

MINERALIZACIÓN DE ^{14}C ATRAZINA EN TRES SUELOS DE COLOMBIA

Luz Elena Pérez C.¹, Amanda Lozano de Yunda^{1*}, Cilia L. Fuentes²

Recibido: octubre de 2000 – Aceptado: agosto de 2001

Palabras clave: atrazina, suelos, mineralización

Keywords: atrazine, soils, mineralization

RESUMEN

Se llevó a cabo un ensayo de mineralización de ^{14}C atrazina (6-cloro-N-etil-N'-(1-metil etil)-1,3,5 triazina-2,4-diamina) con tres suelos de diferentes características, uno proveniente de Mosquera, Cundinamarca (Franco Arcilloso) y dos de Saldaña, Tolima (Franco Limoso y Franco Arenoso). Se aplicó una mezcla de atrazina técnica y radiomarcada (actividad específica 47.756 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$) en una dosis equivalente a 2,0 kg/ha. Los resultados obtenidos mostraron un comportamiento diferente de la mineralización del herbicida para cada tipo de suelo, al término de 17 semanas. El suelo de Mosquera presentó el mayor porcentaje de mineralización, 15%; hecho que se atribuyó al mayor contenido de materia orgánica (12,1%). En las semanas 5, 9 y 17 se determinó la composición del ^{14}C ligado y extraíble con metanol y la presencia de la molécula parental y de sus metabolitos por cromatografía de

capa fina. Se encontró la mayoría del ^{14}C ligado al suelo (62-83%) y una fracción extraíble menor compuesta por atrazina e hidroxiatrazina en todos los suelos. En el suelo franco arenoso se presentó la mayor transformación a hidroxiatrazina (38%), la cual se produce fundamentalmente por procesos no biológicos. No se detectaron otros metabolitos.

ABSTRACT

A study of mineralization of ^{14}C atrazine (6-chlorine-N-ethyl-N'-(1methyl ethyl) 1,3,5 triazine-2,4-diamine) was developed in three soils of different characteristics coming one of them from Mosquera, Cundinamarca (Clay loam) and two of Saldaña, Tolima (Silty loam and Sandy loam). Technical and radiolabeled atrazine (specific activity 47,756 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$) mixture was applied to soil samples in a dose of 2.0 kg/ha. Results showed different behavior of the mineralization of the herbicide for each soil at the end of 17 weeks. The highest mineralization percentage, 15%, was registered in the soil with higher organic matter content (12.1%) and was the one coming from Mosquera, Cundinamarca. It was evaluated the bound and

1 Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

*Apartado Aéreo 14490, Bogotá, Colombia.

2 Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

methanol extractable ^{14}C in the fifth, ninth an seventeenth weeks and also it was analyzed atrazine and its metabolites in the extracts by thin layer chromatography. The extraction data revealed that the majority of the ^{14}C was bound to the soil (62-83%) and the minor fraction was methanol extractable in all the three soils. The analysis showed that the ^{14}C in all soils was present as atrazine and hydroxyatrazine. In the Sandy loam soil was observed the highest degradation of atrazine to hydroxyatrazine that it is not produced by biological process. It was not detectable other atrazine metabolites.

INTRODUCCIÓN

La atrazina (6-cloro-N-etil-N'-(1-metil etil)-1,3,5 triazina-2,4-diamina) es uno de los herbicidas de mayor uso en Colombia para controlar malezas de dicotiledóneas en cultivos de maíz, sorgo y caña de azúcar. Desde el punto de vista del destino ambiental, lo ideal es que un plaguicida sea completamente degradado después de cumplir con su actividad objetivo. En el proceso de biodegradación, el plaguicida es utilizado de alguna manera por uno o más microorganismos y metabolizado hasta CO_2 y otros componentes inorgánicos; y durante esta transformación, los microorganismos usan las moléculas del plaguicida como fuente de energía. Es deseable la completa mineralización del producto para evitar la posible generación de metabolitos de carácter tóxico. En la descomposición de la atrazina en el suelo, la actividad microbiana es muy importante, puesto que un grupo de microorganismos puede utilizar ésta como fuente de nitrógeno y energía. La degradación mi-

crobiana produce la N-dealquilación, formando deetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA) y deetildeisopropilatrazina (DEDIA). La posterior degradación de estos productos produce 4-amino-2-cloro-1,3,5-triazina. La mineralización completa hasta CO_2 lleva a la hidroxilación del anillo, previa a su rompimiento. La hidrólisis química conduce a la formación de la hidroxiatrazina (HA); la velocidad de la hidrólisis se incrementa con el contenido de materia orgánica del suelo y la disminución en el pH.

La degradación de la atrazina en los suelos depende de diversos factores, tanto abióticos como bióticos. Entre los factores abióticos están el pH del suelo, la capacidad de intercambio catiónico, el contenido de materia orgánica, el contenido y el tipo de arcillas, y las condiciones del ambiente (1-4). Por lo tanto, el patrón de degradación de la atrazina (al igual que el de muchos plaguicidas) no es el mismo en todos los tipos de suelo ni en todos los ambientes. Con el objeto de contribuir al conocimiento del comportamiento del herbicida atrazina en suelos de Colombia, se realizó un ensayo de mineralización *in vitro* de ^{14}C atrazina, seguido durante 17 semanas después de la aplicación del producto, y se determinó la cantidad de ^{14}C extraíble y ligado a los componentes del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el experimento se utilizaron dos muestras de suelo tomadas en el municipio de Saldaña (Tolima), la primera de ellas clasificada como Fluvaquentic Dystropepts y que hemos denominado "Uso-

saldaña": textura franco-limosa, arenas 25,4%, arcillas 18,4%, limo 56,0%, pH: 6,7 (1:1), materia orgánica 1,7% (determinada a partir del contenido de carbono orgánico analizado por el método de Walkey Balck); y la segunda muestra, clasificada como Typic Troporthents, la denominamos "Algodonal": textura franco-arenosa, arenas 66,0%, arcillas 4,0%, limo 30,0%, pH: 7,3 (1:1), materia orgánica 1,2%. Una tercera muestra se tomó en el municipio de Mosquera (Cundinamarca) y pertenece a un Typic Dystropept que denominamos "Marengo": textura franco-arcillosa, arenas 25,6%, arcillas 34,4%, limo 40,0%, pH: 5,7 (1: 1), materia orgánica 12,1%. En todos los casos se tomó una muestra representativa de la capa arable (0-20 cm de profundidad), se guardó en bolsas plásticas con cierre hermético para conservar la humedad de campo, y se almacenó a 5°C hasta su uso.

El experimento se realizó en frascos Pyrex completamente herméticos, de 2 L de capacidad, que se adaptaron a semejanza de los utilizados por Bartha y Pramer, y descritos en el Manual de Métodos usados en la investigación con plaguicidas de la OIEA (5). En el interior se colocaron 200 g de suelo con una humedad del 60% de la capacidad de campo y tratado con una dosis de atrazina equivalente a 2,0 kg/ha. La atrazina se adicionó en mezcla de forma fría (atrazina técnica) y radiomarcada en los carbonos del anillo para obtener una actividad de 10^6 DPM (desintegraciones por minuto) por frasco; cada una de las muestras fue cuantificada en un oxidador biológico Harvey Corporation OX-600. Se colocaron 10 repeticiones por suelo. La ^{14}C atrazina fue suministrada por el Organismo Internacional de Energía

Atómica (Actividad Específica 47.756 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$). La mineralización fue evaluada mediante la medida del $^{14}\text{CO}_2$ recolectado en pequeños frascos que contenían 15,00 mL de NaOH 0,3 M dispuestos en el interior del frasco hermético. Los frascos se colocaron en una incubadora a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Cada semana se cambió la solución de NaOH y se determinó el $^{14}\text{CO}_2$. Se realizaron mediciones cada 7 días durante 120 días (17 semanas) en alícuotas de 1,00 mL y por triplicado, utilizando la solución de centelleo líquido HP Beckman tipo II para muestras acuosas, y el contador de centelleo Beckman LS 5600. El ^{14}C oxidado se calculó con base en la actividad inicial de las muestras. En las semanas 5, 9 y 17 se retiraron dos repeticiones por suelo para determinar la presencia de atrazina y/o sus metabolitos. Inicialmente se analizó el contenido total de ^{14}C en la muestra retirada y, posteriormente, se realizó una extracción a 2,00 g de suelo con 5 ml de metanol sometidos a ultrasonido durante 5 minutos. El ^{14}C de esta fracción se denominó extraíble y la diferencia con el total corresponde al ligado. En la fracción extraíble se determinó la presencia de atrazina y/o metabolitos DEA, DIA y DEDIA, mediante cromatografía de capa fina y utilizando placas de 20 x 20 cm con silice gel GOF254 de 0,20 mm de espesor y dos sistemas de solventes (ver tabla 1). La detección inicial se realizó por UV; posteriormente se raspó la zona correspondiente a cada metabolito, se recuperó el metanol y se cuantificó la actividad de ^{14}C en el contador de centelleo. Con base en la actividad total del extraíble, se calculó el porcentaje relativo de cada componente.

Tabla 1. Mezcla de solventes para la separación de la ^{14}C atrazina y sus metabolitos por cromatografía de capa fina (Silica gel GOF254)

Sistema	COMPOSICIÓN	METABOLITO	Rf
		Atrazina	0,97
1	Cloroformo: 50 mL	Hidroxiatrazina	0,58
	Acetona: 30 mL	Deetildeisopropilhidroxiatrazina	0
	Ácido acético: 15 mL	Deetilatrazina	0,92
	Agua: 1 mL	Deisopropilatrazina	0,88
2	N-heptano: 70 mL	Atrazina	0,80
	Acetato de etilo: 30 mL		

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cantidad de $^{14}\text{CO}_2$ (%) determinada en cada suelo semanalmente se muestra en la tabla 2. En la evaluación del ^{14}C oxidado, debido a que se retiraron repeticiones para evaluar la presencia de los metabolitos y el compuesto parental en diferentes tiempos, hasta la semana 5 se tienen 10 repeticiones por cada suelo; desde la semana 6 hasta la semana 9 se tie-

nén 8 repeticiones; y de la 10 en adelante se tienen 6 repeticiones por suelo.

La producción de $^{14}\text{CO}_2$ (mineralización completa) en los tres suelos presentó una tendencia a aumentar con el tiempo, por lo menos hasta la semana 16. En la semana 17 se encontraron valores inferiores en todos los casos, lo que permite suponer que a partir de este tiempo la velocidad de mineralización empieza a disminuir. En la figura 1 se muestra el porcentaje de $^{14}\text{CO}_2$ acumulado en el tiempo para cada uno de los suelos.

En el suelo Marengo ocurrió una mayor mineralización (15,1%) en comparación con los otros dos suelos, lo cual puede atribuirse a que su mayor contenido de materia orgánica favorece la presencia de poblaciones altas de organismos mineralizadores de la atrazina. Estos resultados están de acuerdo con Gan et al. (6) y

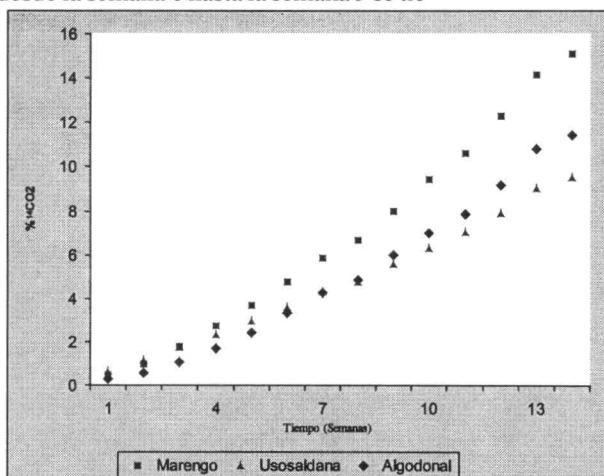
**Figura 1.** Porcentaje de $^{14}\text{CO}_2$ acumulado durante la mineralización de atrazina en los tres suelos estudiados.

Tabla 2. Producción de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de ^{14}C atrazina durante 17 semanas.

Tiempo (Semanas)	SUELOS					
	MARENGO		USOSALDAÑA		ALGODONAL	
	% $^{14}\text{CO}_2$ Semanal	% $^{14}\text{CO}_2$ Acumulado	% $^{14}\text{CO}_2$ Semanal	% $^{14}\text{CO}_2$ Acumulado	% $^{14}\text{CO}_2$ Semanal	% $^{14}\text{CO}_2$ Acumulado
1	0,47	0,47	0,63	0,63	0,29	0,29
2	0,48	0,95	0,51	1,14	0,24	0,53
4	0,81	1,76	0,58	1,72	0,51	1,04
5	0,96	2,72	0,57	2,30	0,62	1,66
6	0,94	3,66	0,64	2,93	0,74	2,40
7	1,09	4,75	0,67	3,60	0,93	3,33
8	1,09	5,84	0,68	4,29	0,91	4,24
9	0,81	6,65	0,49	4,78	0,62	4,87
10	1,31	7,96	0,81	5,59	1,13	6,00
11	1,48	9,44	0,69	6,29	0,98	6,98
12	1,16	10,60	0,73	7,01	0,88	7,86
14	1,68	12,28	0,88	7,89	1,29	9,14
16	1,85	14,13	1,11	9,00	1,66	10,80
17	0,97	15,10	0,52	9,53	0,61	11,41

Radosevich et al. (7), quienes encontraron que algunos microorganismos habitantes del suelo utilizan la atrazina como fuente de nitrógeno para su crecimiento, degradándola hasta ion amonio o plasma celular y $^{14}\text{CO}_2$, a partir del rompimiento del anillo triazínico.

Los suelos del municipio de Saldaña presentaron entre sí un comportamiento similar, pero se mineralizó en mayor proporción la atrazina en el suelo Algodonal que en el suelo Usosaldaña; esto podría explicarse por el alto contenido de arenas del suelo Algodonal, lo que

permite una mayor aireación al suelo y una mejor disponibilidad de O_2 para la población microbiana. Además, el suelo Usosaldaña posee más arcillas, lo que lo hace más susceptible a generar interacciones con el herbicida que impiden su mineralización.

Por otro lado, en los tres suelos se produjo $^{14}\text{CO}_2$ durante todo el tiempo que duró el experimento, por lo cual se puede concluir que 17 semanas no fueron suficientes para establecer el decaimiento en la mineralización de la molécula en los tres suelos. Lo anterior indica que la atra-

zina persiste, ya sea como el compuesto parental o sus metabolitos, por un tiempo mayor a 17 semanas. Este resultado implica una mayor resistencia del producto a la degradación en el suelo, afectando sus componentes bióticos y abióticos.

Se realizó un análisis de varianza de la mineralización, separando el estudio en tres épocas para manejar el desequilibrio en el número de repeticiones originado por la remoción de muestras; análisis desarrollado con un 5% de probabilidad de error, utilizando la prueba F para la variación entre suelos y comparando las muestras del mismo tiempo mediante la prueba de Duncan. En la tabla 3 se presenta el promedio de los resultados entre suelos y entre períodos.

Los resultados indicaron que, en general, para todo el tiempo de evaluación, el suelo Marengo presentó mayor mineralización de la ^{14}C atrazina, seguido del suelo de Usosaldaña y Algodonal; resultados que corresponden con las características fisicoquímicas de los suelos. Sin embargo, las curvas de mineralización son paralelas para las dos épocas finales, es decir no hay interacción significativa del

tipo de suelo con el efecto del tiempo; lo que permite concluir que en las primeras 5 semanas se define el orden de la velocidad de mineralización de la ^{14}C atrazina de los suelos.

Estos resultados también indican que hay diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre suelos, lo que permite concluir que cada suelo se comporta de una manera diferente.

Con el acumulado de la mineralización se obtuvieron los siguientes modelos para cada uno de los suelos:

$$Y_1 = -0.4768 + 0.6016X + 0.0170X^2 \quad R^2 = 0.83$$

$$Y_2 = -0.1202 + 0.5275X + 0.0038X^2 \quad R^2 = 0.98$$

$$Y_3 = -0.6665 + 0.4836X + 0.0151X^2 \quad R^2 = 0.98$$

Donde Y_1 , Y_2 y Y_3 corresponden al valor acumulado de mineralización para Marengo, Usosaldaña y Algodonal respectivamente, y X corresponde al tiempo en semanas hasta 17. Se obtuvo un buen ajuste en todos los casos con ecuaciones de segundo orden, especialmente con los suelos de Saldaña, lo que permite inferir la tendencia semejante a la degradación del plaguicida en las tres muestras estudiadas.

Tabla 3. Porcentajes promedios $^{14}\text{CO}_2$ producidos por los períodos de la mineralización; comparación entre suelos.

	Semana 1 - 5	Semana 6 - 9	Semana 10 - 17
MARENKO	0,68 a	0,98 a	1,41 a
USOSALDAÑA	0,57 b	0,80 b	1,09 b
ALGODONAL	0,41 c	0,62 c	0,79 c
Promedio de los suelos ($^{14}\text{CO}_2\%$)	0,56	0,80	1,10
Prob > F (suelo x semana)	0,001	0,942	0,742

En cada columna, los promedios con la misma letra no son diferentes al nivel del 5%.

¹⁴C extraíble y ¹⁴C ligado

En la tabla 4 se indican los resultados obtenidos en porcentaje de ¹⁴C atrazina, o sus metabolitos extraíbles y ligados, para cada suelo y para cada lapso de tiempo de mineralización. Un hecho notable fue que, aunque hubo diferencia en los porcentajes ligados y extraíbles entre los suelos, tanto el suelo Marengo como el suelo Usosaldaña presentaron un comportamiento análogo durante las dos primeras épocas de mineralización; es decir, el porcentaje extraíble se mantuvo relativamente constante hasta la semana 9, efecto que se atribuyó a los altos contenidos de materia orgánica y de arcilla, respectivamente, en estos dos suelos; para la tercera época, los porcentajes fueron diferentes. A diferencia de los otros dos suelos, para el suelo Algodonal los resultados evidenciaron que la disminución en el porcentaje extraíble fue constante y mayor con el tiempo. Este es un hecho muy difícil de explicar, pero es posible que se deba a su alto contenido de arenas, las cuales dan origen a una mayor movilidad del herbicida y, por lo tanto, a una mayor área de contacto efectiva.

El suelo Marengo presentó un menor valor de ¹⁴C extraíble y, en consecuencia, un mayor porcentaje ligado. Esto se puede explicar por su mayor contenido de materia orgánica y arcillas, y por la posible formación de enlaces entre el herbicida y diferentes compuestos presentes en el suelo, enlaces que con el tiempo dieron origen al aumento del porcentaje ligado. Los suelos Algodonal y Usosaldaña presentaron comportamientos similares.

De acuerdo con Weber y Best (8), la bioactividad de los plaguicidas está rela-

ciónada con su extractabilidad; por lo tanto, posiblemente el herbicida presenta disminución de su bioactividad en todos los suelos, debido a la interacción con sus componentes.

Olarte (9) y Acevedo (10) encontraron un contenido de 5,9 µg/ L de atrazina en las aguas de drenaje hasta por un mes después de la aplicación del herbicida y en extractos del suelo Usosaldaña, en una parcela de maíz tratado con atrazina, 97 µg /kg el primer mes y 42 µg/kg el segundo mes. Por tanto, sus resultados no indicaron la presencia de contenidos altos de atrazina en las muestras evaluadas, hecho que se explica con el presente trabajo, ya que el herbicida se va ligando al suelo a medida que pasa el tiempo y se impide su lixiviación. Probablemente con el tiempo y repetidas aplicaciones del compuesto, la atrazina se acumule en el suelo y el herbicida se detecte en esta forma por un período de tiempo que puede ser largo.

Cromatografía de la fracción extraíble

En los ensayos de separación por cromatografía de capa delgada se detectaron sólo atrazina e hidroxiatrazina como metabolitos presentes en el ensayo de mineralización en las tres épocas.

Los porcentajes relativos de atrazina e hidroxiatrazina presentes en el porcentaje extraíble se muestran en la tabla 4.

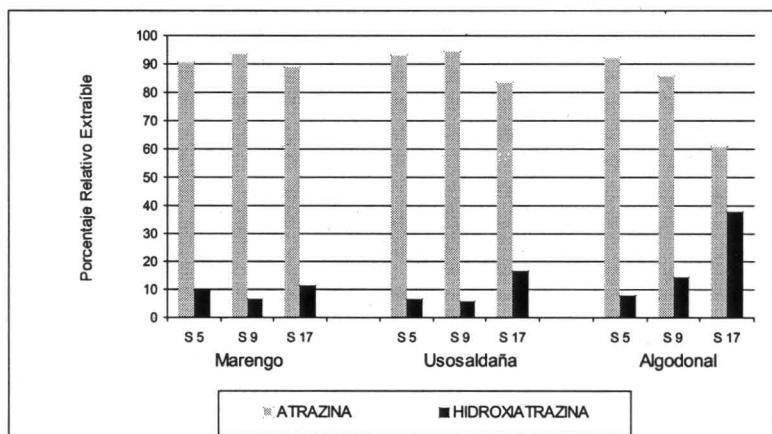
Los resultados obtenidos muestran que en los suelos Marengo y Usosaldaña el porcentaje de ¹⁴C extraíble como ¹⁴C atrazina fue del orden de 93 - 94 % del total extraíble durante las dos primeras épocas; para la tercera época dicho porcentaje fue

Tabla 4. Contenido de ^{14}C en la fracción ligada y extraíble, y composición de la fracción extraíble.

SUELO	SEM	% ^{14}C ligado	% ^{14}C extraíble	Composición de la fracción extraíble	
				Atrazina	Hidroxiatrazina
Marengo	5	65,32	34,68	31,36	3,32
	9	66,73	33,27	31,05	2,22
	17	83,24	16,76	14,83	1,93
Usosaldaña	5	56,46	43,54	40,54	3,00
	9	52,71	47,29	44,61	2,68
	17	74,29	25,71	21,48	4,23
Algodonal	5	48,94	51,06	47,13	3,93
	9	62,25	37,75	32,27	5,49
	17	80,39	19,61	12,17	7,44

del orden de 84 al 89%; el porcentaje restante se encontró como ^{14}C hidroxiatrazina. Para el suelo Algodonal se encontraron diferencias en las tres épocas de mineralización: para la primera época el porcentaje relativo de ^{14}C atrazina fue de 92%, para la segunda fue de 85% y para la tercera fue

de 62%, que es un porcentaje menor comparado con el 84 al 89% de los suelos Marengo y Usosaldaña; por lo tanto, en este último suelo se dio una mayor transformación de ^{14}C atrazina a ^{14}C hidroxiatrazina (ver figura 2).



S = semana

Figura 2. Variación temporal de la composición relativa de la fracción extraíble en los tres suelos.

De lo anterior se puede concluir que, a pesar de que el suelo Marengo presenta las mejores condiciones para la mineralización, la mayoría del ^{14}C permanece ligado y la fracción extraíble está formada básicamente por el compuesto parental (atrazina). El suelo Algodonal presentó un comportamiento diferente: tuvo una variación constante con el tiempo en lo que se refiere al porcentaje extraíble y a la formación de ^{14}C hidroxiatrazina. El suelo Usosaldaña presentó un comportamiento muy similar al suelo Marengo, sólo que para la tercera época el contenido de ^{14}C atrazina fue menor. De acuerdo con Weber (7), la hidroxiatrazina se produce fundamentalmente por procesos no biológicos, mientras que la Deetilatrazina y la Deetildeisopropilatrazina son productos de actividad microbiana. De los resultados encontrados podemos suponer una mayor actividad química en Algodonal y una actividad biológica baja en todos los suelos, ya que en ningún extracto se detectó DEA o DEDIA.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Organismo Internacional de Energía Atómica, como parte del Proyecto COL 05/16. Agradecemos también al Laboratorio de Hormonas del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, por su colaboración con el Contador de Centelleo.

BIBLIOGRAFÍA

- Hance, R. J. (1969). Influence of pH, exchangeable cation and the presence of organic matter on the adsorption of some herbicides by montmorillonite. *Can. J. Soil. Sci.* **49** 357-364.
- Best, J. A.; Weber, J. B. (1974). Disappearance of s-Triazina by Soil pH Using a Balance-Sheet Approach. *Weed Science* **22** 364-373.
- Borgaard, O. K.; Streibgh, J. C. (1988). Atrazine adsorption by some soil in relation to their constituents. *Acta Agric. Scand.* **38** 293-301.
- Armstrong, G.; Chester; Harris. R. F. (1967). Atrazine Hydrolysis in Soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **31** 61-66.
- International Atomic Energy Agency IAEA. (1991). Laboratory training manual on the use of nuclear and associated techniques in pesticide research. *Manual Reports Series* **329** 177-183.
- Gan, J.; Becker, R. L.; Koskinen, W. C.; Buhler, D. D. (1996). Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. *J. Environ. Qual.* **25** 1064-1072.
- Radosevich, M.; Traina, S. J.; Hao, Y.; Tuovinen, O. L. (1995). Degradation and mineralization of atrazine

- by a soil bacterial isolate. *Appl. and Environ. Microb.* **61**(1) 297-302.
8. Weber J. B.; Best , J. A.; Gonese, J. U. (1993). Bioavailability an bioactivity of sorbed organic chemicals. *Soil Science Society of America*. (Special publication) **32** 153-165.
9. Olarte I. (1998). Determinación de atrazina y algunos de sus productos de degradación, en suelos y aguas por medio de HPLC. Trabajo de grado, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.
10. Acevedo B. (1999). Evaluación de la residualidad y efecto de la temperatura y humedad en la degradación de atrazina en un suelo de Saldaña, Tolima. Trabajo de grado. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.