

## **VARIABILIDAD ASOCIADA A LA DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE CLORPIRIFOS AL SER APLICADO EN UN HUERTO DE MANZANOS**

**Julio Junod<sup>1\*</sup>, Erick Zagal<sup>2</sup>, Marco Sandoval<sup>2</sup>, Alejandro Venegas<sup>2</sup>, Jorge Campos<sup>2</sup>, Rudi Radrigan<sup>3</sup>, Ricardo Barra<sup>4</sup>, Gladys Vidal<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias de la Salud y los Alimentos, Universidad del Bío-Bío, Chillán, Chile. <sup>2</sup>Departamentos de Suelos y Recursos Naturales, Producción Vegetal y Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile, respectivamente. <sup>3</sup>Departamento Agroindustrias, Facultad de Ingeniería Agrícola, Universidad de Concepción, Chillán, Chile. <sup>4</sup>Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. Casilla 447, Chillán, Chile. \*Corresponding author: [jjunod@ubiobio.cl](mailto:jjunod@ubiobio.cl)

### **ABSTRACT**

The present study had the purpose of testing through supervised trials the variability of Chlorpyrifos (CHP) residues associated to a sampling methodology validated in the field, on applying the active ingredient (AI) in an apple orchard, with two different spraying methodologies and at different periods of vegetative development. The persistence on applying 1.8 kg ha<sup>-1</sup> (Lorsban 50%WP®, Dow AgroScience, USA), using a knapsack sprayer with engine (KSE) and a high volume sprayer (HVS) was studied. The model that had the best fit for the diminution of the residues was appraised through linear regression. The results show high coefficients of variation (CV) with both application methods, KSE (69%) and HVS (43%). The sampling variability of apples contributes to 99.3% with KSE and 97.7% with HVS. The sample results show an initial rapid diminution of CHP, with a half-life for apples, leaves and soil of 5.0, 2.3 and 4.5 days for KSE and 8.3, 2.7 and 11.2 days for HVS, respectively. The adjusted declination model for each substrate does not permit modeling the degradation of CHP residues through a simple model.

**Keywords:** pesticides, residues, degradation.

### **RESUMEN**

El presente estudio tiene por objetivo probar mediante ensayos supervisados la variabilidad de los residuos de clorpirifos (CHP) asociados a una metodología de muestreo validada en terreno, al aplicar el ingrediente activo (IA) en huerto de manzanos, con dos diferentes metodologías de aspersión y en épocas diferentes de desarrollo vegetativo. Se estudió la persistencia al aplicar 1,8 kg ha<sup>-1</sup> (Lorsban 50%WP®, Dow AgroScience, USA), mediante nebulizadora con bomba de espalda con motor (NBEM) y con nebulizadora de alto volumen (NAV). Se evaluó el modelo que representa el mejor ajuste de la declinación de los residuos a través de regresión no lineal. Los resultados muestran altos coeficientes de variación (CV) en ambos métodos de aplicación, NBEM (69%) y NAV (43%). La variabilidad del muestreo de manzanas contribuye con un 99.3% con NBEM y 97.7% con NAV. Los resultados muestran una disminución inicial rápida del CHP, con una vida media para manzanas, hojas y suelo

de 5,0; 2,3 y 4,5 días para NBEM y de 8,3; 2,7 y 11,2 días para NAV, respectivamente. El modelo de declinación ajustado para cada sustrato no permite modelar la degradación de los residuos de CHP a través de un modelo simple.

**Palabras clave:** pesticidas, residuos, degradación.

## INTRODUCCIÓN

Desde el año 1996, la Agencia de Protección Ambiental (EPA), en los Estados Unidos (EE.UU.), regula los requerimientos relacionados con la aprobación y cambios de estos compuestos a través del Acta de Protección de la Calidad de los Alimentos (Wheeler, 2002). En Chile, se sigue la normativa para los Límites Máximos Permitidos (LMP) de plaguicidas según el "Codex Alimentarius", y la importación de pesticidas es regulada por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG, 2006). Originalmente los pesticidas organofosforados fueron reconocidos como insecticidas, que mostraban sólo una moderada estabilidad en suelos, en los cultivos y en el medio ambiente.

El Clorpirifos (CHP), es un insecticida organofosforado de amplio espectro, utilizado en el control de fitófagos de los cultivos frutícolas e industriales. En Chile desde los años 80s, se ha utilizado en productos hortofrutícolas (González, 1988; González y Denté, 1989; González, 1995). Sin embargo, este pesticida enfrenta una probable reducción de su actual límite máximo de residuo (LMR) asignado por la EPA para las manzanas ( $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ , expresado como residuo de CHP y su metabolito), posiblemente a su límite de detección (LD) de  $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ , situación que se esperaba que se pusiera en marcha en Chile durante el año 2002 (González, 2002), hecho que no ocurre hasta hoy. Para EE.UU., su utilización sobre manzanas ya ha sido restringida y sobre tomates totalmente eliminado (USEPA, 2004).

El CHP se caracteriza por presentar baja solubilidad en agua ( $< 2 \text{ mg L}^{-1}$ ), coeficiente de sorción (Koc) suelo-sedimento de 8498 y un factor de bioconcentración en peces de 100-5100 (Racke, 1993). Se estima que la Región del Bío-Bío utiliza sobre 20 toneladas año<sup>-1</sup> de insecticida (SAG, 2006) y se ha comprobado la presencia del IA en aguas, sedimentos y suelos a nivel de cuenca, lo que indicaría cierta movilidad (Barra, 1993).

El marco metodológico que propone FAO (1981) para el estudio del comportamiento de residuos de pesticidas en cultivos o alimentos, se basa en los ensayos supervisados, que corresponden al sistema más utilizado para determinar el efecto de la dosis utilizada, forma de aplicación, sustrato y clima sobre la degradación de un pesticida. Las correlaciones residuo-tiempo se caracterizan a través de los CV(s) y ajuste de curvas (Montemurro *et al.*, 2002). Dentro de este contexto se ha podido comprobar que el muestreo es uno de los factores que más inciden en la incertidumbre de los resultados, estimándose entre un 24 y 30% su participación para el estudio de dos métodos mejorados. En cambio el procesamiento de las muestras y el análisis químico influyen en la variabilidad en menor grado (Ambrus y Lantos, 2002). Es recomendable el uso de técnicas analíticas que extraigan el IA sin interferir su cuantificación (Arias-Estevez *et al.*, 2008), donde es posible el uso de micrométodos que indican CV bajos,

tanto para la recuperación como para la metodología de extracción de residuos (Steinwandter, 1985; Steinwandter, 1990).

Los estudios de aplicación de CHP en Chile se han centrado en la determinación de eficiencia y tiempos de carencia, especialmente entre la Región Metropolitana hasta la Región del Maule, y sus resultados han mostrado que los frutos no exceden los LMR (González, 1988; USEPA, 2001; Curkovic, 1996). Sin embargo, a pesar que se cultivan más de 35.000 hectáreas de pomáceas, especialmente manzanos, se carece de mayor información relacionada con estudios que consideren los efectos de la aplicación de CHP en forma integrada, considerando la sensibilidad involucrada sobre los sistemas agrícolas y los potenciales riesgos sobre el medio ambiente, tendiente a la toma de decisiones con sustento, como es a través de metodologías validadas para las diferentes etapas de los ensayos.

El presente trabajo, tiene como objetivo estudiar la variabilidad de los residuos de CHP, asociados a una metodología de muestreo validada en terreno al ser aplicado en el huerto de manzanos, mediante la cuantificación de la persistencia de los residuos en frutos, hojas de manzano y suelo bajo la canopia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El área de estudio está ubicada en Chillán, Provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío, en la zona Central de Chile (36° 34" de latitud sur y 74°06" longitud este). El suelo corresponde a la serie Arrayán, clasificado como medial, amorphic, thermic, thermic Humic Haploxerands (Stolpe, 2006). Algunas características físicas y químicas del suelo en estudio se muestran en Cuadro 1. El clima de la región es del tipo Mediterráneo, con una precipitación anual de 1000-1300 mm y un promedio de temperatura de 13.5-14.0 °C (Del Pozo y Del Canto, 1999). Los antecedentes meteorológicos durante el estudio se obtuvieron de los registros diarios de la Estación Meteorológica de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, ubicada aproximadamente 200 metros del sitio experimental, los que se muestran en Cuadro 2 y Cuadro 3.

### Sitio experimental y tratamiento

Se utilizó un huerto frutal de 3 ha, de 9 años de edad. El huerto se encuentra plantado en bloques de 5 por 3 metros. Para el estudio se escogió aleatoriamente 7 árboles de una hilera de 20 árboles de la variedad Scarlet.

**Cuadro 1.** Propiedades químicas y físicas del suelo al inicio del estudio

**Table 1.** Chemical and physical properties of the soil at the start of the study

Profundidad Suelo (cm)	pH	Humedad	Arena	Arcilla (%)	Limo	C org <sup>1</sup>	CC <sup>2</sup>	Dap <sup>3</sup> (g cm <sup>-1</sup> )
0-30	5.9	40.69	49.4	28.0	22.6	3.36	37.7	1.18

<sup>1</sup>Carbono orgánico <sup>2</sup>Capacidad de campo <sup>3</sup>Densidad aparente (Junod *et al.* 2009)

Se estableció una zona buffer alejada del sitio de estudio (aproximadamente 120 metros), para el control de la deriva. No se detectó riesgo de volatilización, lo que se corroboró con los análisis de follaje y

suelo de la zona buffer, donde no se encontraron residuos de CHP cuantificables (límite de cuantificación del método 0,011 mg kg<sup>-1</sup>). El método de muestreo (ver más abajo), se utilizó

**Cuadro 2.** Parámetros meteorológicos diarios para todo el período en estudio (Noviembre 2004)

**Table 2.** Daily meteorological parameters for the whole study period (November 2004)

Parámetros	Noviembre (días)														
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Temperatura promedio (°C)	11	11	14	17	14	14	16	16	14	13	12	11	14	16	17
Temperatura mínima (°C)	5	5	7	11	9	7	9	10	10	9	6	3	6	9	10
Temperatura máxima (°C)	16	20	24	25	18	22	27	19	16	19	18	19	23	26	25
HR media (%)	74	71	69	71	76	73	68	82	89	78	71	69	65	68	69
Velocidad viento (km h <sup>-1</sup> )	4	9	8	3	5	5	7	4	7	5	6	8	13	11	6
Precipitación (mm)	7	0	0	0	0	0	0	1.5	2.5	2.6	0	0	0	0	0

Criterio Ventanas de Aplicación de Plaguicidas: Lluvia < 1,5 mm d<sup>-1</sup>, Temperatura: < 28°C, HR: humedad relativa: 30 a 95%, velocidad del viento: < 1,94 m s<sup>-1</sup>

**Cuadro 3.** Parámetros meteorológicos diarios para todo el período en estudio (Febrero-Marzo 2005)

**Table 3.** Daily meteorological parameters for the whole study period (February-March 2005)

Parámetros	Febrero (días)										Marzo (días)				
	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	01	02	03	04
Temperatura promedio (°C)	20	22	21	22	23	21	22	24	22	21	17	19	18	23	21
Temperatura mínima (°C)	14	14	9	13	14	12	13	15	13	10	10	16	9	11	17
Temperatura máxima (°C)	32	31	32	33	32	31	33	33	32	29	21	25	30	33	26
HR media (%)	71	50	53	47	49	54	45	43	48	60	73	68	69	60	66
Velocidad viento (km h <sup>-1</sup> )	5	9	5	8	8	6	7	13	9	4	4	3	5	6	8
Precipitación (mm)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Criterio Ventanas de Aplicación de Plaguicidas: Lluvia < 1,5 mm d<sup>-1</sup>, Temperatura: < 28°C, HR: humedad relativa: 30 a 95%, velocidad del viento: < 1,94 m s<sup>-1</sup>

después de la aplicación del IA con dos diferentes metodologías de aspersión y en épocas diferentes de desarrollo vegetativo. Así, se aplicó el CHP, en períodos distintos de desarrollo de los frutos mediante nebulizadora con bomba

de espalda con motor (NBEM) y con nebulizadora de alto volumen (NAV), impulsada por tractor. Para la forma NBEM, se aplicó el IA durante el período de crecimiento temprano del fruto (4 de Noviembre del año 2004). Para la forma

NAV, se aplicó el IA durante el período de crecimiento mayor de los frutos (18 de febrero del año 2005). En ambas situaciones la concentración aplicada fue de  $1.98 \text{ kg ha}^{-1}$  de IA (Lorsban 50%WP®, Dow AgroScience, USA), que equivalen a  $120 \text{ g h L}^{-1}$ , considerando una densidad de  $667 \text{ árboles ha}^{-1}$ .

### **Muestreo**

Se extrajeron muestras compuestas de frutas, hojas de los árboles y suelo bajo la canopia para 5 diferentes tiempos después de la aplicación de CHP: 0 (2 horas después del tratamiento) y 3, 7, 10 y 14 días, de acuerdo a lo indicado por Ambrus y Lantos (2002) y Comisión de la Comunidad Europea para ensayos supervisados (González, 2002).

El muestreo consideró 7 árboles seleccionados en forma aleatoria. Según diseño metodológico de muestreo validado a nivel de campo, con bajo coeficiente de variabilidad, descrito por Ambrus y Lantos (2002), donde se dividió cada árbol en tres secciones imaginarias en relación a la canopia (alto, medio, bajo) y cada sección dividida en parte interior y exterior. Para las frutas se tomó un total de 12 unidades por muestra, que corresponde a 4 unidades por sección (2 interior y 2 exterior).

Según metodología descrita por Montemurro *et al.* (2002), se extrajeron las muestras de hojas y suelo. Las hojas consideradas fueron 30 unidades por muestra, que corresponden a 10 unidades por sección (5 interior más 5 exterior). La posición de los frutos y hojas extraídas fueron marcadas, y las muestras consecutivas fueron colectadas de los alrededores de dicha posición señalada.

Las muestras compuestas de suelos bajo la canopia, fueron extraídas aleatoriamente sobre la hilera libre de malezas durante la mañana, para los mismos tiempos de toma de muestra de frutas y hojas. Cada muestra se estructuró

tomando ocho muestras de suelo de  $25 \text{ cm}^3$  cada una mediante cilindros de PVC (4 cm de diámetro por 2 cm de altura).

Todas las muestras se envasaron en bolsas de polietileno y se trasladaron al laboratorio para enfriamiento profundo y mantenidas a  $-18^\circ\text{C}$  de temperatura hasta su análisis.

### **Extracción y medición de CHP**

Se aplicó micrométodo descrito por Steinwandter (1985, 1990). La muestra de fruta y hojas se someten al picado y homogenizado en procesadora; 5 g de muestra se tratan con 20 ml de la mezcla 1:1 de acetona/diclorometano y 2 g de cloruro de sodio, luego se homogenizan con agitador ultraturrax (Ultraturrax IKA-Labortechnik, Stanfen, Alemania) por 1 min. Se agita mediante barra magnética por 5 minutos con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se deja en reposo hasta aclarar la fase orgánica. Una alícuota de 10 mL de esta última fase, se somete a reducción de volumen hasta 0,5 ml, mediante rotavapor a  $40^\circ\text{C}$  y 120 rpm, se lava con acetona tres veces el volumen reducido. Las muestras de suelo se pulverizan y tamizan, posteriormente 3 gramos de muestra, se someten a los mismos pasos señalados para frutas y hojas, considerando la extracción, concentración y lavado. Todas las muestras se determinaron en duplicado.

Se utilizó Cromatógrafo de gas (Carlo Erba, modelo GC 6000 Vega, Serie 2; Milán, Italia), con detector Nitrógeno Fósforo (NPD), columna capilar SGE BPX5 (5% Phenyl equiv. Polysilphenylenesiloxane), de 25 m, 0,53 mm diámetro interno (ID), 1  $\mu\text{m}$  espesor de film.

Las condiciones de trabajo para la cromatografía gaseosa (GC) fueron: temperaturas de columna  $220^\circ\text{C}$ , inyector  $250^\circ\text{C}$ , detector a  $270^\circ\text{C}$ ; flujos carrier  $\text{N}_2$   $4\text{-}5 \text{ mL min}^{-1}$ ; presión de  $\text{H}_2$  80 kPa, aire 120 kPa.

## Validación de metodología cromatográfica

Se utilizó como estándar de calibración externo el Clorpyrifos Chem. Service, 100 µg ml<sup>-1</sup> en isooctano (Certificado Estándar Analítico), con grado para residuos de pesticidas. La respuesta del detector fue lineal a concentraciones de 0.10 a 2.00 mg kg<sup>-1</sup>. Bajo estas condiciones el tiempo de retención fue de 5,5-5,6 min. El límite de detección (LD) obtenido fue de 0.0094 mg kg<sup>-1</sup>, el límite de cuantificación (LC) alcanzó un valor de 0.011 mg kg<sup>-1</sup>.

Los niveles de fortificación con CHP, para los tres sustratos analizados, se desarrollaron con 0.01, 0.5 y 1 mg kg<sup>-1</sup>, obteniendo una recuperación promedio para hojas 115%, manzanas 80% y suelo 90% (considerando el estudio de recuperación de las manzanas (80%), se determinó el coeficiente de CV, el que entregó un valor de 3,66%).

## Determinación del coeficiente de variación total (CV<sub>T</sub>) y vida media (t<sub>1/2</sub>) de residuos de CHP

El coeficiente de variación total (CV<sub>T</sub>) se determinó para el tratamiento de manzanas según ecuaciones (1) y (2) descritas por Ambrus y Lantos (2002), considerando el CV para el procesamiento de las muestras (CV<sub>S</sub>), CV del resultado (CV<sub>R</sub>) y el CV del análisis (CV<sub>A</sub>). Donde:

$$CV_S = \sqrt{\left(\frac{K_1}{m_1} + \frac{K_2}{m_2}\right)} \quad (1)$$

K<sub>1</sub> y K<sub>2</sub> corresponden a las constantes de corte y homogenización de las muestras de manzanas, que presentan, según Ambrus y Lantos (2002), un valor de 21000 g y 150 g, para m<sub>1</sub> y m<sub>2</sub> respectivamente. Donde m<sub>1</sub> corresponde a la masa para homogenización y m<sub>2</sub> a la

porción de muestra analizada. Por lo tanto.

$$CV_T = \sqrt{(CV_R^2 - CV_S^2 - CV_A^2)} \quad (2)$$

La vida media (t<sub>1/2</sub>) fue estimada según lo descrito por Montemurro *et al.* (2002) y Ciglasch *et al.* (2006) a partir de las ecuaciones (3) y (4):

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad (3)$$

Donde:

C<sub>t</sub> = concentración de residuos de CHP al tiempo t  
 C<sub>0</sub> = concentración inicial de residuos de CHP  
 t = tiempo post aplicación  
 k = tasa de disminución en días

Por lo tanto:

$$t_{1/2} = \ln(2/k) \quad (4)$$

## Análisis estadístico

Para el desarrollo del análisis estadístico y establecer las ecuaciones que representan la disipación de los CHP, se generaron curvas de declinación, que corresponde a modelos de regresión no lineales.

Como criterio para determinar el mejor modelo que se ajusta a los datos se utilizó el coeficiente de determinación (r<sup>2</sup>), que permite medir la fuerza de la relación entre la variable respuesta y las variables independientes (Webster, 2000), para ello se utilizó el software Table Curve v 1.11 Jandel Scientific AISN.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Huerto de manzanos con NBEM

Se comprobó que en los tres tipos de muestras el CV promedio calculado es alto: manzanas (69%), hojas (44%) y

suelo (61%) (Cuadro 4). Ambrus y Lantos (2002), determinó un CV promedio de 30%, para el muestreo de manzanas al utilizar el mismo diseño aplicado en el presente estudio. Al determinar el CVs utilizando las masas encontradas en el presente estudio ( $m_1 = 93$  g y  $m_2 = 5$  g) y al aplicar en ecuación (1), se obtiene un valor de 7.25 %, similar al obtenido por Ambrus y Lantos (2002) para el procesamiento de las muestras previo al análisis químico.

$$CV_S = \sqrt{\left(\frac{21000}{93} + \frac{150}{5}\right)} = 7.25$$

No obstante, cuando se calcula el  $CV_T$ , según ecuación (2) e introduciendo los valores obtenidos para manzanas,  $CV_R$  (69%),  $CV_S$  (7.25%) y CVA (3.66%), se tiene:

$$CV_T = \sqrt{(69^2 - 7.25^2 - 3.66^2)} = 69.5$$

El valor obtenido de  $CV_T$  (69.5%), estaría indicando que el muestreo planteado en el experimento es el de mayor fuente de variación con un 99.3%, siendo la contribución remanente de bajo impacto, tanto para procesamiento de muestras como el del análisis (0,70 %). Se esperaba con la metodología utilizada, obtener un grado de variación para el muestreo en manzanas entre un 84-90%, lo que muestra una potencial fuente de variabilidad encontrada durante el desarrollo temprano de los frutos.

Al desarrollar la representación matemática de la degradación, a través del ajuste según  $r^2$ , y considerando los promedios de la concentración de CHP de cada sustrato en estudio, se obtuvo una alta diversidad en los polinomios al calcular el orden para cada muestra y la ecuación que representa los promedios de residuos de cada sustrato (Cuadro 4). En esta generación de correlaciones

positivas, predominan las ecuaciones de orden 2,5. Estos resultados alteran la tendencia de declinación del CHP, como consecuencia de los valores que exceden la concentración previamente medida en el estudio de declinación. En tal situación se encontraron en hojas 4 resultados mayores, en suelos 6 y manzanas 6 (Cuadro 4), especialmente en los días 10 y 14 post aplicación; es decir durante el período de degradación más lenta, especialmente en las muestras de manzanas y suelos.

La persistencia promedio de los residuos, calculados a partir de las ecuaciones (3) y (4), presentaron para los 7 primeros días de ensayo, una tendencia a bajar bruscamente, con una  $t_{1/2}$  estimada en 1,3; 3,1 y 3,2 días para hojas, suelo y manzanas respectivamente. En cambio, al término del período de estudio (14 días), la  $t_{1/2}$  presentó una tendencia a subir y hacerse más lento el proceso, con valores de 2.3, 4.5 y 5.0 días para hojas, suelo y manzanas respectivamente. Para las manzanas el valor encontrado de  $t_{1/2}$  coincide con lo señalado por Sharma y Amit (2006).

El promedio de  $t_{1/2}$  puede estar influenciado por la distribución del IA sobre la cutícula y ceras de las manzanas, situación por la cual puede tener un efecto mayor sobre los residuos del CHP, a través de la incorporación del IA en el fruto (Riccio *et al.*, 2006).

Al estimar la tasa de pérdida de IA, para todo el período en estudio, en relación a la concentración inicial detectada 2 horas posteriores a la aplicación del IA, se encontró un 98% para las hojas, 88% en suelo y 85% en manzanas. Donde el valor para manzanas es coincidente con la mayor vida media estimada para los frutos.

La representación gráfica (Figura 1) corresponde a la estimación de los mejores ajustes de las curvas de declinación y su respectiva ecuación

**Cuadro 4.** Resumen del procesamiento de datos estructurado según el contenido de residuos de CHP medidos en muestras compuestas de manzanas, hojas y suelo tratadas a través de NBEM.

**Table 4.** Summary of the processing of data structured according to the content of CHP residues measured in samples composed of apples, leaves and soil treated using KSE.

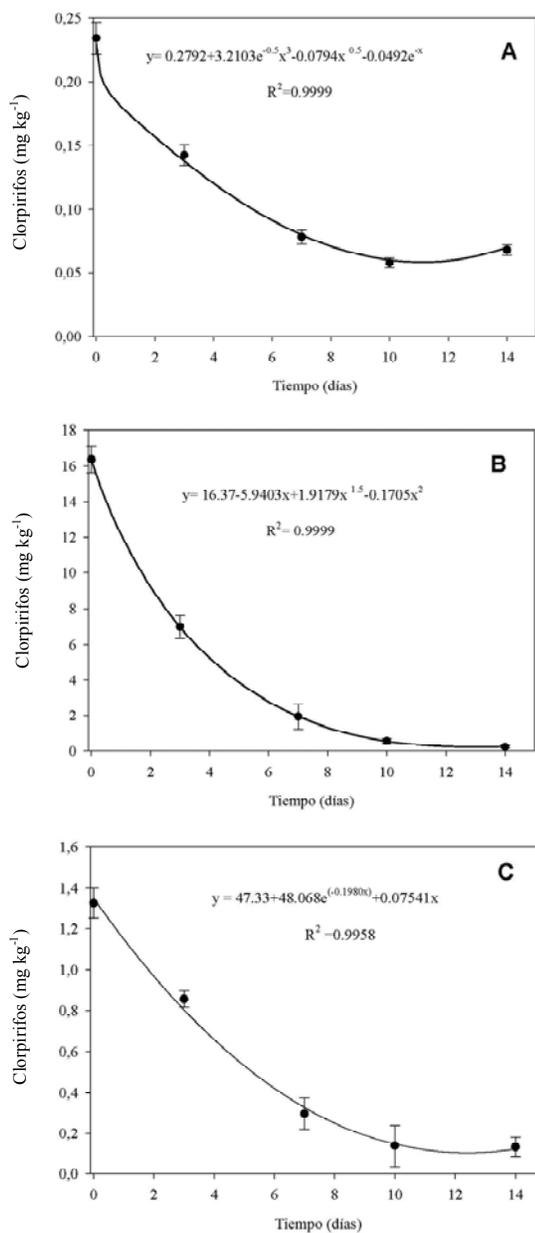
	Manzanas (N= 35)	Hojas (N= 35)	Suelo (N= 35)
<b>Intervalo (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0.21-1.44	0.27- 19.95	0.13-1.11
<b>Y</b>	$y = a+bx+cx^{1.5} +de^x$	$y = a+bx^{1.5} +cx^2+dx^{0.5}$	$y = a+bx^{1.5}+cx^3+dx^{0.5}$
<b>Orden</b>	2.5	2.5 y 3.0	2.5
<b>r<sup>2</sup></b>	0.9999	0.9999	0.9999
<b>N</b>	6	4	6
<b>CV promedio (%)</b>	69	44	61

Intervalo = valor menor y mayor de residuo promedio encontrado, y = ecuación representativa de la degradación, orden = orden polinomio, r<sup>2</sup> = coeficiente de determinación, N = número de valores mayores que los precedentes, CV = coeficiente de variación, NBEM = nebulizadora con bomba de espalda con motor.

matemática de los residuos de CHP a través del tiempo, para los 7 lugares de toma de muestras compuestas. Las manzanas (Figura 1A), muestra en el período más lento una tendencia a elevar los contenidos al término del estudio (día 14), posiblemente debido a la incorporación del IA al fruto (como se señaló anteriormente). En las hojas (Figura 1B), se aprecia una degradación más rápida y de mayor extensión, posiblemente influenciado por la proporción superficie/volumen, aumentando las probabilidades de exposición al medio ambiente.

En el caso del suelo (Figura 1C) presentó al inicio del estudio una alta concentración de residuos, la que pudo ser influenciada por la lluvia que se produjo

entre los días día 11 al 13 de Noviembre de 2004 (correspondiente al 7 día post aplicación, con un promedio de 9.7 mm día<sup>-1</sup>) (Cuadro 2), donde la transferencia del IA desde las hojas hacia el suelo pudo ser consecuencia del arrastre, afectando a las muestras del día 10 en el estudio, situación similar a la encontrada por otros autores (Konda y Pásztor, 2001). También al final del estudio presenta una leve tendencia a subir la concentración del IA (día 14), posiblemente como consecuencia del traspaso de IA desde el follaje, por las características de la aspersión, considerando las gotas de alto tamaño, lo que facilitaría el escurrimiento del IA potenciado por las prácticas de riego tendido (Pedersen *et al.*, 2006; Phillips *et al.*, 2006).



**Figura 1.** Residuos de CHP (mg kg<sup>-1</sup>) medidos en muestras compuestas de: (A) manzanas, (B) hojas y (C) suelo bajo la canopia, tratadas con nebulizadora con bomba de espalda con motor (NBEM).

**Figure 1.** CHP residues (mg kg<sup>-1</sup>) measured in samples composed of: (A) apples, (B) leaves and (C) soil under the canopy treated by means of a knapsack sprayer with engine (KSE).

### Huerto de manzanos con NAV

La determinación de los CV para el período en estudio señalan un 43% en manzanas, 39% en hojas y 35% en suelos (Cuadro 5), valores que a pesar de ser altos, estarían mostrando una relativa homogenización en los tres estamentos estudiados, al considerar los valores alcanzados (35 a 43%). Se destaca que durante el período de intervención se presentaron altas temperaturas ambientales (temperatura promedio entre 17 °C d<sup>-1</sup> la mínima y 23 °C d<sup>-1</sup> la máxima) (Cuadro 2).

A través del cálculo del CVT para el tratamiento con NAV, utilizando la ecuaciones (1) y (2), e incorporando los valores obtenidos para manzanas CVR (43%), y los previamente señalados para CVs (7,25%) y CVA (3,66%), se obtiene un CVT de 42%, lo que demuestra que la mayor incertidumbre corresponde al muestreo con un 98,2 % de participación. El resto de las variables (CV<sub>s</sub>, CV<sub>A</sub>) sólo representan un 1,8 % de la variabilidad total. Se observa que el muestreo es la mayor fuente de variabilidad.

Al desarrollar la representación matemática de la degradación, a través del ajuste según  $r^2$ , y considerando los promedios de la concentración de CHP de cada sustrato en estudio, se obtuvo una alta diversidad en los polinomios al calcular el orden para cada muestra y la ecuación que representa los promedios de residuos de cada sustrato (Cuadro 5). Las correlaciones positivas que mayormente predominan en los tres sustratos son de orden 3. Estos resultados indicarían que la tendencia del promedio de la concentración, se vería afectada como consecuencia de los valores de residuos que exceden la concentración previamente medida. En tal situación se encontraron en hojas 3 resultados, en suelos 7 y manzanas 10 (Cuadro 5), especialmente en los días 10 y 14 post aplicación, es

decir durante el período de degradación más lenta, especialmente en las muestras de manzanas y suelo. A pesar a que el tratamiento con NAV, presenta un alto número de valores de residuos superiores que la concentración previamente medida en el suelo y considerando la menor cantidad promedio de residuo inicial (0,13 mg kg<sup>-1</sup>), se estaría confirmando que la metodología analítica no afecta la variabilidad total, considerando los bajos valores de residuos analizados. Por otra parte, el follaje recibe un alto volumen promedio de residuos de CHP (25,11 mg kg<sup>-1</sup>), sin embargo, su CV (39%) es el más bajo de los estratos medidos, lo que podría significar una buena homogenización, a lo que se agrega, que la metodología NAV, entrega gotas de tamaño pequeño por la mayor presión del sistema, que se traduce en un mejor cubrimiento de las superficies.

Al calcular la persistencia de los residuos, a través de la  $t_{1/2}$  a partir de las ecuaciones (3) y (4), las muestras de manzanas, hojas y suelo presentaron los siguientes valores secuenciales: 7 primeros días 3,5; 1,2 y 7,8 días; 7 días posteriores 8,3; 2,7 y 11,2 respectivamente. La representación (Figura 2), corresponde a la estimación de los mejores ajustes de las curvas de declinación y su respectiva ecuación matemática de los residuos de CHP a través del tiempo, para los 7 lugares de toma de muestras compuestas. En consecuencia las manzanas (Figura 2A), presentan una degradación rápida en el primer período de declinación y en el segundo período aumenta sustancialmente su vida media, lo que indicaría mayor persistencia en los frutos con madurez, mostrando a contar del día 14 una tendencia a subir, situación que puede ser el resultado de la incorporación del IA en el fruto (Riccio *et al.*, 2006). Al estimar la degradación total considerando la concentración que llega al sustrato por la

**Cuadro 5.** Resumen del procesamiento de datos en base al contenido de residuos de CHP medidos en muestras compuestas de manzanos, hojas y suelo tratadas a través de NAV.

**Table 5.** Summary of the processing of data based on the content of CHP residues measured in samples composed of apples, leaves and soil treated using HVS.

	Manzanos (N= 35)	Hojas (N= 35)	Suelo (N= 35)
Intervalo (mg kg <sup>-1</sup> )	0.15-0.61	0.73-25.4	0.07-0.13
Y	$y = a+bx^2+cx^3+de^x$	$y = a+bx^{1.5}+cx^{0.5}+de^{-x}$	$y = a+b^x+cx^{1.5}+de^x$
Orden	3	2.5 y 3	3
r <sup>2</sup>	0.9820	0.9999	0.9999
N	10	3	7
CV promedio (%)	43	39	35

Intervalo = valor menor y mayor de residuo promedio encontrado, y = ecuación representativa de la degradación, orden = orden polinomio, r<sup>2</sup> = coeficiente de determinación, N = número de valores mayores que los precedentes, CV = coeficiente de variación, NAV = nebulizadora de alto volumen.

aplicación, en relación a la concentración al final del estudio, se alcanzó un valor de 69%, lo que indicaría una baja degradación considerando las condiciones ambientales.

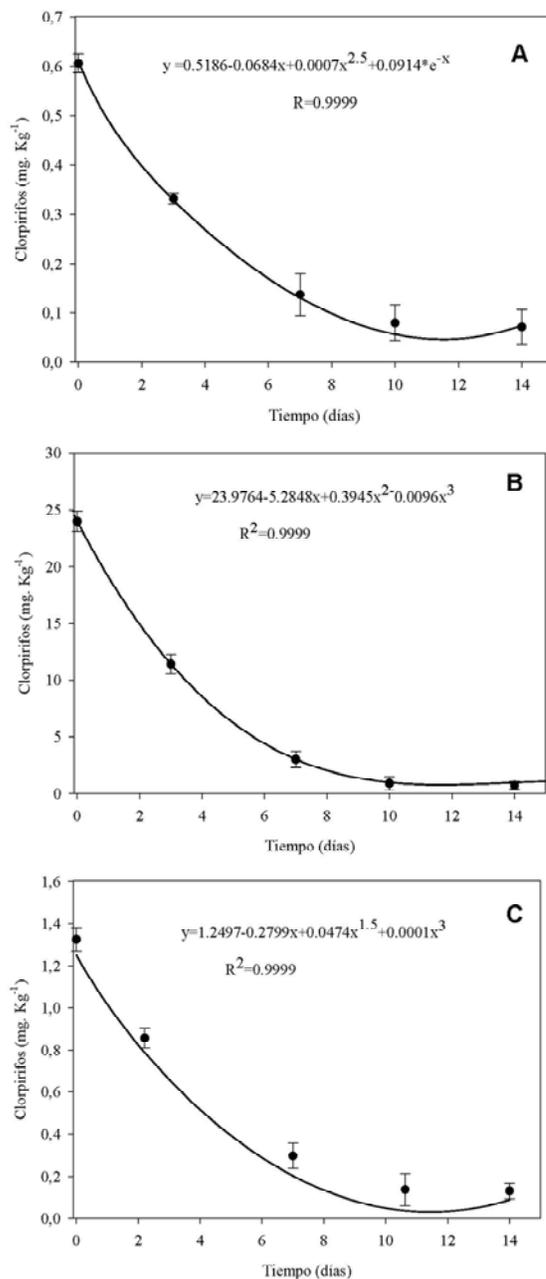
Las hojas (Figura 2B) muestran una tendencia rápida de la vida media de disipación para el primer período y levemente más alta para el segundo período, con una tasa de disipación total, en relación a la concentración inicial, de 97%; la representación de las hojas muestra una estimación más uniforme de la curva de declinación

El estudio del suelo (Figura 2 C) mostró valores de vida media mayores para los dos períodos, posiblemente afectado por las características físicas y químicas del suelo, que retendrían el IA, alcanzando un valor de degradación de sólo un 46% con relación a la concentración inicial, que llega en forma natural al sustrato suelo post aplicación, o podría ser consecuencia de un traspaso de IA desde el follaje, considerando las altas concentraciones que llegan al sustrato hojas al aplicar la metodología NAV.

## CONCLUSIONES

Los residuos de CHP presentaron alta variación en su comportamiento de degradación en relación a lo esperado al aplicar una metodología de muestreo validada de relativamente baja incertidumbre. Lo que estaría indicando que aún se requiere de una línea base para sistemas de muestreo en la práctica de ensayos supervisados que se desarrollan en la Región del Bío-Bío, donde normalmente se considera el levantamiento de muestras con base aleatoria destinadas a obtener información tendiente a establecer la efectividad del IA y tiempos de carencia.

Según los CVs obtenidos, se aprecian diferencias marcadas en la primera etapa de degradación del CHP en relación a la segunda, lo que aunado a la expresión de los modelos matemáticos, a través de su mejor ajuste, presentaron también diferencias y por lo tanto incertidumbre involucrada, que podría asociarse a un potencial riesgo ambiental, lo que significaría inferir que el desarrollo de



**Figura 2.** Residuos de CHP (mg kg<sup>-1</sup>) medidos en muestras compuestas de: (A) manzanas, (B) hojas y (C) suelo bajo de la canopia, tratadas con nebulizadora de alto volumen (NAV).

**Figure 2.** CHP residues (mg kg<sup>-1</sup>) measured in samples composed of: (A) apples, (B) leaves and (C) soil under the canopy treated by means of a high volume sprayer (HVS).

ensayos supervisados debe considerar la validación metodológica de carácter regional.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo forma parte de la Tesis de Doctorado en Ciencias Ambientales del Centro EULA-Chile de la Universidad de Concepción. Los autores agradecen al Departamento de Investigación de la Universidad del Bío-Bío. (DIUBB) por el soporte financiero, al Departamento de Ingeniería en Alimentos, de la Universidad del Bío-Bío, al Departamento de Suelos y Recursos Naturales, y Departamento Producción Vegetal, de la Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, por facilitar el campo experimental y el Laboratorio de Suelos respectivamente.

## REFERENCIAS

- Ambrus, A., Lantos, J. 2002.** Evaluation of studies on decline of pesticide residues. *J. Agri. Food Chem.* 50, 4846-4851.
- Arias-Estévez, M., E. López-Periago, E. Martínez-Carballo, J. Simal-Gándara, J. C. Mejuto and L. García-Río. 2008.** The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123, 247-260.
- Barra, R. 1993.** Estimación del riesgo de contaminación de aguas superficiales por pesticidas en una cuenca experimental. Tesis Doctoral en Ciencias Ambientales. Universidad de Concepción, Centro Eula-Chile, Concepción, Chile, 180 p.
- Ciglasch, H., Busche, J., Amelung, W., Totrakool, S. and Kaupenjohann, M. 2006.** Insecticide dissipation after repeated field application to a Northern Thiland Ultisol. *J Agri Food Chem* 54,8551-8559.
- Curkovic, T., 1996.** Degradación y evaluación de residuos de pesticidas en Chile. *Avances en Sanidad Vegetal de Frutales y Vides.* Facultad de Ciencias Agronómicas y Forestales, Universidad de Chile, Santiago, Chile. p. 71-73.
- Del Pozo, A., Del Canto, P., 1999.** Agroclimáticas y Sistema Productivo en la VII y VIII Regiones. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación Quilamapu, Ministerio de Agricultura, Chillán, Chile, 50 p.
- FAO. 1981.** Orientaciones para la experimentación de residuos de plaguicidas para información de registros y establecimientos de LMRs. *Bol Fitosan* (29), 12-27.
- González, R. 1988.** Ensayos supervisados sobre degradación y Límites máximos de residuos de pesticidas en frutas y hortalizas de exportación. Publicaciones Miscelaneas Agrícolas N° 24, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile, Santiago, Chile, 40 p.
- González, R., Denté J. 1989.** Manejo de plagas del kiwi en Chile: degradación de residuos de Chlorpyrifos y Phosmet. *Revista Frutícola* 2(10),35-43.
- González, R. 1995.** Incremento de uso de pesticidas en huertos frutales de exportación. *Revista Frutícola* 16(2),73-77.
- González, R., 2002.** Degradación de residuos de plaguicidas en huertos frutales en Chile. Serie de Ciencias Agronómicas N° 4. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile, ed. Ograma, 163 p.
- Junod, J., Zagal, E., Sandoval, M., Barra, R., Vidal, G., Villarroel, M. 2009.** Efecto de los niveles de riego sobre la distribución de carbono orgánico disuelto en el suelo y la movilidad en profundidad de clorpirifos. *Chilean J. of Agricultural Research* (en prensa).
- Konda, L., Pásztor, Z. 2001.** Enviromental distribution of acetochlor, atrazine, chlorpyrifos and propisochlor under field conditions. *J. Agri. Food Chem.* 49,3859-3863.
- Montemurro, N., Griego, F., Lacertosa, G., Visconti, A. 2002.** Chlorpyrifos declines curves and residue levels from different commercial formulations applies to oranges. *J. Agri. Food Chem.* 50, 5975-5980.
- Pedersen, J., Yeager, M., Suffet, I. 2006.** Organophosphorus insecticides in agricultural and residential runoff: field observation and implication for total maximum daily load development. *Environ. Sci. and Technol.* 40 (7), 2120-2127.

- Phillips, B., Anderson, B., Hunt, J., Huntley, S., Tjeerdema, R., Kapellas, N., Worcester, K. 2006.** Solid-phase sediment toxicity identification evaluation in an agricultural stream. *Environ. Toxicol. Chem.* 25,1671-1676.
- Riccio, R., Trevisan, M., Capri, E. 2006.** Effect of surface waxes on the persistence of chlorpyrifos-methyl in apples, strawberries and grapefruits. *Food Addit. Contam.* 23,683-692.
- SAG. 2006.** Declaración de ventas de plaguicidas agrícolas enero a junio 1999. 2002. Departamento de Protección Agrícola, Subdepartamento Plaguicidas y Fertilizantes, Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Santiago, Chile, 140 p.
- Sharma, I., Amit, N. 2006.** Persistence of different pesticides in apple. *Acta Horticult.* 696, 437-440.
- Steinwandter, H. 1985.** Universal 5-min on-line method for extracting and isolating pesticide residues and industrial chemicals. *Fresenius J. Anal. Chem.* 336,8-11.
- Steinwandter, H. 1990.** Contribution to the on-line method for extraction and isolation of pesticides residues and environmental chemicals. II Miniaturization of the on-line method. *Fresenius J. Anal. Chem.* 336,8-11.
- Stolpe, N. 2006.** Descripciones de los principales suelos de la VIII Región de Chile. Publicaciones del Departamento de Suelos y Recursos Naturales. Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, ed. Trama Impresores S.A., Chillán, Chile, 84 p.
- USEPA. 2001.** Agreement reached to eliminate dursban pesticide for nearly all household uses. EPA newsroom. Available in: <http://www.epa.gov/epophome/headline0608.htm> Accessed: July 15, 2004.
- USEPA. 2004.** Office of pesticide programs. Chlorpyrifos summary. Available in: <http://www.epa.gov/pesticideop/chlorpyrifos/summary.htm> Accessed: July 15, 2004.
- Wheeler, W. 2002.** Role of research and regulation in 50 years of pest management in agriculture. *J. Agri. Chem.* 50,4151-4155.
- Webster, A. 2000.** Estadística Aplicada a los Negocios y la Economía (3ª ed.). Bogotá, Colombia. eds. McGraw- Hill, 651 p.