

BIOLECHOS PARA LA DEGRADACIÓN DE EFLUENTES CON GLIFOSATO

Suligoy Melisa^{A,B}

^AFacultad de Ingeniería y Cs. Hídricas UNL

^BINTEC. UNL - CONICET

Área: Ingeniería

Sub-Área: Ambiental

Grupo: X

Palabras clave: biolechos, glifosato, lombrices.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de biopurificación (BPS) o biolechos, son construcciones simples y económicas tendientes a recolectar, retener y degradar líquidos residuales con altas concentraciones de pesticidas generados en la manipulación antes y después de su aplicación en campo. Son excavaciones impermeabilizadas rellenas de una capa de arcilla, una matriz biológicamente activa (biomezcla) y una capa de cubierta vegetal. La arcilla, debido a su baja permeabilidad y gran capacidad de retención, representa una capa impermeable que disminuye el flujo descendente de líquidos e incrementa el tiempo de residencia de los pesticidas en el biolecho. La biomezcla, el componente más importante, permite la retención y posterior degradación de los pesticidas por la acción de los microorganismos que allí se desarrollan. La biomezcla original (de origen sueco) está compuesta por paja (material lignocelulósico), suelo y turba (sustrato orgánico humidificante), en una proporción de 50:25:25 % volumen. La paja estimula la actividad microbiana, especialmente la de hongos lignolíticos que producen enzimas degradadoras de lignina y gran variedad de pesticidas. El suelo provee capacidad de retención y es fuente de otros microorganismos degradadores. La turba contribuye con capacidad de retención y a mantener la humedad de la mezcla. La capa final de césped mantiene la humedad y sirve como indicador de derrames. La clave para implementar estos sistemas en Argentina es proponer diseños con materiales disponibles en la región y de bajo costo.

OBJETIVOS

El presente trabajo consiste en evaluar el comportamiento de diferentes biomezclas construidas con materiales propios de la zona para lograr la degradación de altas concentraciones de glifosato simulando lo que sería un posible derrame accidental del pesticida. Además resulta de gran interés la incorporación de lombrices de tierra (especie *Eisenia fetida*) para testear su potencial efecto sinérgico en la degradación de glifosato. El comportamiento de las biomezclas se evaluó mediante mediciones en el tiempo de la concentración de glifosato, AMPA (ácido aminometilfosfónico, principal metabolito de la degradación de glifosato) y actividad biológica.

Proyecto: Sistemas de biopurificación y combinación de procesos fisicoquímicos para el tratamiento de efluentes con agroquímicos

Directores del proyecto: Dra. Cristina Zalazar – María de los Milagros Ballari

Director del becario/tesista: Dra. Maia Lescano

METODOLOGÍA

Se prepararon cuatro biomezclas por duplicado a escala de laboratorio con paja de alfalfa (P) y rastrojo de trigo (Ra) como materiales lignocelulósicos, resaca de río (Re) como componente humidificante y un suelo con historial de aplicación de glifosato (S), dedicado hace más de veinte años al cultivo de soja. Las muestras de suelo y materiales lignocelulósicos se recolectaron en un campo de la localidad de Margarita (norte de Santa Fe, Argentina). La resaca de río se adquirió en un vivero de Santa Fe. Las lombrices (especie *Eisenia fetida*) se colectaron del bioterio del laboratorio de ecotoxicología de INTEC.

El rastrojo y la paja se cortaron en trozos de aproximadamente 2-3 mm y el suelo fue tamizado (3mm). Las biomezclas se prepararon mezclando los componentes en diversos porcentajes en volumen dentro de cajas de vidrio de 30 litros (20×30×50 cm). La maduración se realizó en las mismas cajas durante 100 días entre los meses de junio-agosto, controlando humedad y pH con un medidor de jardín (TFA). El pH se mantuvo entre 7,5-8 y se pulverizó agua destilada cada vez que fue necesario para mantener la humedad de las biomezclas entre 70-80 %. Finalizada la maduración, se pulverizaron con una solución de glifosato preparada con el formulado comercial Credit Amonio (Nufarm S.A., Argentina, 36% principio activo) con una concentración inicial de ingrediente activo de 1000 mg/kg de biomezcla seca. Después de pulverizar se incorporaron 20 lombrices adultas de la especie *E. fetida* a cada duplicado. En la **Tabla 1** se puede observar la composición de las cajas preparadas.

Biomezcla	Caja	Suelo [%]	Material lignocelulósico		Material humidificante	Lombrices [Nº]
			Paja [%]	Rastrojo [%]	Resaca [%]	
SRa	SRa	50	-	50	-	-
	SRaL	50	-	50	-	20
SP	SP	50	50	-	-	-
	SPL	50	50	-	-	20
S	S	100	-	-	-	-
	SL	100	-	-	-	20
SPRe	SPRe	25	50	-	25	-
	SPReL	25	50	-	25	20

Tabla 1. Composición de cada caja.

El ensayo se prolongó durante 140 días. Cuando fue necesario restablecer los valores de humedad se pulverizó con agua destilada. Se tomaron muestras antes de aplicar el glifosato y a los tiempos: 0 (día siguiente a la aplicación, concentración inicial), 15, 30, 60, 90 y 140 días, siguiendo siempre el mismo procedimiento: con un muestreador de suelo se extrajo el perfil completo de la biomezcla en diferentes partes de la misma para obtener una muestra representativa y realizar las determinaciones.

Las técnicas de extracción y cuantificación de glifosato y AMPA se adaptaron de bibliografía (Aparicio et al., 2013; Araujo et al., 2003; Kawai y Uno, 1991; Peruzzo et al., 2008). La cuantificación se realizó mediante HPLC/UV a 240 nm derivatizando previamente la muestra con cloruro de p-toluensulfonilo (Sigma Aldrich).

La evaluación de la actividad microbiana total se realizó mediante la conversión de fluoresceína diacetato en fluoresceína vía hidrólisis enzimática, para luego medir la absorbancia en espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer® a 490 nm. La técnica fue adaptada de bibliografía (Schüner y Rosswal, 1982; Adam y Duncan, 2001).

RESULTADOS

En la **Figura 1** se observa que la caja que se destacó debido a su gran velocidad de degradación de glifosato fue SRaL, alcanzando un 64% a partir del día 15. Llegando al día 60, casi todas lograron, y algunas incluso superaron ampliamente, una degradación de glifosato superior al 55%. Al final del ensayo (140 días), todas las biomezclas excepto SPRe alcanzaron porcentajes de degradación mayores al 90%, siendo SRaL la que logró la totalidad de la degradación, llegando casi al 100% desde el día 90. Si bien al principio las cajas de SPRe no presentaron valores altos de conversión, mejoraron considerablemente hacia los últimos días, particularmente SPReL alcanzando una degradación total del 90%.

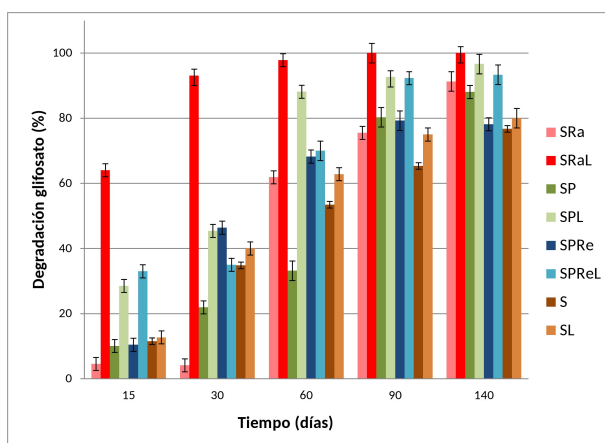


Figura 1. Porcentajes de degradación de glifosato en función del tiempo

Se produjo la formación de AMPA en todas las biomezclas ensayadas y la tendencia a la degradación fue evidente. Se muestran a continuación en la **Tabla 2** los valores residuales de AMPA registrados al finalizar el ensayo.

Sustrato	Conc. AMPA [ppm]	Sustrato	Conc. AMPA [ppm]
SRa	75	S	120
SRaL	52	SL	134
SP	70	SPRe	50
SPL	63	SPReL	43

Tabla 2. Concentración de AMPA a los 140 días para cada caja [ppm]

La **Figura 2** exhibe la actividad microbiana de las biomezclas medida como μg de FDA hidrolizada por gramo de biomezcla por hora. Todas las cajas presentaron cerca del día 15, un máximo de actividad que decreció con el avance del tiempo. Fue notable al principio del ensayo la diferencia de actividad entre las biomezclas SRa, SP y SPRe, y las cajas que contenían suelo solo (S) que comenzaron con la mitad de actividad microbiana respecto a la de las biomezclas. Igualmente notables son las diferencias que evidenciaron en la actividad residual las cajas de SPRe, que llegaron a valores mínimos mucho antes que las demás cajas. SPRe presentó un decrecimiento abrupto y alcanzó al día 40 un mínimo que mantuvo hasta finalizar el ensayo, mientras que el decrecimiento de SPReL si bien fue más paulatino (lo cual pudo deberse a la presencia de las lombrices), también llegó a valores mínimos que ninguna de las otras biomezclas alcanzó.

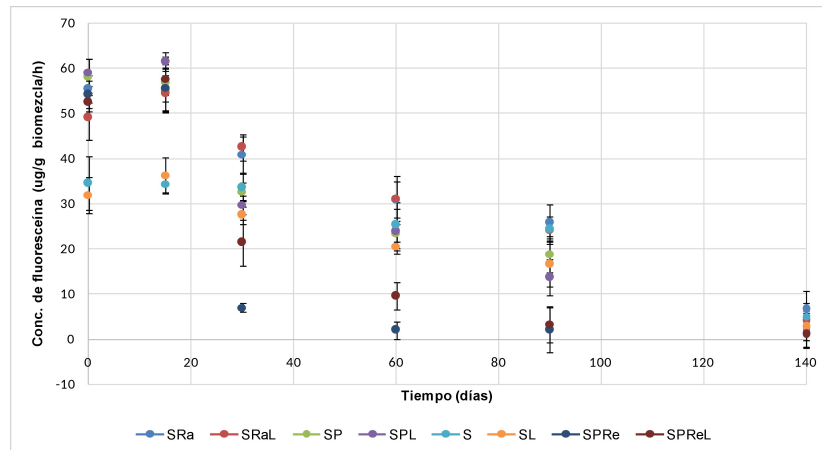


Figura 2. Actividad microbiana de las biomezclas

CONCLUSIONES

Todas las biomezclas ensayadas presentaron altos porcentajes de degradación de glifosato, así como de su intermediario AMPA. También los resultados respecto de la actividad microbiana fueron satisfactorios y refuerzan los de degradación, ya que las biomezclas que mostraron mayor eficiencia y velocidad de degradación de glifosato son las que a su vez presentaron altos valores de actividad microbiana tanto inicial como residual. Lo opuesto ocurrió con las biomezclas que mostraron menor capacidad degradativa donde la actividad microbiana decreció considerablemente a lo largo del ensayo, presentando valores residuales bajos. En consecuencia, las biomezclas más eficientes resultaron ser SRa y SP, corroborando que los materiales utilizados son efectivos además de económicos y estar totalmente disponibles en la región.

En síntesis, si bien la degradación fue elevada en los ensayos de suelo solo, estas cajas fueron las que presentaron menores porcentajes de degradación de glifosato y mayores concentraciones de AMPA remanente. La comparación de estos resultados con los de las biomezclas, donde claramente la eficiencia fue mayor, demuestra que la combinación de los materiales realmente incrementa la capacidad degradativa del sistema. Finalmente, todas las biomezclas con lombrices, lograron mayores eficiencias y velocidades de degradación respecto de sus contrapartes carentes de lombrices, lo cual indica el efecto sinérgico entre éstas y la biomezcla, favoreciendo la degradación.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Adam, G. y Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 943-951.

Aparicio, V., De Gerónimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P. y Costa, J., 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, 93, 1866-1873.

Araujo, A., Monteiro, R. y Abarkeli, R., 2003. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 52, 799-804.

Schnürer, J. y Rosswall, T., 1982. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(6), 1256-1261.

Kawai, S. y Uno B., 1991. Determination of glyphosate and its major metabolite aminomethylphosphonic acid by high-performance liquid chromatography after derivatization with p-toluensulphonyl chloride. *Journal of Chromatography*, 540, 411-415.