

LIBERACIÓN CONTROLADA DEL HERBICIDA 2,4-D USANDO LIGNINA COMO MATRIZ: CINÉTICA DE LIBERACIÓN Y ESTUDIOS DE LIXIVIACIÓN

Graciela Palma y Ricardo Ceballos

Departamento de Ciencias Químicas. Universidad la Frontera. Casilla 54-D. Temuco.
Chile. E-mail: gpalma@ufro.cl

Controlled release of 2,4-D herbicide using lignin as matrix: Release kinetic and leaching studies

Keywords: Kraft lignin, granular formulations, herbicides, soil contamination.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate Kraft lignin from pulping processes as support for the preparation of controlled release herbicidal formulations and their assessment through kinetic and soil column leaching studies. Five controlled release formulations were prepared using kraft lignin as carrier and 25-45% of 2,4-D (LH25-LH45 formulations) by a melting process. LH45 and LH35 formulations were selected for kinetic studies and the LH35 formulation release rate was greater than that of the LH45. For leaching studies in soil columns, the LH45 formulation was selected and compared with the commercial formulation. At the end of the experiment, in the latter treatment, the total amount of herbicide leached from the soil column was 39.2% while 5.7% was retained. For the LH45 formulation, 2,4-D was not detected in the leached, with 13.2% of the herbicide being retained. These results indicate that the lignin formulations retarded herbicidal leaching in soil columns.

Palabras claves: Lignina kraft, formulaciones granulares, herbicidas, contaminación de suelos.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de lignina kraft proveniente del proceso de obtención de pulpa de papel, como soporte en la preparación de formulaciones de liberación controlada de herbicidas, y su evaluación a través de estudios cinéticos y de lixiviación en columnas de suelo. Se prepararon cinco formulaciones de liberación controlada utilizando lignina kraft como soporte y un 25-45% de 2,4-D (Formulaciones LH25-LH45), mediante la técnica de fusión. Se seleccionaron las formulaciones LH45 y LH35 para los estudios cinéticos, encontrándose que 2,4-D se libera más rápidamente desde la formulación LH35 que de la formulación LH45. Para los estudios de lixiviación en columnas de suelo, se seleccionó la formulación LH45 que fue comparada con la formulación comercial. Al final del experimento, en esta última formulación se detectó un 39,2 % de herbicida en los lixiviados y un 5,7 % retenido en el suelo. Para la formulación LH45, no se detectó 2,4-D en los lixiviados, quedando retenido un 13,2 % de herbicida en la columna. Estos resultados indican que la formulación de lignina retardó la lixiviación del herbicida.

INTRODUCCIÓN

Las formulaciones de liberación controlada (LC) de herbicidas tienen el potencial para reducir los problemas ambientales asociados a la aplicación de herbicidas junto con disminuir cualquier efecto lateral producto de su aplicación, como fitotoxicidad sobre la planta y microorganismos del suelo (Bahadir y Pfister, 1990). Existen varias ventajas asociadas al uso de las formulaciones de LC que incluyen la aplicación de dosis menores, la disminución de la lixiviación del herbicida y un aumento en la persistencia del ingrediente activo (i.a.), en la matriz (Schreiber et al., 1993, Stork, 1998).

El uso de polímeros naturales en la preparación de formulaciones de LC es un área en la cual se espera un gran desarrollo, en especial al utilizar residuos, tanto de origen agrícola como forestal (Gerstl et al., 1998, Dowler et al., 1999, Palma et al., 2002). Una de las matrices poliméricas más utilizadas es la lignina ya que forma parte de gran cantidad de residuos provenientes de diversos cultivos y del procesamiento de productos agrícolas y forestales (Riggle y Penner, 1988; Cotterill y Wilkins, 1996). La lignina kraft es un subproducto generado en el proceso de obtención de pulpa de celulosa y que por sus propiedades fisicoquímicas constituye un soporte apropiado para la obtención de formulaciones de LC. Algunos herbicidas disuelven a la lignina al ser calentada a la temperatura de fusión del herbicida. Al enfriarse la mezcla se obtiene una matriz vítrea que puede ser granulada; y desde la cual el herbicida es liberado por difusión (Cotterill y Wilkins, 1996).

El 2,4-D es un herbicida fenoxiacético, formulado como sal de amina, es de aplicación foliar, utilizado para el control de malezas de hoja ancha. Es degradado rápidamente por los microorganismos del suelo y está clasificado como moderadamente tóxico (Crespin et al., 2001).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la factibilidad de utilizar lignina kraft como soporte en la preparación de formulaciones

de LC por fundido del herbicida 2,4-D, y la evaluación de las formulaciones obtenidas, a través de estudios cinéticos y de lixiviación en columnas de suelo.

METODOLOGÍA

Preparación de las formulaciones

La lignina se obtuvo por precipitación desde el licor negro proveniente del proceso de pulpaje kraft, agregando H₂SO₄ al 10%, calentando a 80°C y filtrando el sólido formado. La preparación de las formulaciones se realizó fundiendo el herbicida a 140°C, seguido de la adición de lignina, formando una matriz homogénea, por agitación manual. Se prepararon cinco formulaciones con un 25, 30, 35, 40 y 45% de herbicida. Posteriormente las formulaciones fueron molidas en un mortero y tamizadas, seleccionando gránulos entre 1,0-0,7 mm.

La cuantificación del herbicida efectivamente incluido en la matriz se determinó por extracción con etanol, utilizando 50 mg de cada muestra, en un baño ultrasonido durante 30 minutos. Este procedimiento se repitió tres veces, determinando el herbicida total extraído.

Cinética de liberación de 2,4-D en agua

Las formulaciones LH35 y LH45 fueron puestas en frascos de vidrio, considerando un número suficiente para trabajar en triplicado y muestrear hasta que por lo menos el 60% del herbicida haya sido liberado, por lo que se prepararon 100 frascos por formulación. En cada frasco se pesaron 50 mg de formulación y se agregaron 20 mL de agua. Las muestras se mantuvieron sin agitación a 25°C, determinando el herbicida liberado en el agua en función del tiempo. El análisis del herbicida fue realizado por HPLC (Palma et al., 2004).

Estudios de lixiviación en columnas de suelo

El estudio de lixiviación se realizó en columnas de suelo no disturbadas, utilizando tubos de PVC de 50 cm de longitud y 10 cm de diámetro. Para ello se procedió según la metodología descrita por Chong et al. (1996) diseñando un sistema de soporte de la columna y utilizando una prensa hidráulica que ayuda a la penetración de la columna en el suelo. Previamente a la aplicación del herbicida, las columnas fueron saturadas con agua y una vez drenadas durante 24 horas se aplicó el herbicida. Sobre la superficie de la columna se aplicaron las formulaciones de herbicida en dosis equivalente a la dosis de campo de la formulación comercial (1,5 L/ha). Se aplicó el equivalente a 560 µg de ingrediente activo (i.a.). Los gránulos de la formulación LH45 fueron depositados sobre la superficie de la columna y distribuidos homogéneamente; la formulación comercial (sal dimetilamina del ácido 2,4-D; 480 g i.a./L), fue mezclada con agua y asperjada sobre la superficie de la columna. Se agregaron 50 mL de agua diariamente a cada columna, durante 30 días. El agua colectada fue filtrada y analizada por HPLC (Palma et al., 2004). Al término del experimento las columnas de suelo se dejaron escurrir y posteriormente fueron fraccionadas cada 10 cm. Las fracciones de suelo fueron extraídas con una mezcla de metanol-agua acidificada y analizadas por HPLC. El agua fue acidificada con ácido sulfúrico concentrado hasta pH 2,0. El suelo utilizado corresponde a la serie Vilcún el cual fue caracterizado en el laboratorio de análisis de suelos de la Universidad de la Frontera (pH 5,4; 15% de materia orgánica).

Estadística

Las cinéticas de liberación para las formulaciones LH35 y LH45 se compararon mediante la prueba t-student con un 99% de confianza.

Para el estudio en columnas de suelo se realizó un diseño completamente al azar

con estructura factorial con dos factores, formulación y profundidad, siendo la unidad experimental la columna de suelo. Las formulaciones se compararon mediante análisis de varianza a un 95% de confianza, en las diferentes fracciones de suelo. Las medias se compararon mediante la prueba de diferencias mínimas significativas, (LSD) a un 95% de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSION

Inicialmente se prepararon cinco formulaciones utilizando un 25-45% de herbicida respecto al total de la formulación, (LH25, LH30, LH35, LH40, LH45). Posteriormente las formulaciones fueron seleccionadas por su homogeneidad la que se estimó visualmente. Las formulaciones que contenían sobre un 35% de herbicida presentaron un aspecto homogéneo. Para realizar los estudios cinéticos se seleccionaron las formulaciones LH35 y LH45.

Debido a que el i.a. es calentado hasta 140°C, se producen pérdidas por vaporización y degradación por lo que es necesario determinar el porcentaje de i.a., que efectivamente ha quedado en la matriz, considerándose aceptable valores sobre un 70% (Alvarez, 1994). El porcentaje de pérdida del i.a. para la formulación LH35 y LH45 fue de un 10% y 15%, respectivamente. Este valor fue corregido para los cálculos posteriores.

En la Figura 1 y 2 se muestra la cinética de liberación del 2,4 D para la formulación LH45 y LH35, respectivamente. Para la formulación LH45 el 50% del i.a., (T50) se libera a los 60 días y para la formulación LH35 a los 45 días. Estudios similares realizados utilizando lignina kraft comercial (Indulin AT) y el herbicida clorsulfuron, para formulaciones con un 50% de i.a., indicaron un T50 de 106 días (Cotterill y Wilkins, 1996). Los factores incidentes en el T50 son principalmente la solubilidad del herbicida y las características fisicoquímicas de la matriz, junto con la afinidad entre la matriz y el herbicida, al calentar la mezcla. Al comparar las formulaciones LH45 y LH35 se observa por

ejemplo, que al día 10 se ha liberado un 10% y un 20% de i.a. respectivamente. Estos resultados son explicados por la relación de concentración entre el herbicida y la matriz, ya que se obtiene una formulación más homogénea cuando ésta es cercana a uno. Al comparar la formulación LH45 y LH35 respecto al i.a. liberado diariamente, se encontró que el primer día se libera un 3,6 y 10% respectivamente, sin embargo, ambas formulaciones, pasados los 60 días se estabilizan, liberando aproximadamente un 1% de i.a. diariamente (Zhao y Wilkins, 2000).

A partir de estos resultados se determinaron las constantes de velocidad de difusión, aplicando el modelo cinético $Q = KT^{1/2}$, utilizado para determinar la difusión de un i.a. desde una matriz polimérica (Schwartz y Col, 1968, Oliveira et al., 2000). Q representa la cantidad de i.a. liberado, K a la constante de difusión y $T^{1/2}$ a la raíz cuadrada del tiempo. Al realizar el ajuste al modelo se obtuvo un coeficiente de correlación 0,93 y 0,97 para la formulación LH45 y LH35 respectivamente. La pendiente de la recta

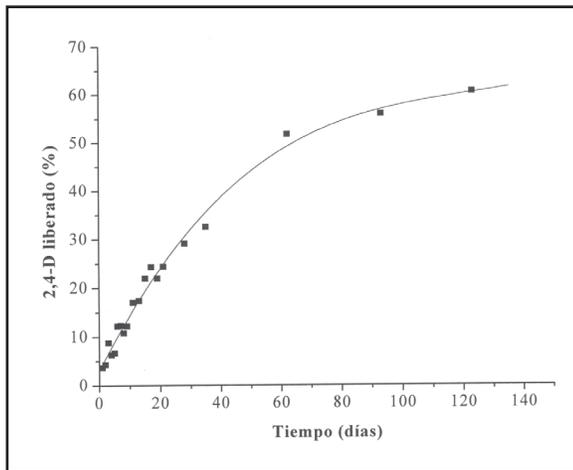


Figura 1: Cinética de liberación de 2,4-D en agua, para la formulación LH45 a 25°C
Figure 1: Rate of release of 2,4-D, in water from LH 45 formulation at 25°C

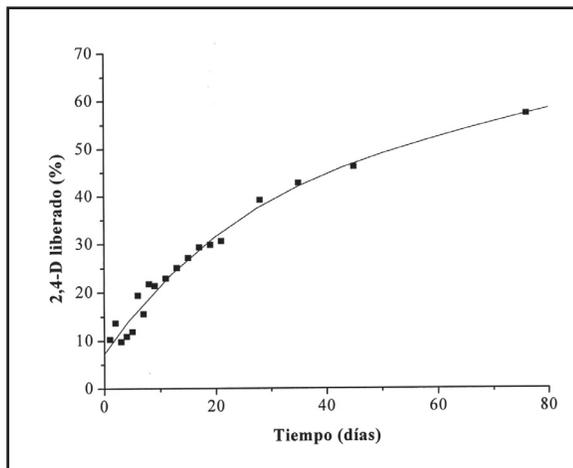


Figura 2: Cinética de liberación de 2,4-D en agua, para la formulación LH35 a 25°C
Figure 2: Rate of release of 2,4-D, in water from LH 45 formulation at 25°C.

corresponde a la constante de velocidad que para la formulación LH45 tuvo un valor de 5,0 y para la formulación LH35 de 7,1. Esto significa que el i.a. se libera más rápidamente de esta última formulación (Figura 3 y Figura 4). Al comparar las constantes mediante la prueba t-student, se encontraron diferencias significativas, con un 99% de confianza. Estos valores son similares a los obtenidos con diuron y lignina comercial Indulin AT, para formulaciones LH45 y LH35, obteniéndose un K de 4,6 y 6,4, res-

pectivamente (Alvarez, 1994).

Los estudios de lixiviación en columna fueron realizados para la formulación LH45 y la formulación comercial (sal de amonio), en un suelo de la serie Vilecún, sin esterilizar (pH 5,4 ; 15% MO). Para la formulación LH45 no se detectó herbicida en los lixiviados, durante todo el período de estudio. Para la formulación convencional se detectó un 40% en los lixiviados, respecto a la cantidad inicial de i.a. (Cuadro 1).

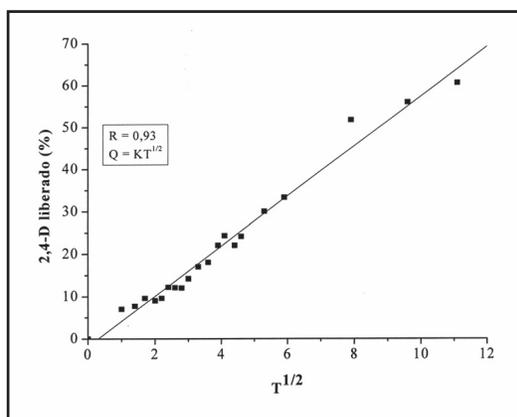


Figura 3: Determinación de la constante de velocidad (K) para la formulación LH45
Figure 3: Release rate constant (K) for LH45 controlled release formulation.

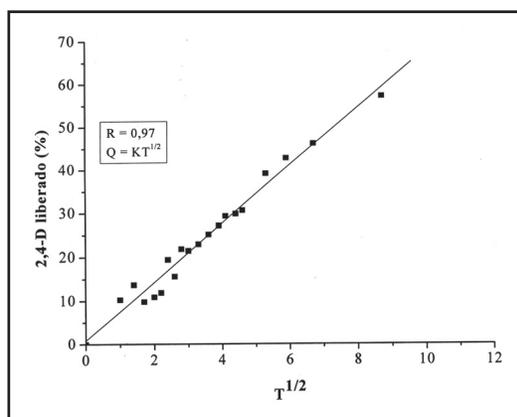


Figura 4: Determinación de la constante de velocidad (K) para la formulación LH35.
Figure 4: Release rate constant (K) for LH35 controlled release formulation.

Cuadro 1: 2,4-D detectado en los lixiviados para las formulación comercial y LH45.

Table 1: 2,4-D leached from soil column for commercial and LH45 formulations .

Días	Microgramos (μg) ^a	
	Formulación	Formulación
	LH45	Comercial
10	-	-
12	-	5 (9)*
15	-	26 (13)
18	-	73 (52)
22	-	65 (18)
26	-	35 (10)
30	-	17 (2)
Total ((μg))	-	221
Total (%)	0	40

*Desviación estándar

Por otra parte se encontró que para la formulación LH45 un 14% del herbicida permanece en la columna, después de los 30 días, siendo mayor que para la formulación comercial, donde se encontró un 6% de i.a. Al realizar el análisis de varianza se encontraron diferencias significativas entre ambas formulaciones, para las dos primeras fracciones de la columna. El balance de masa indica que un 54% y un 86% del herbicida no fue detectado para la formulación comercial y la formulación LH45, respectivamente.

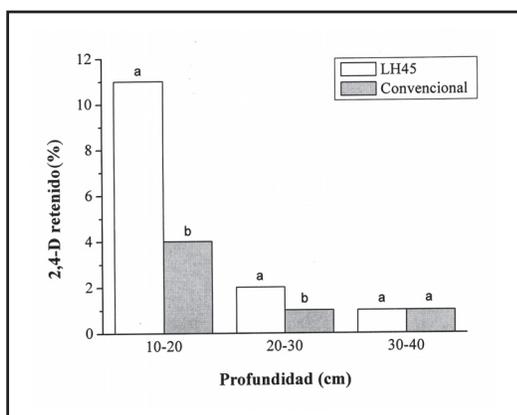


Figura 5: Distribución de 2,4-D a diferentes profundidades de las columnas de suelo, para la formulación comercial y la formulación LH45, a los 30 días de iniciado el experimento. Cifras con letras distintas indican diferencias significativas, LSD a 5% de significancia.

Figure 5: The distribution of 2,4-D with depth in soil column, from a commercial formulation and LH45 controlled release formulation, after 30 days at the beginning of the experiment. Values followed by different letters are significantly different, LSD to 5%.

Estos resultados indican que la lignina protegería al herbicida de la lixiviación, dado el mecanismo involucrado en la liberación del i.a. desde la matriz, lo que tiene como consecuencia una lenta liberación a la solución acuosa. Dos posibles mecanismos de liberación han sido señalados para este tipo de formulación, la difusión de i.a. a través de la matriz y la hidrólisis del éster formado entre los grupos fenólicos de la lignina y los grupos carboxílicos del agente activo. Este éster se produce durante el proceso de formulación debido a la alta temperatura de fundido (Boydstone, 1992, Oliveira et al., 2000). Por otra parte, se han encontrado bajos porcentajes de recuperación de herbicidas desde formulaciones de liberación controlada en columnas de suelo para diversos sistemas (Jhonson y Pepperman, 1995; Selim et al., 1998). El bajo porcentaje de recuperación es atribuido a las características de las formulaciones mencionadas anteriormente y que dificultan la extracción del herbicida, requiriéndose un número mayor de extracciones.

Los resultados obtenidos en los estudios de lixiviación, cuando se aplicó la formulación comercial pueden ser explicados por la alta tasa de degradación microbiana en suelos con elevado contenido de materia orgánica y a sus propiedades ácidas que

evitan su adsorción en los coloides del suelo (Wienhold y Gish, 1992; Tomlin, 1994; Crespín et al., 2001). Al respecto se ha señalado que 2,4-D es más bien potencialmente móvil y de rápida degradación, con una vida media relativamente corta de 7-20 días en suelo con contenidos de materia orgánica de 3-10% (Boivin et al., 2005). Además la mineralización parece ser el proceso principal que limita su biodisponibilidad, se estima que aproximadamente un 50% del herbicida se mineraliza a los 10 días después de la aplicación del producto (Voos y Groffman, 1997).

CONCLUSIONES

La lignina kraft proveniente del licor negro del pulpaje kraft es un soporte apropiado para la preparación de formulaciones de liberación controlada, por fundido del herbicida 2,4-D sobre un 35% de i.a. Por otra parte, del estudio en columnas de suelo se concluyó que la formulación LH45 disminuyó la lixiviación del herbicida respecto a la formulación convencional.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por Proyecto DIUFRO 120522

BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ, A. 1994. Obtenção e avaliação de formulações de liberação controlada de diuron- lignina. Tesis Mestrado em Biotecnologia Industrial. Universidade de Lorena. Brasil. 125 p.
- BAHADIR, M., PFISTER, G., 1990. Controlled release formulations of pesticides. In *Controlled Release, Biochemical Effects of Pesticides and Inhibition of Plant Pathogenic Fungi; Chemistry of Plant Protection*; Bowers, W. S., Ebing, W., Martin, D., Wegler, R., Eds.; Springer Verlag: New York, pp 1-60.
- BOIVIN, A., AMELLAL, S., SCHIAVISON, M., GENUTCHEN, M. 2005. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Env. Pollut.* 138: 92-99.
- BOYDSTONE, R. A. 1992. Controlled release starch granule formulations reduce herbicide leaching in soil columns. *Weed Technol.* 6:317-321.
- CHONG, S., ZHAO, S., KLUBEK, B. 1996. Field extraction of large intact soil cores for leaching studies in the laboratory. *Weed Technol.* 10: 210-216.
- COTTERILL, J., WILKINS, R. 1996. Controlled release of phenylurea herbicides from a lignin matrix: release kinetic and modification with urea. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2908-2912.
- CRESPIN, M., GALLEGOS, M., VARCARCEL, GONZALEZ J. 2001. Study of the degradation of the herbicides 2,4-D and MCPA at different depths in contaminated agricultural soil. *Environ. Sci. Technol.* 35: 4265-4270.
- DOWLER, C., DAILEY, O., MULLINIX, B. 1999. Polymeric microcapsules of alachlor and metolachlor: preparation and evaluation of controlled release properties. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2908-2913.
- GERSTL, Z., NASSERA, M., MINGELGRIN, U. 1998. Controlled release of pesticides into water from clay polymer formulations. *J. Agric. Food Chem.* 46: 3803-3809.
- JHONSON, R., PEPPERMAN, A. 1995. Soil column mobility of metribuzine from alginate encapsulated controlled release formulations. *J. Agric. Food Chem.* 43: 241-246.
- OLIVEIRA, S., PEREIRA F., FERAZ, A., SILVA, T., GONCALVES, A. 2000. Mathematical modeling of controlled release system of herbicides using lignin as matrices. *Applied Biochem. Biotechnol.* 84: 595-614.
- PALMA, G., SANCHEZ, A., OLAVE, Y., ENCINA, F., PALMAR., BARRA, R. 2004. Pesticide levels in surface waters in an agricultural-forestry basin in southern Chile. *Chemosphere* 57: 763-770.
- PALMA, G., ALVEAR, M., SALAZAR, I. 2002. Utilización de desechos celulósicos en la preparación de formulaciones de liberación controlada de los herbicidas simazina y trifluralina. *Bol. Soc. Chil. Quim.* 47: 175-180.
- RIGGLE, B., PENNER, D. 1988. Controlled release of three herbicides with kraft lignin PC940. *Weed Sci.* 36: 131-136.
- SCHREIBER, M., HICKMAN, M. V., VAIL, G. 1993. Starch encapsulated atrazine: efficacy and transport. *J. Environ. Qual.* 22: 443-453.
- SCHWARTZ, J., COL, I. 1968. Drug release from wax matrices and analysis of data with first order kinetic and with the diffusion controlled model. *J. Pharm. Sci.* 57:274-277.
- SELIM, H., MCGOWEN, S., JHONSON, R. 1998. Fate of metribuzin from alginate controlled release formulations in sharkey soil: 2. Transport. *Soil Sci.* 163: 535-541.
- STORK, P. R. 1998. Bioefficacy and leaching of controlled release formulations of triazine herbicides. *Weed Res.* 38: 433-441.
- TOMLIN, C. 1994. *The pesticide manual*, 10th ed. Crop Protection Publication. Cambridge, UK.
- VOOS, G., GROFFMAN, P. 1997. Dissipation of 2,4-D and dicamba in a heterogeneous landscape. *Appl. Soil. Ecol.* 5: 181- 187.
- WIENHOLD, B., GISH, T. 1992. Effect of water potencial, temperatura, and soil microbial activity on release of starch encapsulated atrazine and alachlor. *J. Environ. Qual.* 21: 382-386.
- ZHAO, J., WILKINS, M. 2000. Controlled release of herbicide from matrix granules based on solvent fractionated organosolv lignin. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3651-3661.