo. (Diez, 2010)

En Chile, la intensidad de uso de plaguicidas, ha experimentado un incremento en las últimas décadas, alcanzando un valor de 4,2 kg ia/h, según OEDC, el cual duplica la intensidad de usos de otros miembros .En el sector frutícola, la utilización de plaguicida es alta y fluctúa entre 20 a 30 kg i.a/ha según la especie y área geográfica.

2.10 Actividad microbiana

El suelo está formado por cinco componentes principales: materia mineral, agua, aire, materia orgánica y seres vivos. El aire y el agua representan la mitad del volumen del suelo.

El agua es retenida por interacciones con otros componentes del suelo y siendo una fracción de esta, la que se aprovecha por los organismos vivos (Carrillo, 2003)

Los microorganismos no están distribuidos regularmente en el suelo, existe un mosaico discontinuo de microambiente, favorables para el desarrollo microbiano se caracteriza por su limitada extensión de tiempo y en el espacio. (Carrillo, 2003) (Tabla 2)

Tabla 2. Distribución de los microorganismos en un suelo expresado como miles por gramos. (Carrillo, 2003)

Profundidad (cm)	Bacterias aerobias	Bacterias anaerobias	Actinomicetos	Hongos	Algas
3-8	7.800	1.950	2.080	119	25
20-25	1.800	379	245	50	5
35-40	472	98	49	14	0,5
65-75	10	1	5	6	0,1
135-145	1	0,4	-	3	-

La dispersión de los microorganismos es alterada por varios factores: la composición de la atmosfera del suelo, el pH, la humedad, la cantidad de minerales asimilables, la presencia de sustancias antimicrobianas.

2.11 Sistema de biopurificación

Un sistema de biopurificación, es para tratar agua contaminada con productos fitosanitarios, utilizando microorganismos adaptados y mezclados con un sustrato biológico que permita la degradación y rotura de moléculas activas de los productos.(TOPP-life, 2011)

Se construye para manejar las aplicaciones de plaguicidas durante el proceso de llenado y limpieza de los equipos de aplicación después de ser utilizados en el campo con plaguicidas.(TOPP-life, 2011)

2.12 Sistema lechos biológicos

A partir del año 1997, en varios países Europeos así como algunos países de América Latina se ha sido implementado gradualmente un sistema biológico conocido como “biobeds” o “lechos biológicos” los cuales fueron diseñados para evitar y reducir la contaminación por plaguicidas producto de la contaminación puntual. El sistema de lechos biológicos se originó en Suecia, es una construcción simple y económica destinada a recoger y degradar los derrames de plaguicidas (Torstensson *et al.*, 1997 & 2000).

El sistema lecho biológico se construye realizando un pozo de 60 cm de profundidad en el suelo; Se coloca una capa de arcilla o gravilla en la parte inferior (10 cm), una biomezcla de 50 % de paja, 25 % de turba y 25 % de suelo se rellena 50 cm de profundidad, una capa de césped que cubra la superficie (Figura3). El lecho biológico se equipa con una rampa para permitir que el pulverizador se estacione sobre ella. (Castillo *et al.*, 2008)

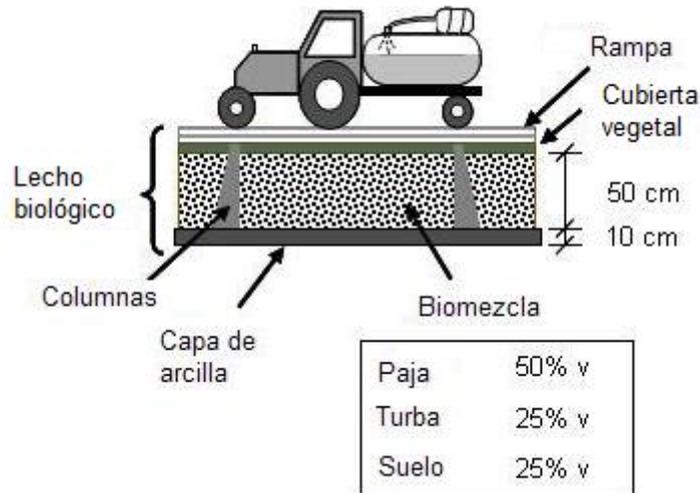


Figura 3. Diagrama de un lecho biológico. (Castillo *et al*, 2008)

El propósito de los lechos biológicos, es que el manejo de los plaguicidas durante el llenado del equipo de aspersión sea realizado sobre el sistema de manera que si ocurren derrames accidentales, estos puedan ser retenidos y degradados en el lecho biológico.

El funcionamiento de los lechos biológicos se basa en la capacidad de adsorción y degradación de los plaguicidas en la biomezcla. (Torstensson y Castillo, 1997)

2.13 Tipos de Lechos biológicos

En función del aislamiento del medio ambiente de la parte inferior del lecho biológico, hay dos tipos de lechos biológicos; Lechos biológicos de sistema cerrado y sistema abierto.

2.13.1 Sistemas cerrados

Los lechos biológicos cerrados corresponden a un sistema revestido por una capa impermeable (plástico, hormigón) lo que mantiene el aislamiento del suelo. Este diseño permite recoger el agua de drenaje en pozos instalados al lado del lecho biológico. (Castillo *et al.*, 2008).

En zonas de lluvias es recomendable cubrir el lecho para prevenir la saturación del lecho.(TOPP-life, 2011).

2.13.2 Sistemas abiertos

El lecho biológico de sistema abierto, no tienen ninguna capa impermeable que lo aísla del suelo. El diseño original del lecho desarrollado en Suecia pertenece a este grupo. No existe pozo recolector de lixiviado en este sistema. (Castillo *et al.*, 2008).

2.14 Funcionamiento Lecho biológico

Los factores que influyen en el adecuado funcionamiento del lecho biológico son; el calendario de aplicaciones, el tipo de cultivos y el tipo de plaguicidas. Además, es importante conocer la cantidad total de agua contaminada generada por el lavado externo del equipo pulverizador, y no saturar el lecho biológico.

Un lecho biológico se usa para tratar cantidades de volúmenes de líquidos del enjuague externo de los equipos (asperjadores y pulverizadores). También, se han implementados lechos pequeños para bombas de espalda y pulverizadores manuales.

Los pulverizadores hidráulicos presentan mayor contaminación en el interior que los pulverizadores hidroneumático (atomizador para frutales) que su contaminación es mayor en el exterior del equipo. Además, el residuo de plaguicida depende de la longitud de barra, capacidad y diseño del equipo. (TOPP-life, 2011).(Tablas 3, 4).

En Europa, existen normas (EN 12761) que regulan la cantidad de residuo que deberá ser tratado, según las características del equipo. Esta información se obtiene del fabricante del equipo, de acuerdo a esto, se pueden realizar cálculos de los volúmenes a gestionar (TOPP-life, 2011).

Tabla 3. Volumen contaminado en pulverizadores hidráulicos (EN 12761-2) de acuerdo a su capacidad en litro (TOPPS-life).

Depósito		Barras		
Capacidad equipo (l)	0,5% residuo	Ancho m	2 litros/metros	Litros totales contaminados
800	4	15	30	34
3.000	15	21	42	57
4.200	21	36	72	93

Tabla 4. Volumen contaminado de atomizadores de acuerdo a su capacidad (TOPPS-life)

Volumen residual total en litros (EN12761-3)		
Capacidad equipo (l)	% residuo	Litros totales contaminados
400	4	16
800	3	24
1.000	2	30

2.15 Componentes del lecho biológico

La eficiencia de retención y degradación de los plaguicidas depende de cada uno de los componentes del lecho biológico: la capa de arcilla, la biomezcla compuesta por un 50 % de paja, 25 % turba y un 25 % de suelo y la cubierta vegetal (Castillo *et al.*, 2008).

2.15.1 Capa de arcilla

La arcilla con su baja permeabilidad y alta capacidad de sorción, se utiliza como una capa impermeable para disminuir el flujo de agua hacia abajo y aumentar el tiempo de retención de los plaguicidas en el lecho (Castillo *et al.*, 2008).

2.15.2 La biomezcla

La biomezcla debe tener la capacidad para retener y degradar plaguicidas. Para lograr esto, debe poseer una buena capacidad de adsorción y una alta actividad microbiana. Ambas capacidades se afectan por la composición, la homogeneidad, la edad, la humedad y la temperatura de la biomezcla (Castillo *et al.*, 2008).

a) Suelo

El suelo provee de capacidad de retención de plaguicidas y aportar microorganismos degradadores de plaguicidas contribuyendo a la capacidad de sorción en el lecho biológico debido al contenido de materia orgánica y de arcilla.

Además, promueve la actividad microbiana y proporcionan bacterias degradadoras de plaguicidas y actinomicetos, los cuales actúan sinérgicamente con los hongos desarrollados sobre el material lignocelulósico (Torstensson y Castillo, 1997; Castillo, 2001).

El suelo, fuente importante de microorganismos de degradadores de plaguicidas, especialmente las bacterias con la capacidad de degradar metabólicamente estos productos. Mientras que, una alta relación de C / N y el pH bajo en la biomezcla favorece la degradación de la lignina por parte de los hongos (Castillo y Torstensson, 2007).

b) Paja

La paja es el principal sustrato de degradación de los plaguicidas y la actividad microbiana, a partir de la degradación de la lignina por hongos de pudrición blanca, que producen fenoloxidasas (peroxidasas y lacasas). La amplia especificidad de estas enzimas hace que sean adecuadas para la degradación de mezclas de pesticidas. Se recomienda una alta cantidad de paja en la biomezcla, pero en la práctica no debe superar más de 50 % volumen para lograr una mezcla homogénea. (Castillo y Torstensson 2007).

Dependiendo de la disponibilidad de sustratos en cada región, muchas veces la paja es reemplazada por otro tipo de sustratos como cascaras de cítricos, compost, residuos de viñas entre otros. Sin embargo, materiales con muy poco contenido de lignina pueden no soportar el crecimiento de hongos ligninolíticos y por lo tanto sustentar la suficiente actividad microbiológica que permita la degradación de los plaguicidas (Castillo *et al.*, 2008).

c) Turba

La turba en la biomezcla contribuye a la capacidad de sorción y control humedad. Un alto contenido de turba disminuye el pH de la biomezcla, lo cual es favorable para la actividad de hongos de pudrición blanca. La turba en niveles de 50% de volumen o más la actividad microbiana disminuye. Por lo cual, se recomienda un nivel de turba de 25% de volumen, otorgando un pH final aproximada de 5,9, adecuado para la degradación de la lignina (Castillo y Torstensson, 2007).

2.15.3 Cubierta vegetal

La cubierta vegetal contribuye a incrementar la eficiencia del lecho biológico, en la parte superior, donde la mayoría de los plaguicidas son retenidos y degradados. También ayuda a regular la humedad del lecho biológico mediante la creación de un transporte hacia arriba de agua.

La cubierta vegetal es una herramienta de demostración, ya que marca los derrames de herbicidas. Los daños en la cubierta, se observa donde los plaguicidas se concentran, debajo del tanque pulverizador con agua de escorrentía, debajo de las ruedas, los tubos y boquillas rotas. (Castillo *et al.*, 2008).

2.16 Proceso de adsorción y biodegradación

El control y optimización del proceso de biodegradación intervienen varios factores. Entre estos se encuentran la población microbiana capaz de degradar moléculas activas. Factores ambientales como el tipo de suelo, la temperatura, el pH, la presencia de oxígeno, la disponibilidad de nutriente influyen en la eficiencia de degradación. (TOPPS-life, 2011)

2.17 Hongos degradadores de lignina

La capacidad de catalizar la degradación de la celulosa y hemicelulosa, es una característica de diversos hongos y otros microorganismos. Sin embargo, la lignina al ser un heteropolímero recalcitrante, es mineralizada de manera limitada por algunas bacterias y por un grupo de hongos. Estos hongos son ligninolíticos, denominados de pudrición blanca, la mayoría de estos hongos pertenecen al grupo *Basidiomycetes*, con eficiencia en la degradación de la lignina (Dávila y Vázquez, 2006).

Los hongos ligninolíticos han desarrollado un sistema enzimático y no específico que se emplea en el ambiente extracelular. Este sistema degradador está basado en la producción de radicales libres, permitiendo a estas enzimas catalizar activamente una gran diversidad de sustratos orgánicos tóxicos a metabolitos no tóxicos y/o CO₂ (Dávila y Vázquez, 2006).

Una serie de contaminantes recalcitrantes, entre ellos plaguicidas clorados y organofosforado son mineralizados a CO₂ por estos hongos ligninolíticos, debido a la poca especificidad de las enzimas que permiten degradar mezclas complejas de contaminantes (Dávila y Vázquez, 2006).

2.17.1 Enzimas ligninolíticas de hongos

Estudios realizados en los años 70, comprobaron que la degradación de la lignina causaba la liberación de productos por la ruptura oxidativa de los anillos aromáticos. Sin embargo, en años posteriores, se descubrió que una ligninasa era capaz de oxidar y despolimerizar la lignina y otros compuestos, donde la actividad enzimática depende del peróxido de hidrogeno (H₂O₂). Además se encontró la producción de hemoperoxidasas; la manganeso Peroxidasa (MnP) que oxida el Mn²⁺ a la especie oxidante Mn³⁺ y se detectó la producción de una fenol oxidasa denominada lacasa.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Duración del ensayo.

El ensayo considera la evaluación de la degradación de 9 plaguicidas en la biomezcla del lecho biológico durante un periodo de 120 días, además de determinar la actividad biológica presente en la misma, y medir la temperatura y humedad presente en el lecho biológico.

3.2. Ubicación del ensayo.

La construcción de lecho biológico se ubica en la dependencia del Instituto de Investigación Agropecuarias (INIA) Carillanca. El lugar donde se realizó el ensayo y donde se encuentra construido el lecho biológico, está cerca de la bodega de almacenamiento de los plaguicidas, se consideraron aspectos como pluviometría y fuentes de aguas cercanas para su ubicación e instalación del lecho.

Este lecho biológico es construido en el marco del proyecto FONDEF D09R-1006.

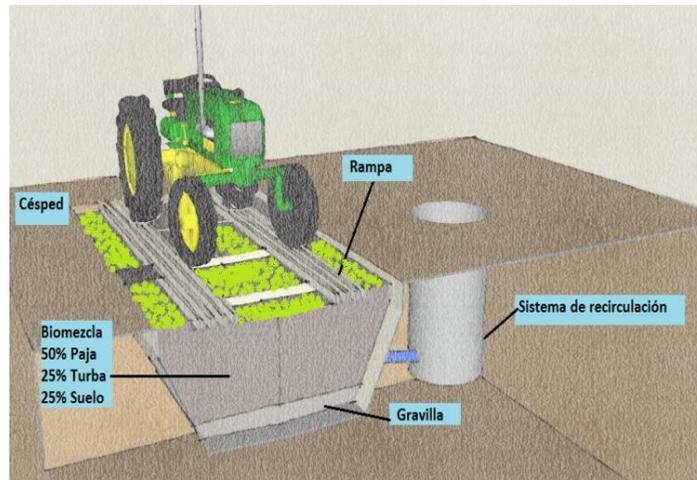
3.3. Características del Lecho Biológico.

El lecho biológico tiene una capacidad volumétrica total de 14 m³, consta de un foso impermeabilizado en hormigón cuyas dimensiones son de 6 x 3 x 1 m, este fue llenado en su parte inferior por una capa de 5 cm de arena, 25 cm de gravilla $\frac{3}{4}$ y posteriormente la biomezcla compuesta por 50% de paja, 25% de turba y 25 % de suelo correspondiente a los 60 cm. Finalmente se incorporó una capa de suelo y césped de 10 cm compuesta por una mezcla de gramíneas perennes (85 % *Festuca arundinacea* y 15% de *Lolium perenne*).

Para permitir el emplazamiento del equipo de aplicación y tractor se instaló sobre el lecho biológico un sistema metálico (rampa), cuyo diseño está relacionado a las dimensiones de los equipos.

En la parte inferior del lecho biológico se instaló un sistema de drenaje que se conecta a un pozo de 2,5 metros de profundidad y 0,6 metros de diámetro, que recibe los líquidos que percolan del lecho biológico. (Figura 4)

Se instaló un sistema de registro de humedad y temperatura, sensores a 3 profundidades en la biomezcla del lecho biológico (10, 30, 60 cm).



Figuras 4. Diseño de lecho biológico.(Proyecto Fondef D09R1006).

3.4 Preparación de la biomezcla

Los componentes se mezclaron en la proporción volumétrica de 50 % de paja, 25% de turba y 25% de suelo.

Se procedió al llenado del lecho compactando suavemente. La biomezcla se dejó estabilizar durante un periodo de 6 meses, antes de ser contaminado.

3.4.1. Paja de Avena

Se utilizaron 30 fardos obtenidos en INIA Carillanca, los componentes de la paja fueron analizados por el Laboratorio de Nutrición Animal y Medio Ambiente de INIA.

La paja fue picada utilizando una chipeadora de forma de obtener un tamaño de 5-10 cm de largo.

Tabla 5. Característica físico-química de la paja de avena (Proyecto Fondef D09R1006)

Parámetros	Contenido
Materia seca	84,8 %
Fibra detergente ácida	50,1%
Lignina	8,4%
Celulosa	38,6%
pH	6,5
Nitrógeno Kjeldahl	0,2%

3.4.2. Turba

La turba fue adquirida en la empresa Santa Gabriela, para lo cual se ocuparon un total de 15 fardos de 250 litros (45 kg) cada uno. Para conocer las características físico-químico se realizaron análisis en el Laboratorio de Diagnóstico Nutricional de Suelos y Plantas de INIA.

Tabla 6. Características físico- químicas de la turba. (Proyecto Fondef D09R1006)

Parámetro	Cantidad
Humedad	55 %
pH al agua	7,03
Conductividad eléctrica	0,33 dS/m
Materia orgánica	80,6 %
Carbono orgánico	44,8%
Nitrógeno total	0,9 %
Relación Carbono/Nitrógeno	49,96

3.4.3. Suelo

El suelo para la biomezcla se obtuvo de una pradera degradada de INIA Carillanca, se extrajo los primeros 20 cm de profundidad. El análisis químico fue realizado en el Laboratorio de Suelos de INIA Carillanca.

Tabla 7. Características físico- químicas del suelo. (Proyecto Fondef D09R1006)

Parámetro	Unidades
pH al agua	5,77
Materia orgánica	15,49 %
Nitrógeno	27 mg/kg
Fosforo	6,67 mg/kg
Potasio	*

3.5 Diseño de ensayo

Para llevar a cabo el experimento, se contaminó la sección central del lecho biológico, ocupando un área de 4,5 m² (0,9 m de ancho x 5 m de largo), esta fue dividida en 3 segmentos de 0,9 m ancho x 1 m largo. Cada segmento representa una réplica o repetición.

3.6 Contaminación de lecho biológico

El lecho biológico fue contaminado con 18 gramos de ingrediente activo de cada plaguicida (Isoproturon, Clorpirifos, Captan, Clorotalonil, Diazinon, Phosmet, Metidation, Atrazina, Azinfosmetil), los cuales fueron incorporados en mezcla utilizando un total de 100 litros de agua.(Tabla 9).

Se procedió a contaminar, usando una bomba de espalda con capacidad de 20 litros se realizaron 5 aplicaciones de 20 litros.



Figura 5–6. Contaminación del Lecho biológico (Proyecto Fondef D09R1006)

Tabla 8. Plaguicidas utilizados en el ensayo. (Proyecto Fondef D09R1006)

Producto comercial	Ingrediente activo	Tipo	Concentración (%)	g/kg o g/L	Volumen (g/kg o g/L)	Solubilidad mg/ L	Koc (ml/g C orgánico)	Fórmula química
Fuego 50 SC	Isoproturon	Herbicida	50	500	0,036	65 (22 °C)	36 – 245	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O
Pyrinex 48 EC	Clorpirifos	Insecticida	48	480	0,038	2 (25°C)	6070	C ₉ H ₁₁ C ₁₃ NO ₃ PS
Captan 80 WP	Captan	Fungicida	80	800	0,023	3,3 (25 °C)	200	C ₉ H ₈ Cl ₃ NO ₂ S
Clorotalonil 72 SC	Clorotalonil	Fungicida	72	720	0,025	0,6 (25 °C)	1380	C ₈ C ₁₄ N ₂
Diazinon 40 WP	Diazinon	Insecticida	40	400	0,045	6500 (25°C)	2	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS
Imidan 70 WP	Phosmet	Insecticida	70	700	0,026	25 (25°C)	820	C ₁₁ H ₁₂ NO ₄ PS ₂
Supracid 40 WP	Metidation	Insecticida	40	400	0,045	187 (20°C)	7 – 56	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃
Atrazina 500 SC	Atrazina	Herbicida	16,1	161	0,112	28 (20°C)	103	C ₃ H ₁₄ C ₁ N ₅
Guzation 35 WP	Azinfosmetil	Insecticida	35	350	0,051	30 (25°C)	1000	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂

3.7 Muestras

De cada sector del lecho biológico, se sacaron muestras a 3 profundidades distintas (10, 30, 60 cm), considerando además la toma de muestra de un segmento del lecho biológico sin contaminación de plaguicidas (Control).

La toma de muestras se realizó previa a la contaminación, y posteriormente a 1, 15, 30, 45, 60, 90, 120 días.

Debido a las características de la biomezcla la toma de muestra se realizó de manera manual.

La toma de muestra consistió en retirar la cubierta vegetal de aproximadamente 10 x 10 cm, que cubre el lecho biológico, posteriormente hacer un orificio en la biomezcla, donde se procedió a tomar las muestras previa medición de las diferentes profundidades. Las muestras obtenidas fueron depositadas en bolsas de polietileno y mantenidas a 4°C hasta su análisis.



Figura 7. Punto de muestreo.
(Proyecto Fondef D09R1006)



Figura 8. Profundidad de muestra.
(Proyecto Fondef D09R1006)



Figura 9. Muestras de 3 profundidades (Proyecto Fondef D09R1006)

3.8 Métodos de la investigación

3.8.1 Determinación peso seco

Posterior a la toma de muestras se procedió a determinar el peso seco de cada una, de manera de conocer la cantidad de muestra necesaria para llevar a cabo las evaluaciones

De cada sección y profundidad ya muestreada se tomó 10 gramos de peso húmedo de la biomezcla y se depositó en placa Petri previamente pesadas, esto se realizó en duplicado con un total de 24 placas, estas se llevaron a una estufa con una temperatura de 105 ° C durante 24 horas.

Transcurrido las 24 horas en la estufa, se pesaron las placas Petri con la biomezcla, luego se determinó el porcentaje de humedad mediante el diferencial de peso de biomezcla humedad con biomezcla seca. Determinado el peso seco de la biomezcla, se calcula la cantidad de la biomezcla requerida para la medición de actividad peroxidasas.

3.8.2 Actividad Peroxidasa

Estas mediciones se realizaron en duplicado, con 10 gramos de biomezcla (peso seco) y se colocó dentro de un matraz Erlenmeyer de 100 ml, se adiciona 25 ml de buffer succinato / lactato, luego se agitó a 150 r.p.m. por una hora, se toma el sobrenadante y se centrifuga a 5000 r.p.m por 10 minutos, del sobrenadante se toma una alícuota de 5 ml.

La actividad enzimática se determinó utilizando un espectrofotómetro, a partir de la reacción oxidativa de la 3-(dimetilamino) ácido benzoico (DMAB) 300 μ l, 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) 100 μ l, $MnSO_4$ 30 μ l, sobrenadante muestra 1,56 ml, en presencia de 10 μ l H_2O_2 , una solución total de 2 ml. El espectrofotómetro con una absorbancia de 590 nm y se mide por 180 segundos.(Castillo *et al.*, 1994)

3.8.3 Extracción de plaguicidas

La degradación de plaguicidas se evaluó utilizando la técnica de SPME (micro extracción en fase sólida), según lo propuesto por Jelén, 2003.

Se pesó 10 g (peso seco) de cada muestra y se depositó en matraz de 100 ml, posteriormente se le agregó 20 ml de acetona y se agitó en shaker por 30 minutos a 350 r.p.m. Luego se sónico por 30 minutos en baño ultrasonido., para posteriormente centrifugar a 10.000 r.p.m por 10 minutos a 10° C. Este procedimiento se repitió tres veces. El sobrenadante se almacenó y fue medido en una probeta para determinar el volumen final de la muestra.

Los líquidos colectados fueron filtrados y secado con sulfato de sodio anhidro.1 ml del extracto anteriormente obtenido fue purificado utilizando una columna de vidrio con 2.0 gramos de florisil .Se procedió a agregar 5 ml de acetona como eluyente. La muestra fue concentrada con burbujeo de nitrógeno a un volumen final de 1 ml. Previo a su análisis la solución fue micro filtrada (membrana 0,22 μ m EM PVDF).

La medición de la extracción de plaguicidas se realizaron el en Laboratorio de Biotecnología Ambiental de La Universidad de La Frontera, Temuco.

3.8.4 Determinación del porcentaje de humedad y temperatura en la biomezcla

El lecho biológico instalado tiene incorporado un sistema de monitoreo que permite llevar un seguimiento de los niveles de humedad y temperatura existentes en la biomezcla.

El sistema de monitoreo funciona mediante sensores de humedad 10HS el cual obtiene el contenido volumétrico del agua (Volumetric Water Content, VWC) a partir de la medición de la constante dieléctrica del suelo. A demás de contar con sensores de temperatura modelo DS18B20 con punta de Acero Inoxidable.

Los datos son almacenados mediante un registrador de datos data logger en un intervalo de 15 minutos compatible con ambos sensores.

4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS.

4.1 Determinación de la actividad Peroxidasa

En paralelo a la medición del contenido de plaguicidas, se midió la actividad biológica en el lecho a través de la actividad de las enzimas peroxidasa. La actividad de estas enzimas es relevante, ya que indican la presencia de microorganismos que degradan plaguicidas y compuestos de estructura química similares.

En la Figura 8, muestra el comportamiento de la actividad de las enzimas peroxidasa durante 120 días de funcionamiento del lecho. Autores como Vischetti, *et al*, 2008 reportan que la biomasa microbiana se ve afectada negativamente por la adición de plaguicidas, sin embargo esta es recuperada en el corto plazo. La mayor actividad se obtuvo entre los 60 y 90 días, siendo mayor en la profundidad de 60 cm, lo cual podría ser atribuible al movimiento de las enzimas en el perfil de la biomezcla y a condiciones ambientales favorables de temperatura y humedad para la actividad biológica (Anexo 1).

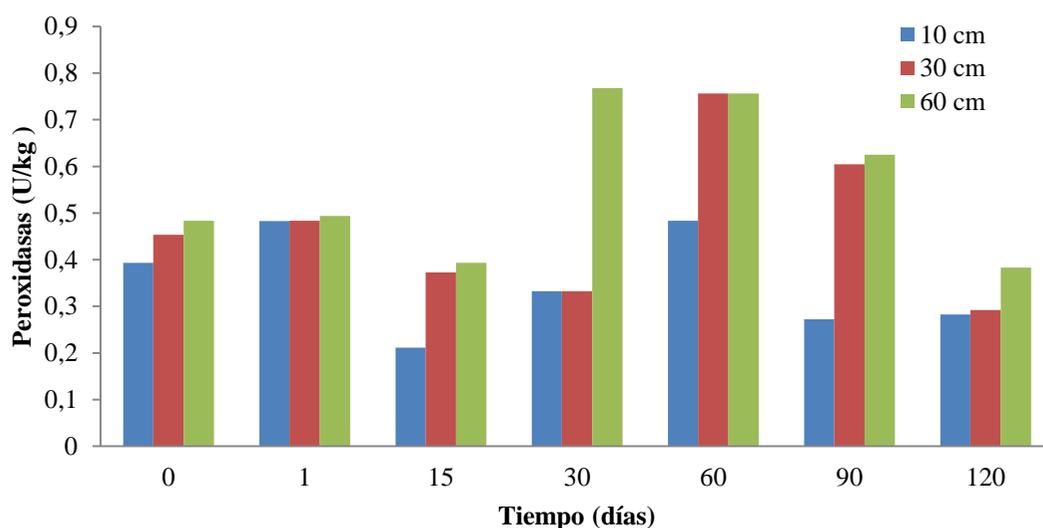


Figura 10. Efecto de la aplicación de una mezcla de plaguicidas sobre la actividad peroxidasa.

4.2 Degradación de plaguicidas

Los residuos de plaguicidas fueron determinados mediante extracción con solventes orgánicos y análisis mediante técnicas cromatográficas. Los resultados obtenidos luego de 120 días de aplicación de los plaguicidas son mostrados en la Figura 11.

Se observó que los plaguicidas Captan, Clorotalonil, Clorpirifos, Diazinon, Fosmet, Isoproturon y Metidation fueron removidos sobre un 97%. Para Atrazina y Azinfosmetil la remoción fue menor comparado a los compuestos anteriores, sin embargo, ésta fue sobre el 89% (Anexo 2).

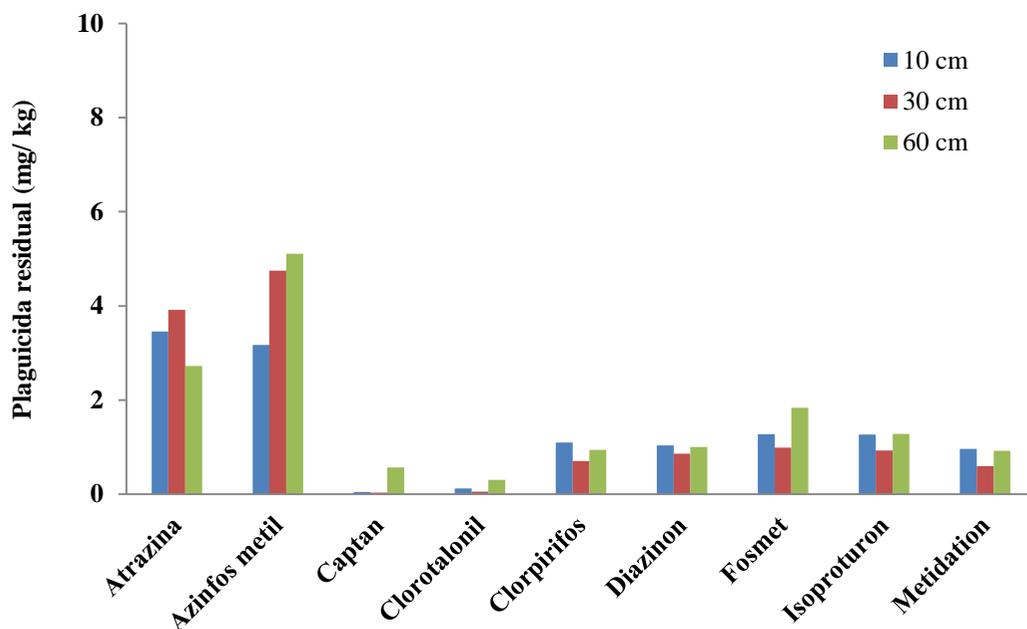


Figura 11. Remoción (%) de plaguicidas en el lecho biológico después de 120 días de aplicación.

Luego de 120 días, se adicionó agua sobre el lecho con el propósito de saturarlo y forzar la percolación de los líquidos hacia el pozo de recirculación para determinar la presencia de plaguicidas en el líquido.

Los resultados obtenidos en esta evaluación, demostraron que algunos plaguicidas fueron detectados en el pozo de recirculación en muy baja concentración (microgramos/litro) (Tabla 9). Atrazina, Diazinon e Isoproturon se encontraron en mayor concentración debido a que por sus características son plaguicidas que presentan mayor movilidad.

Tabla 9. Concentración de plaguicidas en líquidos percolados luego de la saturación del lecho.

Plaguicida	Concentración (microgramos/litro)
Atrazina	3,8
Azinfosmetil	n.d.
Captan	n.d.
Clorotalonil	0,3
Clorpirifos	0,1
Diazinon	2,4
Isoproturon	2,0
Metidation	n.d.
Fosmet	n.d.

n.d.: no detectado

4.3 Determinación de la humedad

En la Figura 12, se muestran la evolución de la humedad del lecho biológico a 3 profundidades de la biomezcla. La humedad en el lecho biológico, se mantuvo entre 25 y 35% entre los meses de febrero y agosto a las 3 profundidades evaluadas (Anexo 3). Asimismo, se observa pérdida de humedad en la capa superior debido a que en los primeros centímetros se encuentran más expuestos al medio externo, siendo mayor la pérdida de humedad en los meses más cálidos. Por lo tanto, se debe tener especial cuidado en mantener húmeda la capa superior del lecho biológico.

El balance de agua en el lecho biológico tiene un efecto importante en la retención y degradación de los plaguicidas. Condiciones de no saturación son importantes dado que los procesos de degradación de la mayor parte de los plaguicidas en el lecho biológico son aeróbicos (Castillo y Torsterson, 2007).

Por su parte Spliid, 2006, en su estudio, obtuvo que el contenido de agua en el medio del lecho biológico es 16% superior a una profundidad de 40-50 cm, que a una profundidad de 20-30 cm, lo que se relaciona con el contenido de humedad en la biomezcla durante el estudio.

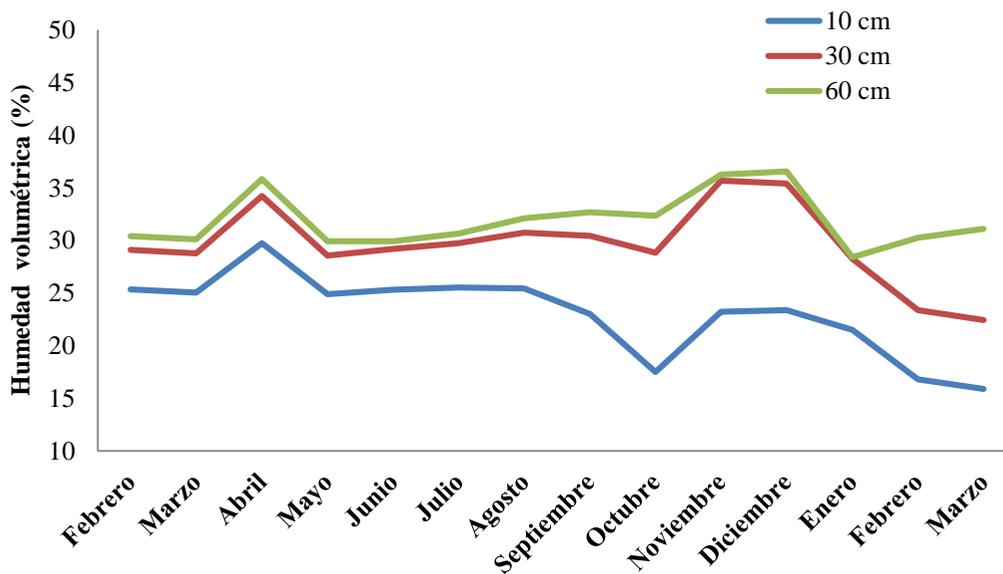


Figura 12. Humedad de la biomezcla a diferentes profundidades (10, 30 y 60 cm).

4.4. Determinación de la temperatura

En relación a la registro de la temperatura en el lecho se observó que la temperatura fluctúa entre 10 y 15°C durante los meses de febrero a junio de 2012, siendo mayor a la profundidad de 60 cm (Figura 13). A partir de agosto la temperatura aumenta hasta aproximadamente 20 °C en las tres profundidades analizadas (Anexo 3).

En el estudio de Spliid, 2006, la temperatura del lecho biológico a los 10 y 30 cm fue 1 a 4 grados más alta que la temperatura del suelo natural.

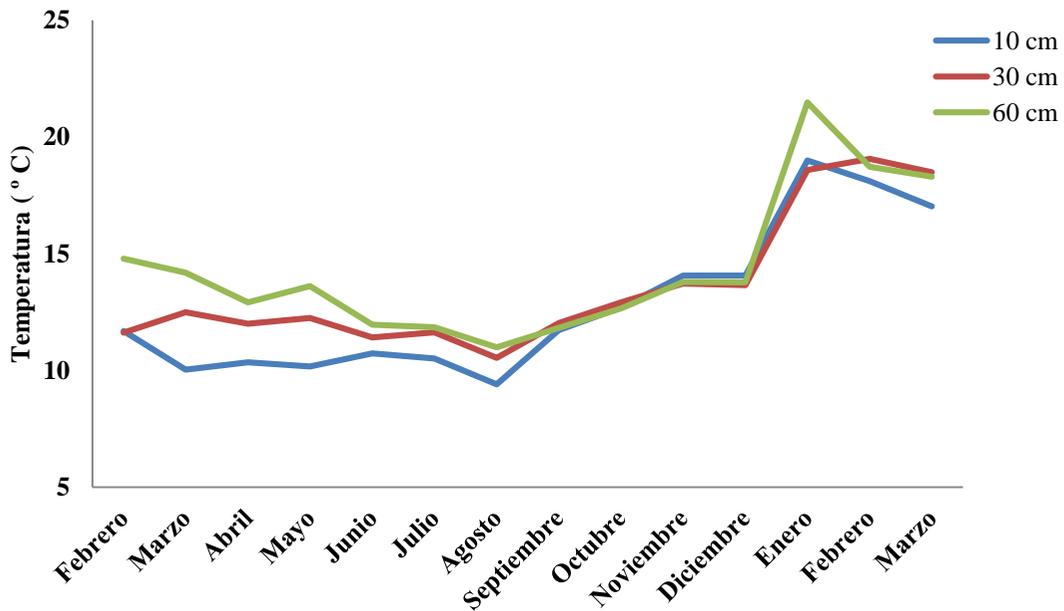


Figura 13. Temperatura de la biomezcla a diferentes profundidades (10, 30 y 60 cm).

4.5 Evaluación del pH en la biomezcla.

La Figura 14, muestra el pH en el lecho biológico con y sin plaguicida después de 120 de operación. Se observa que la adición de plaguicidas causó un leve incremento en el valor de pH comparado con el control sin plaguicida. Sin embargo, los valores se mantienen en un rango ácido (entre pH 5,5 y 6,5) que favorece la actividad de los hongos degradadores de plaguicidas.

El pH es un factor que favorece a la actividad de los hongos ligninolíticos (Castillo, *et al*, 2008) particularmente para valores entre 5 – 6, como son los que se reportan en este estudio para las tres profundidades de la biomezcla.

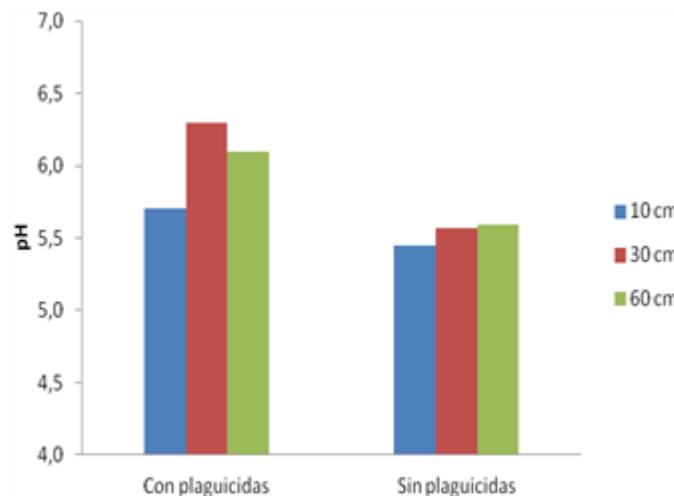


Figura 14. pH en el lecho biológico con y sin plaguicida a diferentes profundidades (10, 30 y 60 cm) después de 120 días de operación.

5. CONCLUSIONES

La aplicación de concentraciones elevadas de plaguicidas en el lecho biológico puede causar un efecto inhibitorio en la actividad microbiana en algunos periodos, sin embargo esta actividad puede recuperarse en un corto plazo, no afectando el comportamiento de la biomezcla.

Debido a la heterogeneidad del sistema se observaron residuos de la mezcla plaguicidas hasta el último día del ensayo, esto se debe a las características fisicoquímicas de los compuestos.

Los valores de pH obtenidos en la biomezcla durante el ensayo fueron los adecuados para el correcto desempeño de los microorganismos.

Se observó que los plaguicidas captan, clorotalonil, clorpirifos, diazinon, fosmet, isoproturon y metidation fueron removidos sobre un 97 %.

La remoción para atrazina y azinfos – metil fue menor comparado a otros compuestos evaluados, sin embargo, esta fue sobre el 89%.

El sistema lecho biológico es un sistema eficiente en la degradación de plaguicidas, sin embargo es importante conocer el comportamiento de los diferentes ingredientes activos que se incorporaran al sistema.

6. RESUMEN

El aumento de la población y la constante demanda de alimento, ha generado un sistema intensivo de agricultura en espacio limitado, esperando obtener rendimiento adecuado. Por lo cual, se ha utilizado de manera intensa productos fitosanitarios o plaguicidas, causando un inminente riesgo de contaminación al ambiente.

En Europa, se desarrolló un sistema para retener, contener y degradar, denominado lecho biológico. Estos lechos están constituidos por una biomezcla compuesta por material ligninolíticos (paja), suelo y turba, que favorece la actividad microbiana y degradación de plaguicidas.

En Chile, este sistema es reciente, por lo que se han realizado estudio a nivel de campo. Por lo tanto el objetivo general es, evaluar la degradación de una mezcla de 9 plaguicidas a escala de campo. Para esto, se utilizó una superficie de 4,5 m² de un lecho biológico, la biomezcla se compone de paja, suelo y turba (25; 50; 25 v/v), se contamina con 18 g de ingrediente activo por cada plaguicida, se evaluó la actividad manganeso peroxidasa por un periodo de 120 días. Además, se instalaron sensores de humedad y temperatura a diferentes profundidades a los 10, 30 y 60 cm.

En el sistema lecho biológico en la degradación de plaguicidas, se observa que, los plaguicidas se encuentran en mayor concentración en la capa superficial del lecho biológico. El plaguicida como Clorpirifos fue adsorbido en mayor cantidad en comparación a los demás plaguicidas evaluados, siendo Atrazina la que se encontró en mayor concentración al final del ensayo. Además, el pH entre rango de 5,3 a 5,8, la relación carbono/nitrógeno en rango de 20 a 25 % se mantuvieron en condiciones adecuadas para la actividad biológicas, que no se vio afectada después de la contaminación del lecho biológico.

7. SUMMARY

The increase in population and the constant demand for food, has generated an intensive system of agriculture in limited space, hoping to obtain adequate performance. Therefore, it has been used intensively pesticides or pesticides, causing an imminent risk of contamination to the environment.

In Europe, a system was developed to hold, contain and degrade, called biological bed. These beds consist of a ligninolytic biomezcla composed of material (straw), soil and peat, which promotes microbial activity and degradation of pesticides.

In Chile, this system is new, so it has been made at the field study. Therefore, the overall objective is to evaluate the degradation of a mixture of 7 field-scale pesticide. For this, we used a 4.5 m² surface of a biological bed, the biomezcla consists of straw and peat soil (25, 50, 25 v / v), was contaminated with 18 g of active ingredient per each pesticide, was evaluated manganese peroxidase activity for a period of 90 days. Further, humidity sensors were installed at various depths and temperature at 10, 30 and 60 cm.

In the biological bed system in the degradation of pesticides, it is noted that pesticides are found in high concentrations in the surface layer of the biological bed. The pesticide Chlorpyrifos was adsorbed as much compared to other pesticides evaluated, being Atrazine was found in the highest concentration at the end of the trial. Moreover, the pH range of 5.3 to 5.8, the carbon / nitrogen ratio in the range of 20 to 25% is maintained under conditions suitable for biological activity, which was not affected after bed biological contamination.

8. REVISION BIBLIOGRAFICA

Biziuk, M., A. Przyjazny, J. Czerwiński and M. Wiergowski. 1996. Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. *Journal Chromatography A* 745: 103-123.

Bushway, R. J., Perkins. B., Ferguson, B.S. 1988. Environmental Protection Agency. 433-443

Carrillo, Leonor. 2003. Microbiología agrícola. Universidad Nacional de Salta. Argentina.

Castillo, M. d. P., von Wire ´n-Lehr, S., Scheunert, I., Torstensson, L. 2001 Degradation of isoproturon by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biol. Fertil. Soils.* 33, 521–528.

Castillo, M. d. P., Stenström, J., Ander, P. 1994. Determination of manganese peroxidase activity with 3-methyl-2-benzothiazoline hydrazone and 3-(dimethylamino) benzoic acid. *Anal Biochem* 218: 399-404.

Castillo, M. d. P.; Torstensson, L. 2007. Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of agricultural and food chemistry.* 55, 5725–5733.

Castillo, M. d. P., Torstensson, L., and Stenström, J., 2008. Biobeds for environmental protection from pesticide use--a review. *Journal of agricultural and food chemistry* 56(15): 6206–19.

Davila-Vazquez G, Tinoco R., Pickard M.A. and Vazquez-Duhalt R. 2006. Transformation of halogenated pesticides by versatile peroxidase from *Bjerk* and *eraadusta*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 36: 223-231

Davila, Gustavo y Vázquez-Duhalt, Rafael. 2006. “Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. Mensaje Bioquímico, Volumen XXX: 29-55.

Doménech, X., 1998. Química Ambiental, El impacto ambiental de los residuos. Quinta edición.

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). Características físico-químicas de los plaguicidas y su transporte en el ambiente. Visitado el día 23 de septiembre, 2012. <<http://www.ine.gob.mx/>>

Jaeken P, Debaer C. 2005. Risk of water contamination by plant protection products (PPP) during pre- and post treatment operations. Annual Review of Agricultural Engineering 4(1):93–114.

Kogan, M y Perez, A. 2003. Herbicidas Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción. Ediciones Universidad Católica de Chile. 333 pag.

Morell, I., y Candela, L., 1998. Plaguicidas aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos. Universitat Jaume. Pag 9-23.

Pasquarell, CC., and D.C. Boyer. 1996. Herbicides in karst groundwater in southeast West Virginia. Journal of Environmental Quality 25(4):755_765.

Ramírez, J. A. y Lacasaña, M. 2001. Plaguicidas: Clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Arch. Prev. Riesgos Labor. 2001; 4(2):67-75

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) Sub departamento División y Forestal. 2008. “Informe de venta de plaguicidas de uso agrícola en Chile. Año 2008.”

Spliid, Niels, Arne Helweg, and Kirsten Heinrichson. 2006. Leaching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. *Chemosphere* 65(11): 2223–32.

Tapia F, Francisco; Jerez B, Jorge; Moyano A, Maria Stella. 2007. Biofiltros y su eficiencia en la remoción de residuos de plaguicidas En: Uso de biofiltros para mejorar la calidad del agua de riego. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias no. 170: 41-63.

TOPPS. 2011. Sistemas de gestión de residuos de fitosanitarios en explotaciones agrícolas.(En línea) Visitado el día 08 de julio, 2011. <<http://www.topps-life.org/>>

Torstensson, L. 2000. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. Pesticide Outlook 11(5): 206-211.

Torstensson, L., Castillo, M. d. P.1997.Use of biobeds in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. Pesticide Outlook 8(3): 24-27.

Vischetti, C., Capri, E., Trevisan, M., Casucci, C. y Perucci, P. (2004). Biomassbed: a biological system to reduce pesticide point contamination at farm level. Chemosphere. 55, 823-828.

9. ANEXOS

Anexo 1. Actividad Peroxidasa (U/Kg) de 0 a 120 días en un lecho biológico.

Días	10	DV	30	DV	60	DV
0	0,393	0,000	0,454	0,000	0,484	0,086
1	0,483	0,004	0,484	0,086	0,494	0,043
15	0,212	0,086	0,373	0,000	0,393	0,043
30	0,333	0,030	0,333	0,030	0,768	0,035
60	0,484	0,121	0,756	0,139	0,756	0,109
90	0,272	0,060	0,605	0,189	0,625	0,167
120	0,282	0,017	0,292	0,063	0,383	0,076

DV: Desviación estándar

Anexo 2. Residuo de plaguicidas en el lecho biológico en un periodo de 120 días después de la aplicación.

	mg/kg de biomezcla		
	10 cm	30 cm	60 cm
Plaguicida			
Atrazina	3,45	3,91	2,72
Azinfosmetil	3,17	4,75	5,11
Captan	0,05	0,03	0,57
Clorotalonil	0,12	0,05	0,30
Clorpirifos	1,10	0,70	0,94
Diazinon	1,04	0,86	1,00
Fosmet	1,28	0,99	1,84
Isoproturon	1,26	0,93	1,28
Metidation	0,96	0,59	0,92

Anexo 3. Humedad y temperatura promedio del lecho biológico en un periodo de un año.

Meses	T1	T2	T3	H1	H2	H3
Febrero	11,70	11,62	14,79	25,35	29,11	30,41
Marzo	10,04	12,49	14,19	25,04	28,77	30,11
Abril	10,36	12,00	12,91	29,75	34,22	35,84
Mayo	10,17	12,25	13,61	24,90	28,57	29,93
Junio	10,74	11,42	11,96	25,31	29,20	29,92
Julio	10,51	11,63	11,86	25,53	29,73	30,67
Agosto	9,40	10,55	10,99	25,43	30,73	32,10
Septiembre	11,73	12,03	11,83	23,02	30,46	32,67
Octubre	12,70	12,92	12,65	17,49	28,85	32,34
Noviembre	14,07	13,72	13,79	23,24	35,67	36,27
Diciembre	14,06	13,66	13,79	23,38	35,41	36,57
Enero	19,00	18,59	21,49	21,52	28,27	28,42
Febrero	18,11	19,06	18,73	16,82	23,39	30,25
Marzo	17,03	18,49	18,30	15,90	22,45	31,11

Temperatura (T); T1: 10 cm profundidad; **T2:** 30 cm profundidad; **T3:** 60 cm profundidad.

Humedad (H); H1: 10 cm profundidad; **H2:** 30 cm profundidad; **H3:** 60 cm profundidad.