



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

**BIOCAMAS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS  
CON FUNGICIDAS EN LA ZONA PLATANERA DE TEAPA, TABASCO**

**VERÓNICA ISIDRA DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ**

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO


2015

La presente tesis, titulada: **Biocamas para tratamiento de aguas contaminadas con fungicidas en la zona platanera de Teapa, Tabasco**, realizada por la alumna: Verónica Isidra Domínguez Rodríguez, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



---

DR. JOSÉ JESÚS OBRADOR OLÁN

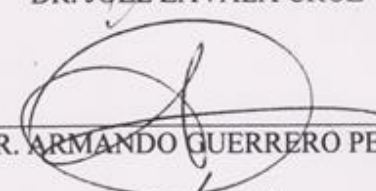
ASESOR:



---

DR. JOEL ZAVALA CRUZ

ASESOR:



---

DR. ARMANDO GUERRERO PEÑA


ASESOR:



---

DR. HUMBERTO VAQUERA HUERTA

ASESORA:



---

DRA. EDITH MIRANDA CRUZ

ASESOR:



---

DR. RANDY HOWARD ADAMS SCHROEDER

Villahermosa, Tabasco, México. 16 de octubre de 2015.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a **Dios**, por su Divina Presencia en mi vida, y todo lo que ha creado en ella. Por mostrarme con tanta claridad cuan inmenso es su amor por mí. **Gracias Padre.**

Al Colegio de Postgraduados por la oportunidad de formar parte de su gremio y por su provisión a través de este proceso de investigación.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por darme la oportunidad y el apoyo para seguirme preparando para servir mejor a la sociedad.

A las instituciones de educación que han contribuido en mi formación profesional y con las que he comprometido mi permanente servicio.

A mi Asesor Consejero, Dr. José Jesús Obrador Olán, por contribuir con sus conocimientos y experiencia en lo que respecta a los sustratos y su manejo, por su incondicional apoyo, y confianza, por hacer suyo este proyecto. Gracias Dr. Jesús.

Dr. Joel Zavala Cruz, por su aportación en los aspectos edafológicos de este trabajo; por su gran contribución en las diferentes etapas de este trabajo, por los recursos invertidos, y por lo que representa recibir su aprobación en el ámbito profesional.

Dr. Armando Guerrero Peña, por el apoyo a esta investigación en el área de química analítica; por compartir su experiencia y permitirme el apoyo del Laboratorio de Análisis de Suelos Plantas y Agua del Campus Tabasco, para el apoyo de esta investigación.

Dra. Edith Miranda Cruz, por su aportación y conocimientos en el estudio de los plaguicidas, y química analítica; por su experiencia compartida sin reserva, orientación y apoyo para los logros de los objetivos de este trabajo.

Dr. Humberto Vaquera Huerta, por su contribución en la etapa estadística de este estudio; por sus observaciones claves para la mejor conclusión de la investigación.

Dr. Randy Howard Adams Schroeder, por su aporte en el área de microbiología y toxicología; por ser uno de los motores generadores de este proyecto, por contribuir con la infraestructura del Laboratorio de Remediación de la DACBiol-UJAT y los recursos necesarios.

Agradezco a mis asesores, sobre todo la invaluable amistad que me otorgaron, siendo esta uno de los productos más valiosos de este trabajo.

A mis sinodales, Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza y Dra. Edith Hernández Nataren por sus valiosas aportaciones para concluir con este proyecto de la mejor manera.

A los compañeros y técnicos del Laboratorio Agroindustrial de Suelos Plantas y Agua, Esteban, Martha y Bernardo, por gran su apoyo.

A todos los colaboradores del Laboratorio de Remediación de la UJAT-DACBiol que contribuyeron de alguna manera, gracias infinitas: Conta Norma, Dey, Paulo, Lili, Laura, Juan Pablo, Migue, Gisela, Maricruz, Lorena, Betsy, Julián, Aida, Eliana, Pascual, Irasema, Valentina, Fer, Kike, y todos los que escapan a mi memoria.

Gracias a mis amigos y compañeros de trabajo: el Dr. José Roberto Hernández Barajas por sus dudas como ayuda para generar respuestas y por su apoyo para complementar las evaluaciones de

datos. A la Dra. Violeta Ruíz Carrera, por compartir la infraestructura a su cargo. A el MIPA Sergio Ramos Herrera, mi profesor y amigo, quien ha sido un gran apoyo y ha estado presente en cada etapa de mi formación profesional.

A mis sobrinos Sary y Migue, a todas las personas con las que conté y que en algún momento suplieron alguno de mis roles, para que yo pudiera concretar esta etapa, **¡Muchas gracias!**.

## **DEDICATORIA**

### **A mis Padres**

**Elena Rodríguez Palomeque**, por su gran fortaleza, apoyo y porque siempre me espera.

**Diódoro Domínguez Pretelín** (†), por ser el ejemplo sin discurso, por su sabiduría, por su fortaleza, por su generosidad, por su bondad y sobre todo por el inmenso amor por sus hijos.

**Te extraño Papi.**

### **A mis hermanos y mis hermanas**

Por formar parte de mi vida y mi escuela, especialmente a ellas, por manifestar de todas formas su gran amor por mí.

### **A mis sobrinos y sobrinas**

Porque con sus vidas, contribuyen a hacer más interesante e intensa mi vida.

### **A mi hijo Zadkiel Abisai y mi hija Tonameyotzin**

Por todas las etapas y transformaciones que he vivido por ustedes, por ser un gran anhelo, una bendición de Dios y una razón para vivir y querer ser mejor. Por demostrarme su gran amor. Zad, Toni prefiero tenerlos como hijos en vez de exámenes de doctorado, esta fue sólo un ciclo y por fortuna los tiempos se cumplen. Los Amo.

### **Para el Amor de mi vida**

Por ser mí refugio, mí bálsamo, por tu comprensión, por tu paciencia, por tu guía, por ser mis veces cuando lo necesito. Y sobre todo por tu gran amor. Te Amo Randy

Estoy lista para nuestros próximos proyectos juntos.

## CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS.....	6
1.1.1 <i>Objetivo general</i> .....	6
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	6
1.2 HIPÓTESIS.....	7
1.3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
1.3.1 <i>Producción de plátano y uso de plaguicidas</i> .....	7
1.3.2 <i>Sigatoka negra</i> .....	8
1.3.3 <i>Plaguicidas</i> .....	9
1.3.4 <i>Mancozeb</i> .....	12
1.3.5 <i>Etilentiourea (ETU)</i> .....	14
1.3.6 <i>Espectrofotometría ultravioleta (UV)</i> .....	15
1.3.7 <i>Biocamas</i> .....	16
1.3.8 <i>Reacciones de descomposición de plaguicidas</i> .....	17
1.3.9 <i>Sustratos de prueba</i> .....	18
1.3.10 <i>Referencias</i> .....	20
<b>CAPÍTULO II. OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL RISKS FROM MANCOZEB IN AVIATION FACILITIES IN THE BANANA PRODUCING AREA OF TEAPA, TABASCO, MÉXICO.....</b>	<b>26</b>
<i>RESUMEN</i> .....	28
<i>ABSTRACT</i> .....	30
INTRODUCTION.....	31
EXPERIMENTAL.....	32
RESULTS.....	37
DISCUSSION.....	42
CONCLUSIONS.....	49
REFERENCES.....	50



**CAPÍTULO III. ECO-FRIENDLY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD AS ALTERNATIVE FOR CARBON DISULFIDE-FREE DETERMINATION OF ETHYLENETHIOUREA IN SURFACE WATER ..... 59**

<i>RESUMEN</i> .....	60
<i>ABSTRACT</i> .....	61
INTRODUCTION.....	62
MATERIALS AND METHODS .....	63
RESULTS .....	65
DISCUSSION.....	68
CONCLUSIONS .....	69
REFERENCES.....	69

**CAPÍTULO IV. EVALUACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE BIOCAMAS PROBANDO TRES SUSTRATOS Y SUELO FLUVISOL PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS CON MANCOZEB Y ETU ..... 73**

<i>RESUMEN</i> .....	74
<i>ABSTRACT</i> .....	75
INTRODUCCIÓN.....	76
MATERIALES Y MÉTODOS.....	80
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	84
CONCLUSIONES .....	106
REFERENCIAS .....	108

**CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES .....113**

## CONTENIDO DE CUADROS

### CAPÍTULO II.

Table 1. Toxicity in wastewater samples.....	40
Table 2. Toxicity in sediment samples.....	41
Table 3. Potential exposure pathways and noxious effects for Mancozeb and ETU.....	43

### CAPÍTULO III.

Table 1. Methods for measurement of ETU.....	63
Table 2. Physical-chemical Properties of Ethylenethiourea.....	64
Table 3. Maximum recommended exposure limits for aquatic organisms.....	70

### CAPÍTULO IV.

Cuadro 1. Análisis de caracterización de los componentes de la mezcla para las biocamas.....	82
Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo Fluvisol Háplico (Eútrico, Arcílico) de acuerdo a la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo WRB (2007).....	86
Cuadro 3. Ácidos húmicos y fúlvicos en sustratos de prueba individuales y mezclas.....	96

## CONTENIDO DE FIGURAS

### CAPÍTULO I.

Figura 1. Clasificación de plaguicidas.....	11
Figura 2. Degradación de Mancozeb a ETU y otros subproductos.....	14
Figura 3. Productos de reacción del ETU en sistemas biológicos y no biológicos.....	15
Figura 4. Partes del árbol de plátano.....	19

### CAPÍTULO II.

Figure 1. Distribution of sampling points in the major aviation fumigation facility.....	36
Figure 2. Relationship between toxicity and distance from source in water and sediment. a) Percent bioluminescence in 100% samples of wastewater. b) Logarithmic scale of Effective Concentration-50 in soil samples.....	42

### CAPÍTULO III.

Figure 1. Spectrum of ETU (ethylenethiourea) in the ultraviolet region showing absorption maxima (data obtained with Lambda 10-UV Win Lab software and plotted with Excel 2010).....	66
Figure 2. Dependency of absorption with respect to ETU (ethylenethiourea) concentration.....	67
Figure 3. Comparison of expected and reference values for ETU concentrations.....	68
Figure 4. Intermediate validation and data reproducibility independent of analysts or equipment used.....	69

### CAPÍTULO IV.

Figura 1. a: pH en sustratos de prueba individuales, b: pH en mezclas.....	87
Figura 2. a: CIC en sustratos de prueba individuales, b: CIC en mezclas.....	90

Figura 3. a: Capacidad de campo y Carbono orgánico total en sustratos de prueba individuales, b: Capacidad de campo y Carbono orgánico total en mezclas.....	91
Figura 4. a: Nitrógeno total en sustratos de prueba individuales, b: Nitrógeno total en mezclas.....	93
Figura 5. a: Relación C:N en sustratos de prueba individuales, b: Relación C:N en mezclas.....	95
Figura 6. Concentraciones de ETU en los diferentes tratamientos.....	99
Figura 7. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con punta de caña.....	101
Figura 8. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con pizonte de plátano.....	102
Figura 9. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con astillas de eucalipto.....	103
Figura 10. Modelo teórico que supone la toxicidad acumulativa en el proceso de transformación de Mancozeb.....	104
Figura 11. Porcentaje de bioestimulación de la luminiscencia en <i>Vibrio fischeri</i> en muestras de bentonita del fondo de cada tratamiento.....	106
Figura 12. Predicción de proporciones de sustratos de acuerdo a las concentraciones de ETU que se requiera alcanzar.....	107

*Porque ella misma va por todas partes buscando a los que son dignos  
de poseerla, y por los caminos se les presenta con agrado  
y en todas ocasiones y asuntos la tienen al lado.*

*(Sabiduría 6, 17)*

# **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL**

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México se tienen tres regiones principales productoras de plátano, la del Golfo, integrada por Tabasco, Veracruz y Oaxaca, la del Pacífico representada por Chiapas y la del Pacífico-Centro integrada por Colima, Nayarit, Michoacán, Jalisco y Guerrero, con un área total de plantación mayor a 82000 ha (Beltrán-García *et al.*, 2009). Los intentos para la propagación de las plantaciones de plátano se iniciaron en Tabasco en el año 1884, cuando llegaron desde Honduras cinco plantas sobrevivientes de las condiciones del viaje, los esfuerzos tuvieron frutos hasta 1907, año en que se lograron 60000 cepas sembradas a ambas márgenes del Grijalva (López, 2004). Poco después de iniciar la industria platanera en la Región de la Sierra de Tabasco, y debido a la alta humedad en el ambiente se presentó la plaga llamada Sigatoka negra, un hongo que crece sobre el fruto, manchándolo y reduciendo su valor comercial (Contreras, 1982). Para controlar esta enfermedad se realiza la aplicación de agroquímicos (casi al 100 % vía aérea, utilizando avionetas), en especial Mancozeb, y algunos fungicidas sistémicos.

El Mancozeb es un Ditiocarbamato que pertenece al grupo de los plaguicidas denominados carbamatos, el cual presenta toxicidad aguda moderada a otros receptores (Barberá, 1976). Se ha mostrado que en puntos donde se concentra en el campo (por ejemplo en las descargas de los drenes al Río Teapa) se registran toxicidades alrededor del doble del nivel umbral (10.52 UT), especialmente en la estación climática “nortes” que es cuando hay mayor humedad en el ambiente y se incrementa la frecuencia de aplicación del plaguicida de dos, a tres veces por semana (Cornelio, 2001). El Mancozeb es considerado ligeramente tóxico y presunto cancerígeno en seres humanos (USEPA, 2005), se clasifica como disruptor endócrino por su riesgo para la salud reproductiva, puesto que ocasiona efectos adversos directos en la Tiroides (Xu, 2000). Tiene una vida media menor a dos días en suelos aeróbicos y menos a ocho días en suelos anaeróbicos. Su principal producto de degradación (etilentiourea) es considerado tóxico, cancerígeno y mutagénico en humanos (WHO, 1988). La aplicación semanal de Mancozeb en las plantaciones, genera la producción de grandes volúmenes de aguas residuales contaminadas con Mancozeb y ETU, mismas que son vertidas directamente a los drenes de descarga, estas aguas al llegar a geoformas

más bajas (cubetas de decantación) pueden representar riesgos de acumulación de ETU, puesto que los altos contenidos de arcilla en los fondos de estas geoformas contribuyen a una baja percolación (Ortíz *et al.*, 2005).

La mezcla de fumigación con Mancozeb se prepara combinándolo con un aceite que funciona como vehículo, típicamente aceite de pino, y posteriormente se hace una emulsión en agua. Los aeródromos cuentan con un área de preparación de la mezcla de fumigación, que también se emplea para la carga de dicha mezcla en un tanque adaptado a las avionetas, al final de la jornada se realiza el lavado de las avionetas en el mismo sitio, desalojando el sobrante de la mezcla de fumigación contenido en el tanque de la avioneta. Posteriormente, enjuagan el interior de los tanques de carga en cada avioneta. En algunos casos las aguas de lavado y la mezcla sobrante se combinan al ser vertidos en el piso del área en que se están lavando dichos tanques, dirigiéndose por efecto de la pendiente a los canales de desagüe, los cuales se conforman solo por una excavación poco profunda en el suelo. En otros casos, el agua escurre hacia una “cisterna” de base abierta (en contacto directo al subsuelo).

La zona platanera de la Sierra es sumamente lluviosa y recibe un promedio anual de 2500 a 3500 mm de precipitación promedio anual (INEGI, 2001). Este factor aumenta la probabilidad de dispersión del fungicida y la contaminación de otras áreas, considerando que los tipos de geoformas identificadas en el área de estudio son llanuras aluviales, que en las partes más bajas presentan estructuras cóncavas con sedimentos finos (Ortíz *et al.*, 2005) que forman un sello en la superficie del fondo y reducen la infiltración o permeabilidad de los contaminantes. También se presenta el enterramiento de restos vegetales dando origen a la formación de suelos orgánicos (Fulvio *et al.*, 2010), los cuales pueden absorber y retener los contaminantes.

La prevención de que estas aguas vayan al suelo es la propuesta para la solución a los riesgos de contaminación, evitando que las aguas contaminadas con plaguicidas se viertan directamente al suelo; la tecnología de biocamas es una alternativa para el tratamiento de las aguas residuales contaminadas con Mancozeb y ETU. Las biocamas, también conocidas como sistemas de



biopurificación (BPS) han sido desarrolladas en los últimos 15 años en la Swedish University of Agricultural Sciences, en Uppsala, Suecia (Castillo y Torstensson, 2007). En esta institución, Castillo *et al.* (2008) aplicó el concepto de “bio-profilaxis” para la prevención de contaminación de acuíferos y aguas superficiales relacionadas con el uso inadecuado de plaguicidas. Los sistemas pueden ser una biocama (excavación) o una biotabla (contenedor), con una profundidad de 50 cm, con un fondo de arcilla compactada de 10 cm y conteniendo una mezcla de paja (50 % v/v), turba (25 % v/v) y suelo (25 % v/v), con una grama en la superficie, la cual actúa como indicador del funcionamiento del sistema. Las biocamas han sido utilizadas y estudiadas en áreas agrícolas donde se usan tractores para la aplicación de los plaguicidas. El funcionamiento de la biocama en estas áreas consiste en que durante la preparación y carga de los tractores, cualquier goteo, derrame o escurrimiento caiga a la superficie de la biocama y sea absorbida por los materiales orgánicos en la mezcla. Este material orgánico es rico en lignina, estimula la actividad de humificación que realizan los hongos y actinomicetos del suelo (Castillo y Torstensson, 2007). La actividad enzimática no específica, generada principalmente por lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasas, y enzimas productoras de peróxido de hidrógeno, actúa sobre cualquier sustrato orgánico presente y los plaguicidas, generando sub-productos parcialmente oxidados (Aust, 1990; Castillo *et al.*, 1997). Estos compuestos presentan una reacción química espontánea de condensación que resulta en el ligamiento en una estructura irregular favoreciendo el secuestro de los subproductos de la descomposición parcial en el humus, y reduce su biodisponibilidad y potencial de lixiviarse. En el clima frío del sur de Suecia las biocamas duran de seis a ocho años. Durante este periodo el material orgánico en la biocama se descompone y pierde volumen. Se requiere remover la mezcla y preparar mezcla nueva para re-hacer la biocama. Con el material removido se realiza un composteo estático sencillo durante un año, después del cual los plaguicidas terminan de descomponerse en la mezcla. Al final de un año, las concentraciones residuales de plaguicidas en la mezcla son suficientemente bajas para poder re-utilizar el material como abono para jardinería (Torstensson, 2000).

En Suecia se han instalado más de 1500 biocamas (Castillo *et al.*, 2008). En otros países europeos

(Reino Unido, Bélgica, Francia, Italia, Dinamarca, Holanda) se han realizado modificaciones a la tecnología de biocamas para aplicaciones locales, considerando las formas de aplicación de los plaguicidas (utilizando bombas de mochila, pipas), e incluyendo el empleo de diferentes tipos de abonos orgánicos y suelos, el uso de biocamas con membranas, recolección del agua y aplicación gradual de las aguas residuales a las biocamas, e incrementos en la profundidad de las mismas (Debaer y Jaeken, 2006; Fait *et al.*, 2007; Coppola *et al.*, 2007). En América Latina se han realizado investigaciones en Perú, Ecuador, Guatemala, El Salvador y México sobre el funcionamiento de las biocamas (Castillo y Torstensson, 2007). Se ha estudiado el remplazo de la paja y turba en la mezcla, por materiales disponibles localmente (carrizo u hojas de maíz), y el diseño de “biotablas”, que son unidades pequeñas y parcialmente arriba del piso para el manejo de plaguicidas aplicados con bombas de mochila. Se ha determinado que existen varios factores importantes a considerar en el manejo de una biocama: a) lograr una buena adsorción de los plaguicidas a la materia orgánica, b) el tamaño de las fibras utilizadas, c) controlar la carga de agua (proveniente de la preparación de mezclas de plaguicidas o de precipitaciones); las condiciones aerobias son necesarias para la humificación y d) mantenimiento de un fondo impermeable (hecho con materiales naturales, o artificiales) para evitar la infiltración al subsuelo.

En este estudio, se contribuye en el conocimiento del estado actual de las instalaciones de fumigación en la zona platanera de Teapa, Tabasco, México. En el Capítulo II se presenta la información que permite identificar los riesgos de salud ocupacional por efectos del manejo de Mancozeb, para esto, se documentaron las prácticas en las cuatro instalaciones de fumigación aérea en la región bananera de la Sierra, y se realizaron entrevistas semi-estructuradas a los responsables de cada instalación. También se evaluaron los impactos ambientales mediante un bioensayo de toxicidad aguda con *Vibrio fischeri*, en muestras de agua y suelo, utilizando muestras no contaminadas de suelo y agua para establecer niveles de fondo, dichas muestras de referencia resultaron no tóxicas.

En el Capítulo III se presenta la propuesta de un método analítico basado en espectrofotometría

UV, en el que se obtuvieron parámetros de desempeño adecuados, que permiten realizar la cuantificación de la reducción de las concentraciones de ETU en las biocamas, éste método permite una cuantificación rápida, eficiente, de bajo costo y es libre de residuos. En el cuarto capítulo se presenta la evaluación de las biocamas para la reducción de Mancozeb y ETU en aguas residuales contaminadas con Mancozeb y ETU, mediante un diseño experimental completamente aleatorizado, probando tres tipos de sustratos (astillas de eucalipto, punta de caña y pizonte de plátano) a tres diferentes proporciones cada uno (30, 50 y 70%), el suelo nativo y la cachaza en partes iguales complementan las proporciones en cada mezcla. Se identificaron los mejores tratamientos y obtuvieron modelos teóricos que garantizan la reducción de las concentraciones de ETU a un nivel que no presenta riesgo para el ambiente.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo general**

Evaluar la tecnología de biocamas para el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y etilentiourea, generadas en la zona platanera de Teapa, Tabasco, México.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

**1.1.2.1** Determinar las condiciones actuales del área de estudio, mediante un diagnóstico de los efectos al ambiente y la seguridad ocupacional en los aeródromos.

**1.1.2.2** Establecer un método analítico por espectrofotometría ultra violeta (UV) que cumpla con los parámetros de desempeño para la determinación de etilentiourea en agua.

**1.1.2.3** Evaluar la eficacia de la tecnología de camas biológicas para el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y ETU, probando tres diferentes sustratos (punta de caña, pizonte de plátano y eucalipto), con cachaza y suelo Fluvisol de la zona platanera en estudio.

## **1.2 HIPÓTESIS**

**1.2.1** En los aeródromos de servicio de fumigación de la zona platanera de Teapa, Tabasco, existen condiciones de riesgo para el ambiente y la salud ocupacional, por el uso de Mancozeb.

**1.2.2** La espectrofotometría Ultra Violeta es una alternativa para la determinación de la concentración de ETU en agua.

**1.2.3** Los sustratos orgánicos propuestos (punta de caña, pizonte de plátano y eucalipto) para la tecnología de biocamas resultan efectivos en el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y etilentiourea, reduciendo la concentración y toxicidad del ETU.

## **1.3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **1.3.1 Producción de plátano y uso de plaguicidas**

El plátano o banano es uno de los cultivos más importantes en la agricultura. En frutas tropicales ocupa el primer lugar y es una fruta básica en la alimentación mexicana, debido a su bajo precio, rico sabor, disponibilidad en todo el año, múltiples combinaciones de cocina, sensación de saciedad que produce y su valor nutritivo en potasio, hierro y vitamina K. El plátano es el cuarto producto alimentario de mayor importancia a nivel mundial después del maíz, arroz y leche (Gobierno del Estado de Colima, 2005), es consumido ampliamente en zonas tropicales, incluso en varias regiones de África es la base nutricional de las personas. Existe una superficie aproximada en el mundo de 10 millones de hectáreas; los países latinoamericanos y del Caribe son los mayores productores del plátano de exportación, México se encuentra dentro de los primeros 10 países productores de plátano, donde este fruto ocupa el segundo lugar de importancia por su producción. Los principales estados productores en México son: Chiapas, Tabasco, Veracruz, Nayarit, Michoacán, Colima, Oaxaca, Guerrero y Jalisco, los cuales se agrupan en tres regiones productoras: Golfo de México (Tabasco, Veracruz y Oaxaca) que ocupa el 41% de la superficie, Pacífico Centro (Colima, Michoacán, Jalisco, Guerrero y Nayarit) con el 27% y Pacífico

representada por Chiapas con 32%. Poco después de iniciar esta industria en la Región de la Sierra de Tabasco, y debido a la alta humedad en el ambiente se presentó el problema del *Sigatoka negra*, un hongo que crece sobre el fruto, manchándolo y reduciendo su valor en el mercado (Contreras, 1982). Para controlar esta enfermedad, se utilizan agroquímicos, en especial Mancozeb.

Tabasco se encuentra en segundo lugar de producción nacional después de Chiapas, y junto con Veracruz contribuyen a una producción nacional del 78.6 %. Los costos de producción para una ha de plátano bajo explotación comercial es de aproximadamente \$82, 450.00, siendo los fertilizantes y los plaguicidas los que más gasto generan (aproximadamente el 30%) (FND, 2014). En este tenor el uso racional de insumos es importante dado que, además que pueden implicar ahorro a los productores, puede contribuir a un menor impacto al ambiente.

### **1.3.2 Sigatoka negra**

El plátano es atacado por diversas plagas y enfermedades, en Tabasco destaca la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet), que es una enfermedad foliar ocasionada por un hongo que crece sobre el fruto, manchándolo y reduciendo su valor en el mercado (Contreras, 1982), es considerada como la enfermedad foliar más importante del plátano a nivel mundial. En México, se presentó por primera vez en 1981 en Tabasco y Chiapas y se dispersó al resto de los estados productores, en el estado de Colima se detectó en 1989 (Gobierno del Estado de Colima, 2005), ocasionando pérdidas en la producción hasta en un 50%, e incrementó los costos de producción, debido a que su control está basado en el uso de agroquímicos. La Sigatoka negra se caracteriza por manchas en las hojas que destruyen parcial o totalmente el área fotosintética. Puede atacar plantas de cualquier edad, pero daña más aquellas que están próximas a la floración o durante el periodo de floración a cosecha. Una planta con esta enfermedad produce racimos con fruta más corta, delgada y de menor peso, la cual puede madurar durante el transporte. Cuando el ataque es severo, la fruta se madura en el campo, antes de alcanzar su grado de corte, provocando una pérdida total.

### 1.3.3 Plaguicidas

Los plaguicidas son “sustancias o mezclas de ellas, destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, el procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que se pueden aplicar para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales” (FAO, 1990). En este entendido, en la agricultura el uso de plaguicidas se ha convertido en una práctica común, debido a la seguridad que garantiza el saber que se está previniendo o atacando la enfermedad de un producto alimenticio, el mecanismo de acción de estas sustancias está asociado a un efecto tóxico o neurotóxico en la plaga, lo que a su vez alcanza a otros organismos (receptores no intencionales) ocasionando daño en ellos. El grado de peligrosidad del plaguicida se determina mediante la toxicidad aguda, definida como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un periodo de tiempo relativamente corto, y puede medirse a través de la CE50 o CL50, que se refiere a la concentración requerida para causar un efecto adverso o letal (respectivamente) en el 50% de la población expuesta.

Dentro de los aspectos más relevantes de los plaguicidas, se pueden mencionar los siguientes:

- a) Clasificación: Los plaguicidas tienen diversas clasificaciones, de acuerdo a los fabricantes o diferentes especialistas. Una de las clasificaciones más generales se muestra en la Figura 1.

El Mancozeb (Etilen bis ditiocarbamato–EBDC) corresponde al grupo de los Carbamatos, y su principal metabolito de degradación es el ETU (Etilentiourea).

Los Carbamatos (tio y dítio) tienen en general una aplicación herbicida, y fungicida en algunos casos. Se consideran ventajosos sobre los organofosforados debido a su eficacia contra plagas resistentes a estos. Sin embargo su desventaja radica en los costos de fabricación, mayor toxicidad y efecto sobre insectos polinizadores. Su modo de acción es inhibir la acetil colinesterasa (AChE), afectando el equilibrio bioquímico en la placa neural (Sánchez, 1984).

Pinilla-Monsalve *et al.* (2014) reportan aproximadamente 200 000 casos anuales de intoxicación por Carbamatos en el mundo, sin embargo en los últimos 20 años se ha intensificado el uso de Carbamatos en sustitución de organofosforados, debido a su menor persistencia y toxicidad.

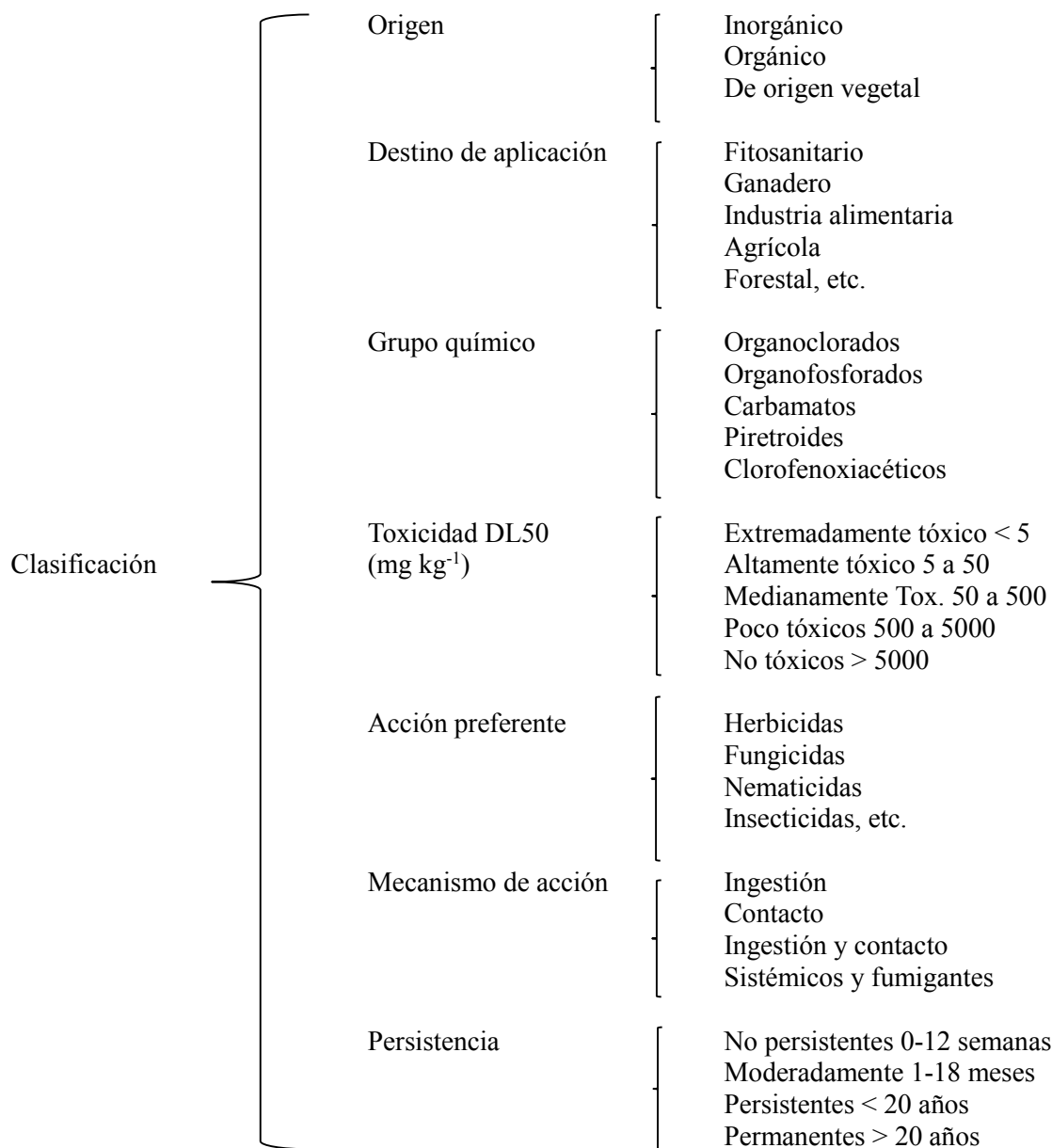


Figura 1. Clasificación de plaguicidas. Fuente: Mellado (2007).

b) Normatividad: En relación a la normatividad sobre plaguicidas en México, de acuerdo a lo referido por Albert (2002), existe un vacío al respecto, en términos de que las acciones legales que se han hecho en esta área obedecen a presión internacional y no al interés genuino de procurar la salud pública y el ambiente por los riesgos que implique el uso de plaguicidas, por dar respuesta a la participación en diversos tratados como la Organización y Cooperación para el Desarrollo Económico (OCDE), Tratado del libre comercio (TLC).



Dada la ausencia de información asociada a límites ambientales máximos permisibles para los plaguicidas, en este estudio se tomó como referente la normatividad internacional, con un criterio conservador, considerando las matrices y destino potencial de los contaminantes.

La WHO (1988), sugiere que a una concentración de  $1 \text{ mgL}^{-1}$  de ETU no existe efecto adverso en organismos acuáticos.

Kegley *et al.*, (2014), reportan que el PAN (Pesticide Action Network) en California, establece un NOAC (No Observable Adverse Concentrations-Concentración Adversa No Observable) para anfibios en un intervalo de  $1-5 \text{ mgL}^{-1}$ .

En relación a lo anterior y con la intención de garantizar la ausencia de riesgos ambientales, se seleccionó como límite máximo permisible para la evaluación de los tratamientos de aguas residuales contaminadas con Mancozeb y ETU una concentración de  $1 \text{ mgL}^{-1}$  por ser un criterio conservador.

### 1.3.4 Mancozeb

En la ficha técnica de River (2001) se presenta la siguiente información acerca del Mancozeb, el cual es un Etilen Bis Ditiocarbamato (EBDC) de Manganeso y Zinc, con:

No CAS: 8018-01-7

Fórmula empírica:  $(\text{C}_4\text{H}_6\text{MnN}_2\text{S}_4)_x (\text{Zn})_y$

Coefficiente de partición octanol agua:  $< 22$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\log P_{ow} < = 1.34$ )

El Mancozeb tiene una acción protectante para la planta, con una vida media de siete a 15 días, es irritante de piel, ojos, membranas mucosas y vías respiratorias. Provoca sensibilización en contacto con la piel. Es nocivo por ingestión, inhalación y absorción a través de la piel. Puede desprender vapores inflamables y generar reacciones violentas o explosivas (River, 2001), por tal razón el fungicida debe ser manejado, según las indicaciones del fabricante; presenta toxicidad aguda moderada a otros receptores no intencionales, se considera tóxico para peces y perjudicial para la vida salvaje; por efectos de su principal metabolito de degradación, etilentiourea (ETU) se

considera mutagénico, teratogénico y antitiroideo para el ser humano (Houeto, 1995), por lo que se clasifica como disruptor endócrino por su riesgo para la salud reproductiva, puesto que ocasiona efectos adversos directos en la Tiroides (Xu, 2000); por su característica dispersable en agua, se presume la acumulación del fungicida y los productos intermediarios de su degradación en el suelo, sedimento, y aguas. Su degradabilidad es de 2000 mgL<sup>-1</sup> de Mancozeb, lo que sugiere que en presencia de estas cantidades de agua, rápidamente se degrada a ETU el cual es considerado aún más peligroso que el producto precursor. La migración vertical del ETU no es mayor a 12.7 cm y su nivel de sedimentación es de 21.7%, indicando su acumulación en el suelo.

El fungicida en cuestión no debe ser almacenado; según las indicaciones del fabricante, este se debe recibir el día de la aplicación para su preparación.

De acuerdo a las características del Mancozeb y su metabolito secundario ETU, las rutas de exposición son por ingestión, contacto e inhalación, presentándose en cada una de ellas reacciones específicas (River, 2001).

El medio predominante de degradación del Mancozeb es el agua, donde es fácilmente degradado por efecto de hidrólisis y aunada a su alta fotosensibilidad, se transforma casi simultáneamente a ETU (etilentiourea), EBIS (Etilen bis isotiocianato de azufre) y EU (etilen urea). Mientras que en el suelo la molécula es afectada además de hidrólisis y fotólisis por la acción microbiana, la cual en condiciones anaeróbicas lo transforma a ETU, EBIS, EU, mientras que en condiciones aeróbicas además de los anteriores genera CO<sub>2</sub>. En la biota el Mancozeb es degradado a ETU, EU y proteínas. En cada caso se generan productos de degradación que aún se desconocen (Xu, 2000). En la Figura 2 se puede apreciar la ruta de degradación propuesta por WHO (1988).

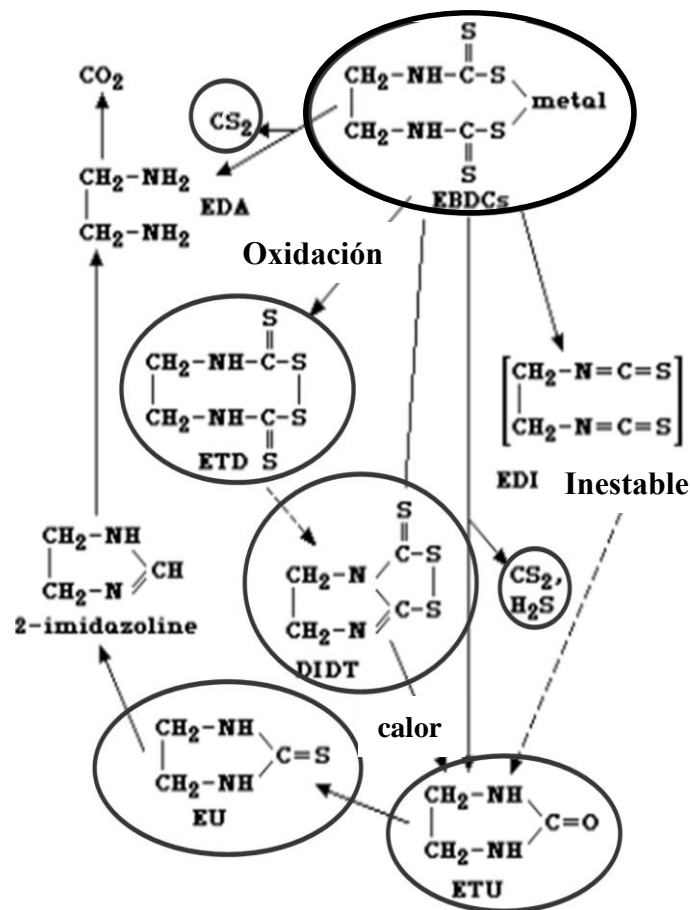


Figura 2. Degradación de Mancozeb a ETU y otros subproductos (WHO, 1988).

### 1.3.5 Etilentiourea (ETU)

El Etilentiourea es el principal producto de degradación del Mancozeb, con:

No CAS: 96-45-7

Fórmula empírica: C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S

Coefficiente de partición octanol agua: log P<sub>ow</sub> = -0.66

El ETU es el principal metabolito de degradación del Mancozeb, es relativamente estable a los procesos de hidrólisis en el agua, pero puede ser fotolizado más rápidamente debido a los fotosensibilizadores existentes en aguas naturales, el ETU es degradado biológica y químicamente a EU, con una vida media de uno a siete días en campo. En condiciones aeróbicas el ETU y UE pueden ser mineralizados a CO<sub>2</sub>. El ETU es bastante móvil en el suelo húmedo debido a su débil

absorción del suelo y la alta solubilidad. La vida media de disipación en el campo es menor a una semana debido a la rápida degradación microbiana. El ETU al ser liberado al aire, puede quitarse fácilmente por la lluvia o a través de la reacción con radicales hidroxilo. La vida media de ETU en el aire es de ocho a nueve días (Xu, 2000).

En la figura 3, se presentan los diferentes productos de reacción en sistemas biológicos y no biológicos.

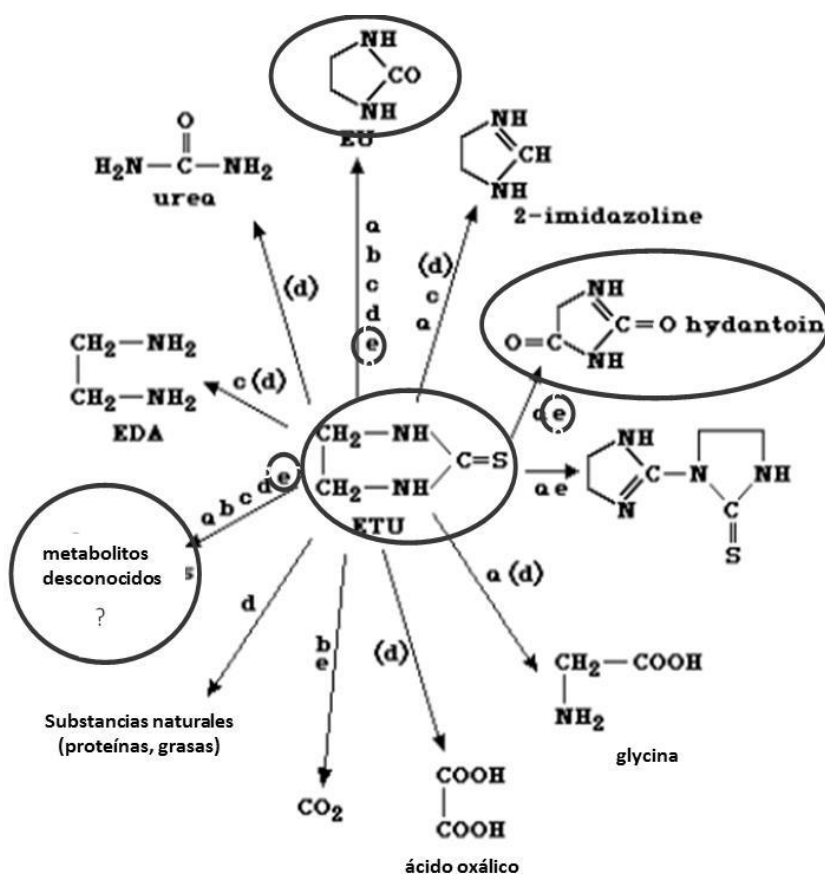


Figura 3. Productos de reacción del ETU en sistemas biológicos y no biológicos. a: fotodescomposición, b: oxidación química, c: plantas, d: animales, e: suelo, (WHO, 1988).

### 1.3.6 Espectrofotometría ultravioleta (UV)

El fundamento de la espectrofotometría se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen

de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización (Díaz *et al.*, 2011).

La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400 nanómetros (nm), es una región de energía muy alta. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, por lo que ésta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos. Diversos factores como: pH, concentración de sal y el disolvente, que alteran la carga de las moléculas, provocan desplazamientos de los espectros UV (Díaz *et al.*, 2011).

La espectrofotometría UV se considera adecuada para la determinación de ETU, como indicador de la presencia de Mancozeb, por ser el metabolito principal en la degradación de Mancozeb, por tener una mayor peligrosidad que su precursor (Houeto, 1995).

### **1.3.7 Biocamas**

Castillo y Torstensson (2007) mencionan que, una cama biológica o biocama es una construcción sencilla, económica para coleccionar y degradar derrames de plaguicidas. El diseño original consta de una cavidad en el suelo de 60 cm de profundidad, con una capa de arcilla de 10 cm en el fondo, una biomezcla compuesta de paja, suelo y turba, en proporciones volumen/volumen de 50, 25, 25 respectivamente, y una capa de grama en la superficie. Donde el suelo provee capacidad de proliferación a los microorganismos degradadores de plaguicidas. La turba le otorga a la mezcla una alta capacidad de retención y mantiene la humedad del sistema, mientras que la capa de grama contribuye con el equilibrio de la humedad por evapo-transpiración y funciona como un indicador de derrames de plaguicidas. La paja es el medio para estimular la actividad de hongos de pudrición blanca, para la degradación de lignina, mediante enzimas lignolíticas, las cuales han mostrado su eficiencia en la degradación de plaguicidas. Se requiere de un material lignocelulósico en la biomezcla para la degradación completa de los plaguicidas, por su contribución en el desarrollo de poblaciones microbianas más robustas en comparación de mezclas compuestas de otros tipos de materiales

orgánicos. Condiciones de no saturación son importantes dado que los procesos de degradación de la mayor parte de los plaguicidas en la cama biológica son aeróbicos.

### **1.3.8 Reacciones de descomposición de plaguicidas**

*Biodegradación:* En estos procesos, son de suma importancia las reacciones enzimáticas que ocurren por los microorganismos, los cuales juegan un papel importante en la transformación biológica de los plaguicidas. La biodegradación puede ocurrir bajo condiciones aerobias o anaerobias, dependiendo del aceptor final de electrones utilizado por el microorganismo. La vía metabólica y la vida media de los plaguicidas por efecto de la biodegradación, está relacionada con la concentración de oxígeno en el sistema; las condiciones ambientales, conjuntamente con la presencia y tipo de microorganismos, determinan parcialmente el potencial de biodegradación (Narváez *et al.*, 2012). Por ejemplo, los hongos lignolíticos cuentan con un sistema enzimático único y no específico que funciona en el ambiente extracelular. La degradación de lignina se basa en la producción de radicales libres, permitiendo que estas enzimas sean catalíticamente activas en gran diversidad de sustratos orgánicos (Domínguez-Guilarte *et al.*, 2011).

*Fotodegradación:* En la zona intertropical, donde la radiación solar incide casi de forma perpendicular sobre la superficie terrestre, los procesos fotolíticos por los efectos de la radiación solar ultravioleta y visible al interactuar con los enlaces del plaguicida, son importantes en la degradación de estos, modificándolos químicamente. El índice de UV, es un buen marcador de los procesos fotolíticos, valores superiores a 8 indican un buen potencial de fotodegradación (Narváez, 2012).

*Hidrólisis:* La hidrólisis química, por efecto de la reacción del plaguicida orgánico con agua, con ruptura de enlaces y dependiente del pH, contribuye a la presencia de otros procesos de transformación, debido a que los metabolitos de la hidrólisis pueden ser más fotosensibles o menos tóxicos para los microorganismos que los compuestos parentales (Narváez, 2012).

### 1.3.9 Sustratos de prueba

*Punta de caña:* León-Martínez *et al.* (2013) establecen que los residuos agrícolas provenientes de la producción cañera son utilizados parcialmente como fuente de alimentación animal y generación de energía. En una tonelada de caña fresca, aproximadamente el 32 % es bagazo integral y el 28 % punta de caña (paja y cogollo). Los residuos generados en el campo por el proceso de producción de la caña de azúcar corresponden aproximadamente al 30% de su composición total, estos residuos son ricos en lignina (14.11%). Tabasco, Actualmente tiene una superficie sembrada de 36263 ha, de las cuales se cosechan 31012 ha que se industrializa en tres Ingenios: Benito Juárez, Santa Rosalía y Tenosique, es una actividad que involucra a superficies agrícolas en siete municipios donde habitan 804049 personas, el estado ocupa el sexto lugar en superficie sembrada a nivel nacional y el noveno en rendimiento de campo con un rendimiento promedio de 71.3 t ha<sup>-1</sup> (SIAP-SAGARPA, 2015). La abundancia de plantaciones cañeras en el estado, permite que la punta de caña pueda ser un producto aprovechable para la degradación de plaguicidas mediante la tecnología de biocamas, otra de sus cualidades para este propósito es que puede ser una buena fuente de lignina, Chávez-Sifontes y Domine (2013) reportan 14% de lignina en bagazo de caña.

*Pizonte de plátano:* Turrado (2009) menciona que la industria agrícola es una fuente principal de generación de residuos agroindustriales. Los países productores de banano tienen el reto de eliminar los residuos orgánicos, generados en el proceso de producción-selección-empaque del fruto. Uno de los residuos en este proceso es el pizonte, siendo este la parte de la planta que sostiene los racimos de plátano, tiene una humedad de 92 a 94%. Gallo *et al.* (1972) refiere que del corte de la fruta se generan 0.7 t/ha de pizonte, el cual puede alcanzar un porcentaje de lignina de 7.4 % (Aparecida, 2001).

El pizonte de plátano fue uno de los sustratos de prueba para esta investigación, se seleccionó por su presencia y abundancia en el área de estudio y la cantidad de lignina que puede aportar al sistema de las biocamas. En la figura 4 se puede observar la parte del árbol de plátano que recibe el nombre de pizonte.

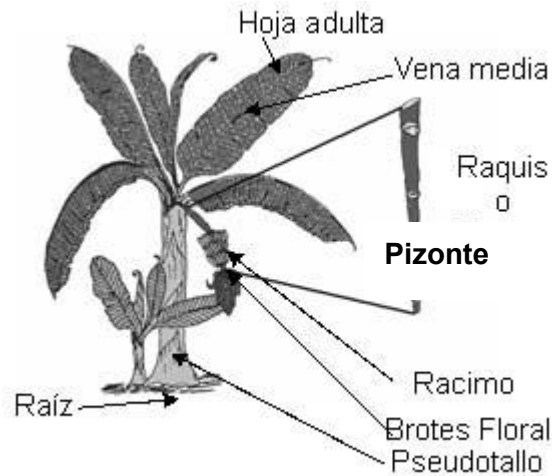


Figura 4. Partes del árbol de plátano. (Fuente: Cultivo de Plátano y banano en Venezuela, 2012)

*Eucalipto*: El eucalipto (*Eucalyptus ssp*) es el árbol más reconocido de la flora australiana por sus cualidades de rápido crecimiento y gran cobertura mundial, y es de aprovechamiento comercial (Brañas *et al.*, 2000; Murillo, 2010). Recientemente la industria de la madera ha concentrado su interés en alternativas para la gestión y el uso de residuos de la actividad forestal, las cuales se han enfocado a su recuperación energética (Cerde, 1998), por su alto contenido de celulosa y lignina se están realizando estudios para el potencial de uso en el cultivo y producción de hongos comestibles (Varnero, 2010). En este estudio se seleccionaron las astillas de eucalipto, debido a que en el estado de Tabasco se cuenta con 13 plantaciones de eucalipto para uso comercial con una superficie de 11689 ha (SEMARNAT, 2001; Murillo, 2010), y su aportación de lignina de 20 a 25% (Kononova, 1982) en las biocamas.

En los siguientes capítulos se verán los productos sustentados bajo los conceptos que se han referido en esta introducción.



### 1.3.10 Referencias

- Albert L. 2005. Panorama de los plaguicidas en México. Revista de toxicología en línea [Consulta: 20 enero 2011]. <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>
- Aparecida L. 2001. Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira, Dissertação de Mestrado, Unidade Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Estado de São Paulo, Brasil.
- Aust S. D. 1990. Degradation of environmental pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microb. Ecol.*, 20(56):197–209.
- Barberá C. 1976. Pesticidas agrícolas. 3ª edición. Omega Barcelona.
- Brañas J. González-Río F. y Merino A. 2000. Contenido y distribución de nutrientes en plantaciones de *Eucalyptus globulus* del Noroeste de la Península Ibérica. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 9: 316-335.
- Beltrán-García M.J., Manzo-Sánchez G., Orozco-Santos M., Ogura T. 2009. Sigatoka negra. Consejo nacional de ciencia y tecnología. Ciencia y desarrollo. México, D. F. [Consultado: 16 junio 2014] <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/232/Articulos/SigatokaNegra/Sigatoka5.html>
- Castillo M. D. P., Torstensson L. and Stenström J. 2008. Biobeds for environmental protection from pesticide use: a Review. *J. Agrc. Food Chem* 56(15): 6206-6219.
- Castillo M. D. P. and Torstensson, L. 2007. Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 5725–5733.
- Castillo M. D. P. Ander P. and Stenström J. 1997. Lignin and manganese peroxidase activity in extracts from straw solid substrate fermentations. *Biotechnol. Tech.*, 11:701–706.

- Sifontes, M. C., y Domine, M. E. 2013. Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 4(4), 15-46.
- Cerda I. 1998. Trayectoria del sector forestal chileno: Sus logros y desafíos. Instituto Forestal. Santiago, Chile, 3-91.
- Contreras M. D. E. 1982. El chamusco negro, una nueva enfermedad de la hoja de plátano. Centro regional Puyacatengo, Teapa, Tabasco. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Coppola L. Castillo M. D. P. Monaci E. and Vischetti C. 2007. Adaptation of the biobed composition for chlorpyrifos degradation to southern Europe conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 396–401.
- Cornelio G. Y. 2001. Evaluación preliminar de toxicidad por plaguicidas (Mancozeb) en agua y sedimentos en la zona zlatanera del Rio Teapa, Tabasco, México. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México.
- Cultivo del plátano y el banano en Venezuela. 2012. [Recuperado: 21 junio 2015].  
<http://www.scielo.cl/fbpe/img/infotec/v20n4/fig13-1.jpg>  
[http://platanoybananoenvenezuela.blogspot.mx/2012\\_05\\_01\\_archive.html](http://platanoybananoenvenezuela.blogspot.mx/2012_05_01_archive.html)
- Debaer C. and Jaeken P. 2006. Modified biofilters to clean up leftovers from spray loading and cleaning; experience from pilot installations. *Aspects Appl. Biol.* 77: 247–252.
- Díaz N. A. Bárcena R. J. Fernández R. E. Galván C. A. Jorrín N. J. Peinado P. J. Meléndez-Valdés F. and Túnez F. Y. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. [Recuperado: 11 enero 2011] [http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETR%C3%80DA.pdf](http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%80DA.pdf)
- Domínguez-Guilarte O. Ramos-Leal M. Sánchez-Reyes A. Manzano-León A. Argüelles-Álvarez J. Sánchez-López M. y Guerra-Rivera G. 2011. Degradación biológica de contaminantes orgánicos persistentes por hongos de la podredumbre blanca. *Revista CENIC. Ciencias*

- Biológicas. 42, (2):pp. 51-59 Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciudad de La Habana, Cuba
- Fait G. Nicelli M. Fragoulis G. Trevisan M. and Capri E. 2007. Reduction of point contamination sources of pesticide from a vineyard farm. *Environ. Sci. Technol.* 41: 3302–3308.
- FAO 1990. Código internacional de Conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Roma.
- Fulvio A. Mata R. Alvarado A. Serrano E. y Laguna J. 2010. Caracterización química y clasificación taxonómica de algunos suelos cultivados con banano en las llanuras aluviales del Caribe de Costa Rica. *Agronomía costarricense* 34(2): 177-195. ISSN: 0377-9424/2010
- Gallo, J. R., Bataglia, O. C., Furlani, P. R., Hiroce, R., Furlani, A. M. C., Ramos, M. T. B., & Moreira, R. S. 1972. Composição química inorgânica da bananeira (*Musa acuminata* Simmonds, cultivar Nanicão). *Ciência e Cultura, São Paulo*, 24(1), 70-79.
- Gobierno del Estado de Colima. Vázquez CRA, Romero CJ, Figueroa V, Munro OD. 2005. Paquete tecnológico para el cultivo de plátano. Colima, México.
- Houeto P. Bindoula G., Hoffman, J.R. 1995. Ethylenebisdithiocarbamates and Ethylenethiourea: Possible human health hazards. *Environmental Health Perspectives*. 105 Suppl 6: 568 – 573.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2001. Síntesis geográfica del estado de Tabasco y Anexo cartográfico. Gobierno del Estado de Tabasco. Aguas Calientes, México.
- Kegley S.E. Hill B.R. Orme S. and Choi A.H. 2014. Ethylene thiourea - Identification, toxicity, use, water pollution potential, ecological toxicity and regulatory information. PAN Pesticide Database. Pesticide Action Network, North America, Oakland, California. [Consulta: 20 enero 2011] [http://www.pesticideinfo.org/Detail\\_Chemical.jspRec\\_Id=PC33208](http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jspRec_Id=PC33208).

- Kononova M. M. 1982. *Materia orgánica del suelo su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. 1era edición. Editorial Oikos. Barcelona.
- León-Martínez T. Dopico-Ramírez D. Triana-Hernández O. y Medina-Estevez M. 2013. Paja de la caña de azúcar. Sus usos en la actualidad. ICIDCA. *Sobre los Derivados de la caña de Azúcar*, vol. 47, núm. 2, mayo-agosto, pp. 13-22.
- López, R. N., (2004). *Historia del plátano roatán en Tabasco*. Gobierno del Estado de Tabasco, Secretaria de Cultura, Recreación y Deporte (SECURED), Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), Villahermosa, Tabasco. México.
- Mellado, M. V. 2007. *Determinación de plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases, en agua subterránea del municipio de Guasave, Sinaloa*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena Vista Saltillo, Coahuila. México. 150 p.
- Murillo. DR. A. 2010. *La materia orgánica del suelo en seis agroecosistemas de la sabana de Huimanguillo, Tabasco, Cárdenas, Tabasco, México*. 90 p.
- Narváez V. J. Palacio B. J. y Molina P. F. 2012. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad. *Revista Gestión y Ambiente*. Medellín. España. 15(3):27-38.
- Ortíz P.M.A. Siebe C.C. and Cram S. 2005. Diferenciación ecogeográfica de Tabasco. En *Biodiversidad del Estado de Tabasco*. Bueno J. Álvarez F. Santiago S. Editors. Instituto de Biología, UNAM-CONABIO. México, D.F. pp 305-322.
- Pinilla-Monsalve GD, Manrique-Hernández EF, Caballero-Carvajal AJ, Gómez-Rodríguez E, Marín- Hernández LR, Portilla-Portilla A, et al. 2014. Neurotoxicología de Plaguicidas prevalentes en la región andina colombiana. *MÉD.UIS.*; 27(3):57-67.
- River R. D. 2001. Ficha de datos de seguridad. River Canarias Industrial, S. A. [en línea]: River Fungicida. Royas: Mancozeb < <http://www.river-canarias.com/fichaspdf/hormonas.pdf>> [Consulta: 20 enero 2011]

Sánchez M. M., Sánchez C. M. 1984. Los Plaguicidas adsorción y evolución en el suelo. Instituto de recursos naturales y agrobiología. 1ª Edición. Diputación Provincial Salamanca, España.

Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP). (2014). Financiera Nacional de Desarrollo (FND). Panorama del plátano. [Recuperado: septiembre 2014].  
[http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Pl%C3%A1tano%20\(jul%202014\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Pl%C3%A1tano%20(jul%202014).pdf)

SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2015. Anuario de Estadística básica agrícola. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México. <http://www.siap.gob.mx>. Fecha de consulta: 22 de agosto de 2015.

Torstensson L. 2000. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. *Pestic.* 11, 206–212.

Turrado J. Saucedo A. Sanjuán R. Sulbaran B. 2009. PINZOTE de *Musa balbisiana* y *Musa acuminata* como fuente de fibras para papel. *Información Tecnológica*. Vol. 20(4): 117-122.

United State environmental protection agency. (USEPA). 2005. Mancozeb Facts. Prevention Pesticides and Toxic Substances. EPA 738-F-05-XX.

Varnero M. T. Quiroz M. S. y Álvarez C. H. 2010. Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo *Ostra* (*Pleurotus ostreatus*). *Información Tecnológica*. 21(2): 13-20.

World Health Organization (WHO) 1988. Dithiocarbamates pesticides ethylenethiourea, and propylenethiourea: a general introduction. *Environmental health criteria* 78. Geneva:World Health Organization,17-102.

[Recuperado de] <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc78.htm>

Xu S. 2000.Environmental fate of Mancozeb. California department of pesticide regulation. E. U.



El siguiente capítulo es el inicio de la ejecución de esta investigación, donde se tuvo como primer objetivo, documentar lo ocurrido en cuatro instalaciones de fumigación aérea de la región de la Sierra de Teapa, para evaluar los riesgos laborales en términos del manejo de los plaguicidas usados para la prevención y tratamiento de la plaga del hongo Sigatoka negra, que ataca a las plantaciones de plátano, en ocasiones hasta el grado de perder el producto; el desarrollo consistió en la supervisión de las prácticas de preparación, manejo, almacenamiento del fungicida Mancozeb, entrevistas semi-estructuradas a los responsables y trabajadores de cada aeródromo. El segundo objetivo consistió en determinar posibles efectos ambientales por el manejo del fungicida, en esta etapa se realizó el muestreo y análisis de agua y suelo con un bioensayo de toxicidad aguda con *Vibrio fischeri*, utilizando suelo y agua no contaminados para establecer los niveles de fondo en campo.

Los resultados revelaron riesgos para la salud de los trabajadores por el uso inadecuado de los equipos de protección personal, el uso excesivo de plaguicidas, se observó falta de reutilización de la solución de fumigación sobrante, el diseño deficiente de las instalaciones y el manejo inadecuado de las aguas residuales, lo que resulta en una toxicidad máxima de más de cinco veces de fondo en el agua descargada.

La comparación de los valores de toxicidad en muestras de aguas residuales y de suelo colectadas en paralelo, sugiere procesos de degradación de Mancozeb a su producto de degradación intermedio más tóxico (y mutagénico), ETU, así como la sedimentación y la posible degradación adicional. Las recomendaciones para los trabajadores y el ambiente incluyen el uso correcto y consistente de los equipos de protección, la reutilización de las soluciones de fumigación sobrantes, la reducción de las aguas residuales y el tratamiento adecuado de las mismas.

**CAPÍTULO II. OCCUPATIONAL AND  
ENVIRONMENTAL RISKS FROM MANCOZEB IN  
AVIATION FACILITIES IN THE BANANA PRODUCING  
AREA OF TEAPA, TABASCO, MÉXICO.**

**RIESGO OCUPACIONAL Y AMBIENTAL DEL  
MANCOZEB EN INSTALACIONES DE FUMIGACIÓN  
AÉREA EN LA ZONA DE PRODUCCIÓN BANANERA  
DE TEAPA, TABASCO, MÉXICO**



**Occupational and Environmental Risks from Mancozeb in Aviation Facilities in the Banana Producing Area of Teapa, Tabasco, México.**

Verónica I. Domínguez-Rodríguez<sup>1\*</sup>, José J. Obrador-Olán<sup>1\*</sup>, Randy H. Adams<sup>2</sup>, Joel Zavala-Cruz<sup>1</sup>, Humberto Vaquera-Huerta<sup>3</sup>, Armando Guerrero-Peña<sup>1</sup>, Edith Miranda-Cruz<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>*Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Periférico Carlos A. Molina S/N Carr. Cárdenas-Huimanguillo Km 3.5. H. Cárdenas, Tabasco. México.*

<sup>2</sup>*Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Biológicas, Carr. Visa-Cárdenas Km 0.5 Entronque Bosques de Saboya, Villahermosa, Tabasco, México*

<sup>3</sup>*Colegio de Postgraduados Campus Montecillo,*

<sup>4</sup>*Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Agropecuarias, Km 25+2 de la Carr. Vhsa-Teapa R/a La Huasteca 2da. Secc. Centro, Tabasco. México.*

*\*For correspondence e mail: obradoro@colpos.mx Tel. 01 (937) 3724099 and 3722297; dominguez.veronica@colpos.mx Tel 01 (993) 3 544308, 3 581500 Ext. 6467*

**Título:** Riesgo ocupacional y ambiental del Mancozeb en instalaciones de fumigación aérea en la zona de producción bananera de Teapa, Tabasco, México.

**Resumen**

**Objetivo:** *En las cuatro instalaciones de fumigación aérea en la región bananera Sierra de Teapa, Tabasco, evaluar los riesgos laborales y los impactos ambientales del uso de Mancozeb.*

**Métodos:** *Para identificar los riesgos a salud ocupacional, se documentaron las prácticas de manejo del pesticida Mancozeb en las cuatro instalaciones de fumigación aérea en la región bananera Sierra y se llevaron a cabo entrevistas semi-estructuradas con los encargados de cada instalación. Para evaluar los impactos ambientales, se colectaron y analizaron muestras de agua y suelo en un bioensayo de toxicidad aguda con *Vibrio fischeri*, utilizando suelo y agua no contaminados para establecer los niveles de fondo en campo.*

**Resultados:** *Se encontraron graves riesgos para la salud de los trabajadores por el uso inadecuado de los equipos de protección personal de los trabajadores, incluso en las dos instalaciones más grandes y mejor equipadas. Además, el uso excesivo de plaguicidas, se observó falta de reutilización de la solución de fumigación sobrante, el diseño deficiente de las instalaciones y el manejo inadecuado de las aguas residuales, lo que resulta en una toxicidad máxima de más de cinco veces de fondo en el agua descargada. Muestras de suelo paralelas a las muestras de agua resultaron con una toxicidad superior a 20 veces más que el nivel de fondo, siendo la muestra de mayor toxicidad la ubicada a más de medio kilómetro del punto de descarga.*

**Conclusión:** *Una comparación de los valores de toxicidad en muestras de aguas residuales y de suelo colectadas en paralelo, sugiere procesos de degradación de Mancozeb a su producto de degradación intermedio más tóxico (y mutagénico), ETU, así como la sedimentación y la posible degradación adicional. Las áreas de oportunidad para mejorar la salud de los trabajadores y el ambiente incluyen el uso correcto y consistente de los equipos de protección, la reutilización de las soluciones de fumigación sobrantes, la reducción de las aguas residuales y el tratamiento adecuado de las mismas.*

**Palabras clave:** Sigatoka Negra; ETU; plaguicidas; Mancozeb; aeródromos, Microtox.

**Title:** Occupational and Environmental Risks from Mancozeb in Aviation Facilities in the Banana Producing Area of Teapa, Tabasco, Mexico.

**Abstract**

**Purpose:** *To identify occupational risks and practices in the four aerial fumigation facilities in the Sierra banana growing region and to evaluate environmental impacts from Mancozeb use.*

**Methods:** *Occupational health risks were identified and practices in the four aerial fumigation facilities in the Sierra banana growing region were documented. Semi-structured interviews were conducted with installation managers. To evaluate environmental impact, samples of water and soil were collected and analysed in an acute toxicity bioassay with *Vibrio fischeri*, using uncontaminated soil and water to establish background levels.*

**Results:** *Even in the largest and best-equipped facility, serious risks to workers' health were encountered from inadequate use of protective equipment by workers. Furthermore, excessive use of pesticide, lack of re-use of unused product, poor facility design and poor use of wash-water were observed, resulting in a maximum toxicity of over five times background in discharged water. Parallel soil samples were over 20 times more toxic than background, being most toxic at over half a kilometre from the discharge point.*

**Conclusion:** *A comparison of toxicity values in wastewater and soil samples collected in parallel suggests processes for degradation of Mancozeb to the more toxic (and mutagenic) intermediate, ethylene thiourea, as well as sedimentation and possible further degradation. Areas of opportunity to improve worker health and the environment include proper and consistent use of protective*

*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

*equipment, re-use of unused product, wastewater reduction and appropriate wastewater treatment.*

**Key words:** Black Sigatoka, Ethylene thiourea, Fumigation, Pesticide, Mancozeb, Airports, Microtox, *Vibrio fischeri*, Occupational health risks, Toxicity.

## **INTRODUCTION**

Agricultural production is vital to satisfy human nutritional needs but is often achieved through excessive use of pesticides, which may themselves cause risks to humans during production and consumption. In tropical regions, high humidity favours fungal growth and thus fungicide use is common for control of pre- or post-harvest disease in crops [1, 2]. Among these plantations, banana is especially important; in some areas it is considered to be one of the four main food staples after rice, wheat and milk [3]. In Mexico, Tabasco is the second most important producer of banana [4]. However, this area has been affected by the fungal disease known as Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet), growing on leaves and fruit and leaving spots, reducing the production level and commercial value of the fruit [1, 5]. For control, Mancozeb, the ethylene bis-dithiocarbamate (EBDTC) of manganese, is used, which has moderate to acute toxicity to non-target species [6]. However, Mancozeb is spontaneously degraded in the environment by chemical oxidation, photolysis, hydrolysis and microbial metabolism to ethylene thiourea (ETU) [7], which is mutagenic [8]. Mancozeb has been found in discharge drains into the Teapa River, with toxicities double the background level [9]. This is especially problematical in the winter (norther, “nortes”) season, which is accompanied by frequent but light rains, producing high ambient humidity. This

area, including the Teapa and Tacotalpa municipalities of Tabasco, and the Pichucalco municipality of Chiapas, is known as the “Sierra” (mountain range) banana zone, lying at the foot of the Chiapas Mountain Range. It can have annual precipitations >3000 mm [10], favouring the growth of fungus. This has led to an ever increasing application rate of fungicide by producers, and the subsequent probability of run-off, infiltration, and aquifer contamination [2].

In this study, fumigation aerodromes serving the Sierra banana zone were characterized and occupational health risks were identified by inspection of the installations and interviews with the proprietors and managers. Also, toxicity was measured in soil and wastewater in the highest capacity aerodrome serving the region. Results were used to support recommendations put forth to achieve an adequate management of fungicide in the aviation facility itself (pre-fumigation).

## **EXPERIMENTAL**

**Study Area:** The Sierra Banana Producing Region is located in the UTM quadrant 15Q, between coordinates 501000E, 1959000N; 510000E, 1959000N; 501000E, 1941000N; and 510000E 1941000N. With an extension of ~28300 ha, it has a tropical humid climate, with rains throughout the year, an average annual precipitation of 3500 mm and an average annual temperature of 26 °C [11].

The physiographical regions in the study area have been described as High Alluvial Plain (River Levee), Medium Alluvial Plain, Low-concave Alluvial Plain and Mountain zone [12]. It is worth

mentioning that the study area is located in the ecogeographical unit named Interior Fluvial Plain of the Sierra River [13].

Classified according to the World Reference Base system [14], the predominant soils correspond to Fluvisols, Gleysols and Vertisols [12]. They are of medium depth and intermediate textures, with smectite and illite clays predominating, and a water table at a depth of  $\leq 2$  m. They are cultivated principally for pasture in the flattest (lowest) areas, and near the rivers, for banana, cacao, corn and sugar cane. Flooding results in accumulation of thick sediments forming river banks and natural levees up to 500 m wide, where the soils are well drained. Adjacent to these areas, there are isolated flood plains with minimal water flow, where finer grained minerals are deposited, characteristically gleyic in nature. In the lowest parts of these flood plains, settling basins are formed, where the water flow is minimal and in which the finest grained minerals are deposited [13].

This study was conducted with permission of the aerodrome owners or operating managers: in the installation “La Pista” with permission of the manager, Agr. Eng. Francisco Javier Figueroa López, in “La Florida” with permission of the owner M. V. Z. Ezequiel Contreras Martínez E. (Productores Agrícolas de la Sierra, S.C. de R.L. de C.V.), in “Monterrey”, with permission from the owner, Dr. Horacio Luque, and in “Jorge Efraín” by the owner/operator Capt. José Gabriel Pérez Esquinca.

**Prospective Visits and Interviews:** Prospective visits were made to observe the conditions and water management at the aerodromes as well as to interview management personnel. The

particulars of the fungicide preparation, loading and solution applications, and wastewater treatment were observed. Information collected included: plant disease most affecting fruit production, chemical control product(s) used, application type, annual fumigation cycles, doses, management and product knowledge, application description and hectares in production. Other information obtained by observation was with respect to pesticide management previous to application, and general status/upkeep of the installations

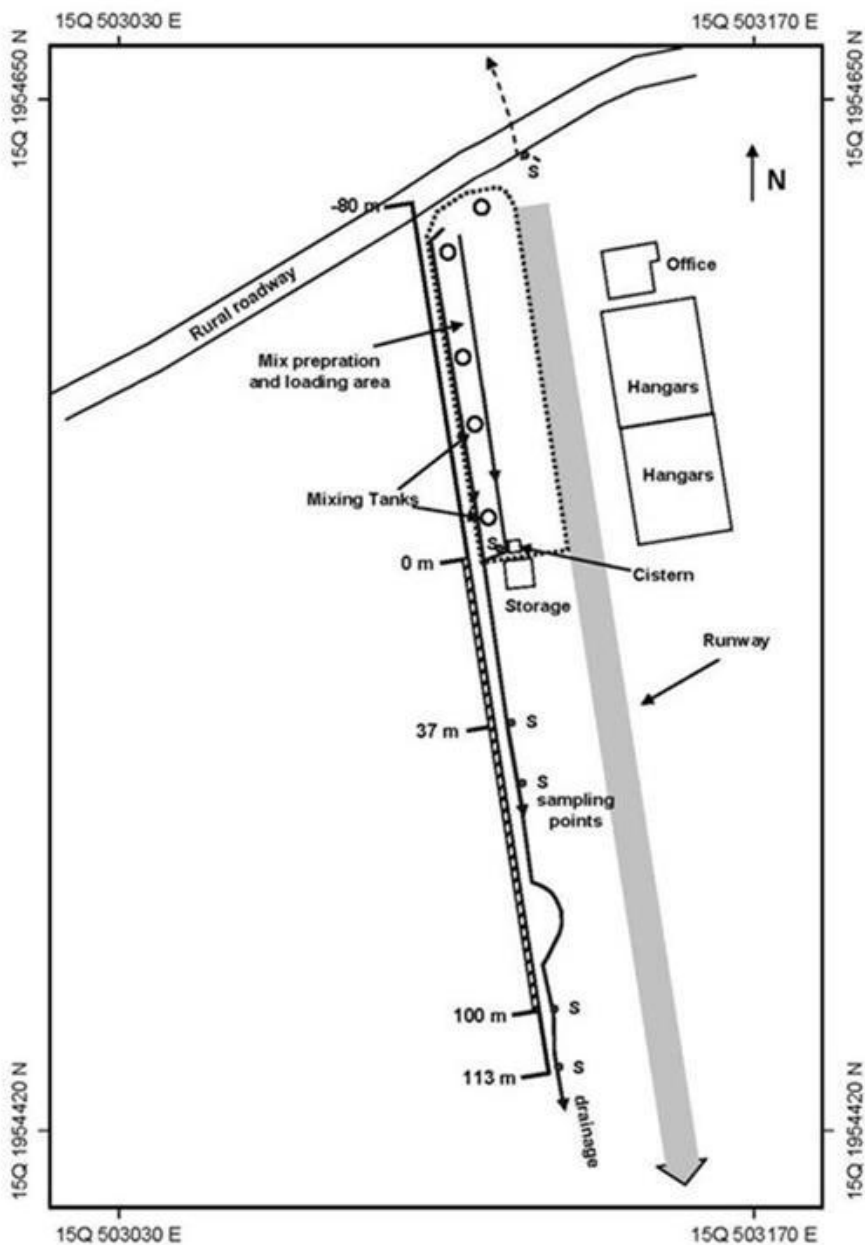
**Sampling:** In the aerodrome with the greatest coverage, discrete wastewater samples were collected at different distances from the source following the discharge canal [15], to determine toxicity. Likewise, parallel surface soil samples were collected on the canal banks [16]. Additionally, a control soil sample was obtained distant from the discharge area, to determine background soil toxicity. Samples were collected in glass jars with a Teflon seal-cap. The jars were covered in aluminium foil to avoid possible solar radiation, and labelled. They were maintained at a temperature of <math>20^{\circ}\text{C}</math> during transport, to minimize possible alterations and stored in the laboratory at  $4^{\circ}\text{C}$  until analysis.

In the largest and potentially most contaminating aerodrome, toxicity samples were collected on wastewater and adjacent soil (see Figure 1 for general layout). The facility consists of two hangars, an office, the runway, a product mixing and loading area, storage facilities and a drainage canal.



In Figure 1, most of the sampling points are indicated, with the exception of the farthest sampling points, at 150 m and 500 m from start of the canal, and a nearby reference (uncontaminated) soil, due to scale limitation.

**Figure 1.** Distribution of sampling points in the major aviation fumigation facility.



**Toxicity Analysis:** To evaluate environmental impacts, acute toxicity was analysed in water and  
*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

soil using the Microtox® bioassay, using a bioluminescent bacterium (*Vibrio fischeri*, previously classified as *Photobacterium phosphoreum*) as the test organism [17]. Upon being subjected to potentially toxic samples, the light production of the bacteria is measured and compared to a blank.

**Evaluation of Results:** The Effective Concentration-50 (EC<sub>50</sub>) was calculated for soil samples, which corresponds to the concentration of sample in a dilution which produces a reduction of 50% in the bioluminescence, as compared to a blank. Toxicity Units (TU) were calculated thus:  $TU=1/EC_{50}$ , when EC<sub>50</sub> is represented as a proportion (i.e. EC<sub>50</sub> of 100000 ppm is equivalent to 0.1 as a proportion;  $TU=1/0.1=10$ ). Toxicity in contaminated (tests) samples, were compared to uncontaminated soil of the same type from the study area to discern if the toxicity observed in the test sample was indeed due to fungicide (Mancozeb) contamination, or if it merely reflected natural, background levels.

For water samples, the bioluminescence corresponding to 100% sample was calculated and compared to the scale developed by Kross and Cherryholmes for leachates [18], based on the assumption that uncontaminated water essentially has no toxicity.

## RESULTS

**Pesticide Management-Field Observations:** According to interviews, the most important banana disease in the area is Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet). The principal product used to control the fungus by aerial fumigation is Mancozeb, the ethylene bis-dithiocarbamate of magnesium and zinc (CAS No. 8018-01-7, CIPAC No. 34, UNO No. 3077). According to aerodrome management personnel, the fungicide is applied in the study area at 2 kg ha<sup>-1</sup>. It is administered in solution, with 7.3% (w/v) Mancozeb and 1.8 % (w/v) of pine resin (an emulsifier), with an application of 42 to 50 times annually. Most of the year, Mancozeb is applied once a week, but during the “norther” season, it is applied twice a week.

In the aerodromes visited, Mancozeb was found in 50 kg sacks, which are dumped by workers into mixers of a little over 5500 L capacity. In the mixers, the product plus resin is mechanically mixed in water, and pumped through hoses to the aircraft. The workers have at their disposal complete personal protective equipment. None-the-less, they use only long sleeve overalls and rubber boots as protective equipment (which is not in compliance with the recommendations on the Material Safety Data Sheet for the product). The planes are sprayed down and cleaned with soap and water periodically during the morning fumigation routine, and after the fumigation session is over. During these additional activities, the workers still only use overalls and rubber boots.

On the positive side, two of the four operators in the area, including the largest, use GPS for programmed delivery of product, thereby reducing unintended spraying. The area fumigated by the four facilities in the area is ~10500 ha including Teapa, Tacotalpa and Pichualco

municipalities. To serve this area at the above mentioned aerial application rate, it is necessary to use up to 1092 tons of Mancozeb annually.

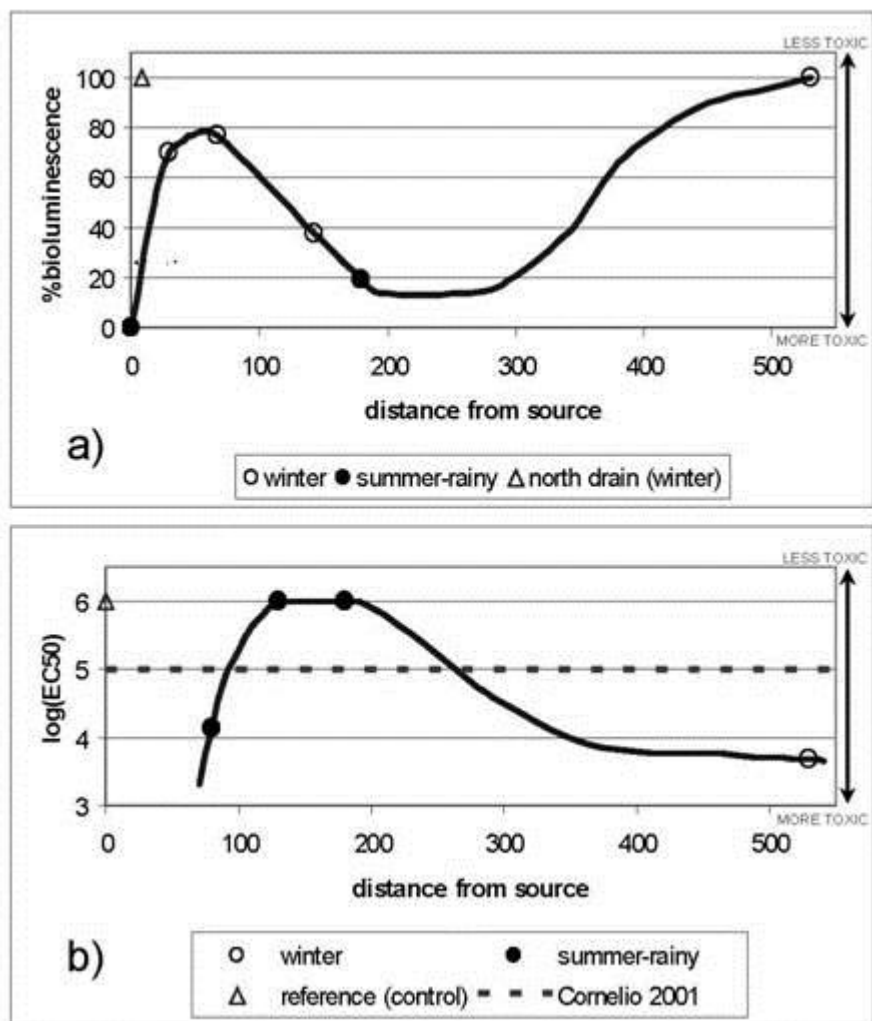
**Toxicity Analysis:** Data for wastewater and soil toxicity are presented in Tables 1 and 2, and Figure 2. In this scheme, the mixing tank area is considered the source area, located about 30 m up-gradient from the beginning of the wastewater discharge canal. From the mixing tank area to the start of the discharge canal there is an increase in bioluminescence in the wastewater, corresponding to a reduction in toxicity. In this area, besides the loading of product in the planes, washing of the planes as well as the mixing tanks themselves takes place, which was measured in the field to use ~7450 L during each morning work period.

**Table 1.** Toxicity in wastewater samples

<b>Season</b>	<b>Location</b>	<b>% Bioluminescence (100% sample)</b>	<b>Toxicity</b>
Summer rainy season (Jun-2011)	Mix tank	0	Very toxic
	150 m (discharge canal)	19	Very toxic
Winter (Jan-2012)	0 m (discharge canal)	70	Slightly toxic
	37 m (discharge canal)	77	Slightly toxic
	113 m (discharge canal)	38	Toxic
	500 m (discharge canal)	100	Non-toxic
	North road drain	100	Non-toxic

**Table 2.** Toxicity in sediment samples

Season	Location	EC50 (mg/L)	Toxicity Units	Toxicity
Summer rainy season (Jun-2011)	50 m (discharge canal)	<13 468	>74.2	Very toxic
	100 m (discharge canal)	>1 000 000	0	Non toxic
	150 m (discharge canal)	>1 000 000	0	Non toxic
	uncontaminated reference soil	>1 000 000	0	Non toxic
Winter (Jan-2012)	500 m (discharge canal)	4 820	208	Very toxic



**Figure 2.** Relationship between toxicity and distance from source in water and sediment

a) Percent bioluminescence in 100% samples of wastewater. b) Logarithmic scale of Effective Concentration-50 in soil samples.

The dotted line is the non-toxic reference level from the same area [9]. For both graphs, the mixing tank area was taken as the source starting point.

## DISCUSSION

**Pesticide Management:** The major banana disease found in this area, Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet), is a foliar disease caused by a fungus that grows in the leaves and fruit, spotting it and reducing the commercial value [1, 5]. The principal chemical used to control this disease, Mancozeb, has a protective action for the plant, and only a short half-life of approximately 15-21 days. In humans it is an irritant to skin, eyes and mucous membranes, and can be noxious by ingestion, inhalation and by absorption through the skin [19, 20]. Under certain conditions, it can emit inflammable vapours and cause violent and explosive reactions. Its principal degradation product, ethylene thiourea (ETU), is considered mutagenic, teratogenic and antithyroidic in humans [21], and there are numerous reports of high toxicity of ETU in fish [19]. Thus, although Mancozeb itself is not classified as carcinogenic, its principal degradation product is (see Table 3).

**Table 3.** Potential exposure pathways and noxious effects for Mancozeb and ETU

Exposure pathway	Chemical	
	Mancozeb	ETU
Skin and eyes (contact)	Irritation	Irritation
Ingestion	Psychomotor system damage, tumors	Thyroid damage
Inhalation	Irritation of respiratory pathways, psychomotor system damage	Thyroid damage, tumors



One study in another tropical area demonstrated that after applying Mancozeb to soil, the ETU concentration continued to increase for up to 30 days before declining, due to natural attenuation [22]. Considering the application frequency used in the subject area in the present study (approximately weekly), it is assumed that ETU will accumulate, creating risks of adverse effects to human health and environment (see Table 3).

In many countries Mancozeb has been prohibited (e.g. Belize and California, USA), and some users in Ecuador have been sued for poor management and impacts to worker safety [23]. It is listed as a hazardous chemical in the United States and as potentially dangerous to worker health and safety [24]. According to the manufacturers, extra care must be taken to skin, eye and inhalation exposure, and it should not be stored in fumigation facilities [25, 26]. However, we observed that although in some of the aerodromes the product was transported from the supplier to the aviation facilities early in the morning for same-day application; in others the product was indeed stored for subsequent use.

Likewise, only some of the facilities have registered themselves in the Campo Limpio (“clean countryside”) program. This program (Programa Nacional de Recolección de Envases Vacíos de Agroquímicos y Afines “Conservemos un Campo Limpio”) is administered by the National Service of Health, Safety and Agricultural Food Quality (SENASICA) a dependency of the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fishing and Food [26]. The purpose of the program is the recollection and adequate disposal of empty agrochemical packaging material

(bottles and sacks) [27].

The amount of fungicide administered in the study area is equivalent to 84–100 kg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>, which is triple the level permitted for integrated production in some countries, for example, by the National Institute of Agriculture and Livestock Research, Uruguay [28]. It is worrying to think that in countries in which this product has been restricted, the fumigation dose is only 1 kg ha<sup>-1</sup> with only 22 applications annually. Thus, in the study area the actual application rate is roughly four times that which has already been restricted in other countries.

This application frequency practically assures the accumulation of Mancozeb and ETU [2]. None-the-less, it appears that the product users are unaware of this potentiality. They manifest a confident attitude with respect to product use, mentioning that it is only “slightly toxic and does not present a risk”. It is assumed that this attitude is due to the lack of knowledge about the potential risks of Mancozeb to human health that can occur with its excessive use, as well as the confidence of facility workers. This, coupled with the high temperature and humidity in the region, which makes the use of more complete protective equipment uncomfortable (such as masks, goggles, aprons and gloves), may be the reason that aerodrome workers do not use adequate security equipment.

On the positive side, the use of GPS for programmed delivery of the product in the field, used by two of the four aerodromes, reduces spraying of unintended areas (including schools and residential areas), and also the occupational exposure of flagmen in the field. Unfortunately, those

operators that do not use this system may cause co-spraying of unintended areas [29].

**Toxicity Analysis:** The toxicity level scale used here is that proposed for leachate water by Kross and Cherryholmes, using a quarter-log scale based on the inhibition of bioluminescence in undiluted wastewater (100% sample) [18], and on the assumption that natural, uncontaminated water (rain, streams, etc.) is non-toxic. According to these authors, the indeterminate range (according to the precision of the method) corresponds to ~1-10% reduction in bioluminescence in 100% samples; 10% being ~1% in the logarithmic scale.

For soil and sediment samples a different scale was used, based on a modification of the scale proposed by Kross and Cherryholmes [18], as used and elaborated by Cornelio [9]. The potential background toxicity to the test organism is taken into consideration, since there may be naturally occurring toxic compounds in the soil which affect the test organism, a bacterium of marine origin and not from soil. The quarter-log scale is normalized based on the background toxicity of regional soils from Tabasco State.

From the mixing area to the discharge canal, there is an increase in bioluminescence, corresponding to a reduction in toxicity. It is probably due mainly to dilution. In this area, the planes are washed, and the toxicity may be diluted with the excess water (7450 L/work period). Between 30–67 m, a little more reduction in toxicity (increase in bioluminescence) is observed, possibly due to more dilution, chemical and photo-degradation. Subsequently, between 67-180 m,

the toxicity increases, conceivably from the transformation of Mancozeb into ETU (which is more toxic) in the discharge canal itself. Finally, between 180–530 m, the toxicity is eliminated in the wastewater. This may be in part from degradation of the Mancozeb and ETU, as well as precipitation from the water into the sediments.

Observing the toxicity pattern in the parallel soil samples, a similar tendency is noticed but delayed. When wastewater in the drain starts to show less toxicity, after about 200 m from the source, the toxicity in nearby soil increases. This may indicate sedimentation of toxic compounds (such as ETU) and toxicity reduction in water. However, at 0.5 km from the source, the soil is still very toxic, and will likely continue to be source of secondary surface water and/or ground water contamination (surface run-off, infiltration). Thus, although the surface water is essentially non-toxic, the potential for continued toxicity from the contaminated sediments may be an important environmental risk.

**Recommendations for improved pesticide management:** In light of the results obtained, and considering the importance of banana production for the region, it is important to carryout fumigation activities sustainably, such that worker's health is preserved. For this purpose, we have developed the following recommendations to implement in the aviation facilities.

1. A large reduction in the volume of wastewater generated with Mancozeb is required, through

judicious use and re-use of residual product, according to the Manual for the Training Course on Risks due to Pesticide Use [30], as well as infrastructure changes.

2. Implementation of wastewater treatment technology to avoid contamination of soil and groundwater. The biobed technology developed in Sweden [31], may be particularly useful, but it is recommended that it only be put into practice after a large reduction in wastewater volume has been achieved.

3. Facility workers need to be trained according to the Manual for the Training Course on Risks due to Pesticide Use (Curso de Capacitación Sobre el Riesgo por el Uso de Plaguicidas) [30].

4. Conditions in the fumigation facilities should be in accordance with Convention No.184 on Health and Safety in Agriculture [32], along with Recommendation No. 192, which states that waged agricultural workers, are guaranteed in international law the same rights and levels of protection as other categories of workers.

5. The disposal of containers used for pesticides and co-adjuvants should be in accordance the “Campo Limpio” (Clean Countryside) program coordinated by the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fishing and Food through the National Service of Health [26], Safety and Agricultural Food Quality (SENASICA), and based in the General Law for the

Prevention and Integral Management of Wastes [33].

6. Periods of de-toxification for workers.

7. Reduction in the quantities of Mancozeb applied, considering the different seasons of the year, with reductions especially in the dry season when the humidity, and thus fungal growth, is reduced. During this period the application may not be especially productive, but only cause secondary effects in nearby communities.

8. Great care should be taken to reduce secondary exposure due to rainy or windy conditions in which product may be washed away and/or dispersed by wind, causing a less effective pesticide application, but greater secondary effects in the community.

By these means, one can contribute to the reduction (or possible prevention) of soil and water contamination and achieve the resulting benefits, as well as comply with several points established in the Federal Law on Vegetable Health [34].

### **Limitations of the study**

Although this study clearly demonstrates the risk to environment and public health due to exposure of this carbamate pesticide, additional work is still needed to more clearly define the risk.

*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

Especially important is a prolonged study on the Mancozeb and ETU dynamics in the soil and water with respect to accumulation and dissipation, potential for cancer risks and long term, chronic effects. This would be important in the major aerodrome in the region, to be complemented by studies in the secondary aerodromes. Also, more research into effective but low cost management and treatment schemes is needed to reduce effluent discharge. It is especially important that these methods be logistically and economically feasible considering local social customs and economics.

## **CONCLUSIONS**

Specific difficulties with the proper management of fungicide were observed, even in the largest and best-equipped aviation fumigation facilities. Areas of opportunity were identified with respect to improvements in occupational hygiene, product re-use, wastewater reduction, and wastewater treatment. When toxicity was evaluated in the wastewater discharge area, high toxicity was observed which suggest transformation of Mancozeb to ETU as well as sedimentation of toxic products in the discharge canal, which may be a long-term source of secondary contamination to soil, surface water and groundwater. General and specific actions should be taken to mitigate this situation and reduce risk to workers and the environment.

## ACKNOWLEDGEMENT

To the personnel at the following aerodromes for site access and information on the preparation and use of fungicides: Agr. Eng. Francisco Javier Figueroa López of the installation “La Pista”, the owners of Productores Agrícolas de la Sierra, S.C. de R.L. de C.V. in “La Florida”, Dr. Horacio Luque of “Monterrey”, and Capt. José Gabriel Pérez Esquinca in “Jorge Efraín”. Also to the Colegio de Postgraduados, especially the Cárdenas, Tabasco Campus, and the Remediation Laboratory of the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, for logistical and financial support.

## REFERENCES

1. Contreras M. *El Chamusco Negro (Sigatoka), una Nueva Enfermedad de la Hoja de los Plátanos. Rev. Geogr, Agric. 1982; 4:61- 102.*
2. Geissen V, Que RFJ, Bastidas BP, Díaz GG, Bello MR, Huerta LE, Ruiz SLE. *Soil and Water Pollution in a Banana Production Region in Tropical Mexico. Bull Environ Contam Toxicol. 2010. 85:407–413*
3. Vázquez CRA, Romero CJ, Figueroa V, Munro OD. *Paquete Tecnológico para el Cultivo de Plátano. Colima, México: Gobierno del Estado de Colima; 2005. 72pp*
4. *Gobierno del estado de Tabasco. Plan Rector Sistema Producto Plátano en el Estado de*  
*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*



- Tabasco. Villahermosa, Tabasco. México: Gobierno del estado de Tabasco; 2006; 33pp.*
5. Barberá C. *Pesticidas Agrícolas, 3ª edición. Barcelona, España: Omega Ediciones S.A. 1976.*
  6. Xu S. *Environmental fate of Mancozeb. California department of pesticide regulation. E. U. 2000.*
  7. Domínguez MC, Peñuela G, Flórez MT. *Método Analítico para la Determinación de Etilentiourea (ETU) Subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueño. Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia. 2009; 49:42-49.*
  8. Cornelio GY, *Evaluación Preliminar de Toxicidad por Plaguicidas (Mancozeb) en Agua y Sedimentos en la Zona Platanera del Río Teapa, Tabasco, México. [dissertation] [México]: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México; 2001. 103pp.*
  9. Aceves NLA, Juárez LJF, Palma LDJ, Rivera HB, Rincón RJA, Morales CR, Hernández AR, Martínez SA, Hernández SJL.. *Estudios para Determinar Zonas de Alta Potencialidad de los Cultivos en el Estado de Tabasco. Informe General. Secretaría de Desarrollo Agropecuario Forestal y Pesca Villahermosa, Tabasco, México. 2008; 65pp.*

10. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). *Síntesis Geográfica del Estado de Tabasco y Anexo Cartográfico*. Gobierno del Estado de Tabasco. Aguas Calientes, México. 2001; 118pp.
11. Palma LDJ, D.J. Cisneros, Moreno C.E, Rincón RJJ. *Suelos de Tabasco: Su Uso y Manejo Sustentable*. Gobierno del Estado de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 2007; 120pp.
12. Ortiz PMA, Siebe CC, Cram S. *Diferenciación Ecogeográfica de Tabasco*. In *Biodiversidad del Estado de Tabasco*. Bueno J, Álvarez F, Santiago S. Editors. Instituto de Biología, UNAM-CONABIO. México, D.F. 2005. pp 305-322.
13. IUSSSS International Union of Soil Science Societies. *World Reference Base Working Group. First Edition. Report on World Soil Resources No. 103*. FAO-Rome. 2007.
14. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). *Norma Mexicana NMX-AA-003-1980 Aguas Residuales.- Muestreo. Residual Waters-Sampling*. Dirección General de Normas. México, D.F. 1980. 8pp.
15. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). *Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 que Establece las Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y*  
*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

*Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. 2002. 85pp.*

16. *Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). Norma Mexicana NMX-AA-112-1995-SCF Análisis de Agua y Sedimentos-Evaluación de Toxicidad Aguda con Photobacterium Phosphoreum – Método de Prueba. Water and Sediment Analysis – Acute Toxicity Evaluation with Photobacterium Phosphoreum – Test Method. México: Dirección General de Normas. México, D.F. 1996. 33pp.*

17. *Kross, B.C. and, K. Cherryholmes. Toxicity Screening of Sanitary Landfill Leachates: A Comparative Evaluation With Microtox Analyses, Chemical, and other Toxicity Screening Methods. In Ecotoxicology Monitoring; Richardson M. L. VCH Publishers. Weinheim, Germany: 1993. pp: 225-249.*

18. *USEPA United States Environmental Protection Agency. Risks of Mancozeb and Maneb Uses to the Federally Listed California Red Legged Frog (Rana aurora draytonii), Pesticide Effects Determination. Environmental Fate and Effects Division, Office of Pesticide Programs, Washington, D.C. 20460. 2007. 143pp.*

19. *Mancozeb Pesticide Information Profile. Extension Toxicology Network (EXTOXNET). Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

[Pesticide Management Education Program (PMEP)]. Cornell University, Ithaca, NY. Sept. 1993. [Cited: 2013 August 12]. Available from: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxfop-methylparathion/Mancozeb-ext.html#19>.

20. Houeto P, Bindoula G, Hoffman JR. Ethylenebisdithiocarbamates and Ethylenethiourea: Possible Human Health Hazards. *Environmental Health Perspectives*. 1995. 105 ( 6): 568 – 573.

21. Hanumantharaju TH and MD Awasthi. Persistence and degradation of metalaxyl, Mancozeb fungicides and its metabolite ethylenethiourea in soils. *J Environ Sci Eng*. 2004. 46(4):312-21.

22. Breilh H, Campaña A, Maldonado A. Peritaje a la salud de los trabajadores de aerofumigación en plantaciones bananeras, Guayas, El Oro y los Ríos. *Centro Boliviano de Estudios Multidisciplinarios (CEBEM)*. Ecuador. 2007.

23. Vondozeb RTECS #: ZB3200000. *The Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*. Center for Disease Control and Prevention (CDC). [National Institute of Occupational Safety and

*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015

*Health (NIOSH)*. 2009. [Cited: 2013 August 12]. Available from:  
<http://www.cdc.gov/noish-rtecs/zb30d400.html>

24. *Material Safety Data Sheet – Protect DF<sup>TM</sup>/Mancozeb 75%*. [Cleary Chemical Corporation].

Cleary Chemical Corporation; 2003. [Cited: 2013 August 12]. Available from:  
<http://www.cdms.net/ldat/mp78G001.pdf>.

25. *Ficha de datos de seguridad R. D. River Fungicida Rojas. Mancozeb* [River Canarias

Industrial, S.A.]. River Canarias Industrial, S.A.; 2001. [Cited: 2013 August 12] Available  
From: <http://www.river-canarias.com/fichaspdf/funroyas.pdf>.

26. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA),*

*Términos de Referencia para la Operación del Programa Nacional de Recolección de  
Envases Vacíos de Agroquímicos y Afines “Conservemos un Campo Limpio”*. México, D.F.  
2009 agosto 13. 10pp.

27. *Normas para la Producción Integrada de Manzano – Temporada 2005-2006*. [Instituto

Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)], Instituto Nacional de Investigación  
Agropecuaria; 2005. [Cited: 2013 August 23]. Available from:

[http://www.inia.org.uy/online/site/base\\_npi.php?bus=Manzano&base=76&imageField.x=68&imageField.y=7](http://www.inia.org.uy/online/site/base_npi.php?bus=Manzano&base=76&imageField.x=68&imageField.y=7). 45pp.

28. *ATSDR Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Reseña toxicológica de las piretrinas y los piretroides. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública. 2003.*
  
29. *Carpeta del Capacitador. Curso de “Capacitación a Capacitadores sobre el Riesgo por el uso de Plaguicidas. [Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS)], Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios; 2004. [Cited: 2013 September 18]. Available from:  
<http://www.cofepris.gob.mx/Paginas/Biblioteca&20Virtual/Libros%30Electronicos/Colección-COFEPRIS.aspx>.*
  
30. *Castillo MDP, Torstensson L, Stenström J. Biodegradability for Environmental Protection from Pesticide Use: a Review. J. Agr. Food Chem, 2008; 56(15):6206-6219.*
  
31. *Hurst P, Kirby P. Health, Safety and Environment, A Series of Trade Union Education Manuals for Agricultural Workers. International Labour Office. Geneva, Switzerland. 2004. 44pp.*

*Tropical Journal Of Pharmaceutical Research. Vol. 14(9): 1703-1712 September 2015*

32. *Diario Oficial de la Federación (DOF), Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, Secretaría General, Secretaría de Servicios Parlamentarios. Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. México. D. F. 2013. 46pp.*

33. *Diario Oficial de la Federación (DOF). Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, Secretaría General, Secretaría de Servicios Parlamentarios. Ley Federal de Sanidad Vegetal, México, D. F. 2011. 36pp.*

En el capítulo anterior, confirmamos que una de las necesidades principales existentes en las instalaciones de fumigación aérea de la zona platanera de Teapa, Tabasco, es mitigar la aportación de Mancozeb y ETU al ambiente, debido a la generación de grandes volúmenes de aguas residuales contaminadas con estos plaguicidas, como parte del proceso de fumigación; para satisfacer esta necesidad, se generaron dos propuestas complementarias, una es la reducción de los volúmenes por efecto de modificaciones mínimas sugeridas en la infraestructura, y subsecuentemente la implementación de la tecnología de camas biológicas mediante residuos agroindustriales de la región, cuyo objetivo es la reducción de las concentraciones de contaminantes orgánicos, por efecto de la acción microbiana, especialmente por acción enzimática. Para la medición de la eficacia de la tecnología propuesta se requiere de un método analítico que cuantifique el ETU, por ser el principal metabolito de degradación del Mancozeb, además de que su transformación de Mancozeb a ETU es casi inmediata.

Debido a que los métodos existentes para la determinación de ETU aunque eficaces, unos son generadores de residuos peligrosos y riesgo ocupacional, otros requieren de infraestructura más especializada, en algunos casos se utiliza la detección de disulfuro de carbono como indicador de carbamatos en general.

Por lo anterior, se estableció un método analítico que cuantifica ETU y que además, es rápido, económico, ambientalmente amigable y adecuado a las condiciones de infraestructura disponible en el periodo de evaluación; Para el establecimiento del método se tomaron en cuenta los principios aportados por Domínguez *et al.*, (2009), en donde se refiere la cromatografía líquida, también se consideró lo aportado por Ruíz (2009), que aplica la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas/masas utilizando agua como solvente de arrastre, en ambos casos el principio de detección es UV.

Los detalles de la validación de éste método analítico se presentan en el Capítulo III.



**CAPÍTULO III. ECO-FRIENDLY  
SPECTROPHOTOMETRIC METHOD AS  
ALTERNATIVE FOR CARBON DISULFIDE-FREE  
DETERMINATION OF ETHYLENETHIOUREA IN  
SURFACE WATER**

**MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO  
LIBRE DE DISULFURO DE CARBONO  
COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICAMENTE  
AMIGABLE PARA LA DETERMINACIÓN  
DE ETILENTIOUREA EN AGUAS SUPERFICIALES**

# Eco-friendly Spectrophotometric Method as Alternative for Carbon Disulfide-free Determination of Ethylenethiourea in Surface Water

Verónica I. Domínguez-Rodríguez<sup>1</sup>, Armando Guerrero-Peña<sup>2</sup>, Randy H. Adams<sup>1</sup>, Edith Miranda-Cruz<sup>3</sup>, J. Jesús Obrador-Olán<sup>2\*</sup>, Joel Zavala-Cruz<sup>2</sup>, Humberto Vaquera-Huerta<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Biológicas, Carretera Villahermosa-Cárdenas km 0.5 Entronque Bosques de Saloya, Villahermosa, Tabasco, México

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Periférico Carlos A. Molina S/N Carretera Cárdenas-Huimanguillo km 3.5. H. Cárdenas 186500, Tabasco. México.

<sup>3</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Agropecuarias, km 25+2 de la Carretera. Villahermosa-Teapa Ranchería La Huasteca 2da. Secc. Centro, Tabasco. México.

<sup>4</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México.

\*For correspondence: obradoro@colpos.mx

## Resumen

*El desarrollo de técnicas rápidas, eficientes, de bajo costo y sin generación de residuos para la determinación de los plaguicidas carbamatos y sus productos de degradación cancerígenos es un objetivo de investigación importante, sobre todo en las regiones en desarrollo. En este estudio, se establece un nuevo procedimiento para un método analítico amigable con el ambiente, el cual no requiere el uso de equipo de cromatografía, tampoco requiere disolventes caros, ni genera disulfuro de carbono. Utilizando solamente agua desionizada como un disolvente, la determinación del analito se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV, identificando sus máximos de absorción. El método fue validado para linealidad en el intervalo de 0,01 a 18 mg L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,999), con un límite de detección de 0,06 mgL<sup>-1</sup>, un límite de cuantificación de 0,1 mgL<sup>-1</sup> y una recuperación de 106,4%. Hubo una excelente correlación entre las concentraciones esperadas y observadas (R<sup>2</sup> = 0,999) y no se encontró diferencia significativa con el uso de diferentes marcas de equipos o analistas (p < 0,05). Este método logra el objetivo de cuantificación en los límites permisibles conservadores (1 mgL<sup>-1</sup>), que muestra excelentes valores en los parámetros de validación, tales como linealidad, precisión y recuperación. Además, es económico, rápido, no destructivo, no requiere equipo costoso y evita el uso (y eliminación) de un disolvente muy tóxico y explosivo.*

**Palabras clave:** Ditiocarbamato, etilentiourea, espectrofotometría, modelo de calibración.

### **Abstract**

*The development of rapid, efficient, low-cost and waste-free techniques for the determination of carbamate pesticides and their carcinogenic degradation products is an important research goal, especially in developing regions. In this study, a novel procedure for an environmentally friendly analytical method is introduced, which does not require the use of carbon disulfide solvent or expensive chromatographic equipment. Using only deionized water as a solvent, the determination of the analyte was accomplished from absorption maximum with a UV spectrophotometer. The method was validated for linearity in the range of 0.01-18 mg l<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup>=0.999), with a detection limit of 0.06 mg l<sup>-1</sup>, a quantification limit of 0.1 mg l<sup>-1</sup> and a recovery of 106.4%. There was excellent correlation between expected and observed concentrations (R<sup>2</sup>=0.999) and no significant difference was found using different equipment brands or analysts (p<0.05). This method achieves the objective of quantification in recommended permissible limits (1 mg l<sup>-1</sup>), showing excellent validation in important variables such as linearity, precision and recovery. In addition, it is economical, fast, non-destructive, does not require costly equipment and avoids the use (and disposal) of a very toxic and explosive solvent.*

**Keywords:** Dithiocarbamate, ethylenethiourea, spectrophotometry, calibration model.

## Introduction

In the humid tropics, the cultivation of fruits and vegetables can be seriously comprised by the growth of fungi, affecting a variety of crops including banana, sugar cane and mango, among others<sup>14,20,2</sup>. In addition to the damage done to the plant and its potential productivity, fungal growth on the surface of fruit can leave dark spots that greatly reduce the shelf life and consumer acceptance, thus negatively affecting the growers<sup>5</sup>. Thus, fungicides are applied during production and/or post-harvest.

Mancozeb ([1,2-Ethaznediybis(carbamodithio)(2-)]manganese zinc salt) is a carbamate pesticide used widely for control of the fungus responsible for Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet), especially in banana plantations<sup>9</sup>. Improper control procedures in fumigation facilities, as well as over-application in the field, often results in discharge or run-off to drainage ditches, streams, rivers and lakes. This poses a potential threat to communities dependent of these water resources, as well as the environment<sup>21</sup>. While Mancozeb has a relatively short half-life, (approx. 2-3 weeks), it is naturally transformed in the environment to ethylenethiourea (ETU), which degrades more slowly and therefore, has greater potential for accumulation<sup>3,12</sup>. In addition, while Mancozeb is only moderately toxic, ETU is much more toxic and carcinogenic<sup>22</sup>. Thus, it is important to establish methods for the determination of ETU in environmental samples, especially surface water.

Reliable methods have been developed for the determination of carbamate pesticides and ETU in other regions<sup>6</sup>. In the carbon disulfide (CS<sub>2</sub>) methods, samples are extracted with (CS<sub>2</sub>) and then determined colorimetrically or by GC/MS. The solvent used in this method is very toxic in itself, as well as very explosive in the laboratory environment. Alternatively, the sample can be extracted with a mixture of EDTA/cysteine/iodomethanol and analyzed by LC-MS/MS. However, using these chromatographic methods (by GC/MS or LC-MS/MS) require the acquisition and maintenance of expensive and complicated equipment, as well as detailed training of laboratory personnel. Other methods for ETU determination are shown in Table 1.

Table 1. Methods for measurement of ETU

Method	Matrix	Observations
EPA 509 <sup>16</sup>	water	GC with nitrogen-phosphorous detector
MS178.00 <sup>11</sup>	water	LC/MS/MS
Determination of dithiocarbamates in C <sub>2</sub> S <sup>15</sup>	Fruit and pulp	Colorimetric method
Liquid Chromatography <sup>7</sup>	Soil	LC with diode array detector

In many developing regions, the financial burden of acquiring and maintaining the equipment necessary for these analyses may be too great for local resources. Furthermore, it is frequently possible to develop alternative, reliable methods using simpler, less costly techniques and equipment, in an eco-friendly manner<sup>1,4</sup>. The purpose of this study was to develop a simple, economic and ecological method for the

determination of ETU in surface water, especially for evaluation of contamination in the Sierra banana-growing region of Tabasco and Chiapas, Mexico.

## Materials and Methods

**Chemicals and Materials:** The development of this method employed ethylenethiourea as an analyte (CAS 96-45-7), using 99% pure HPLC grade ACS reagent (Sigma-Aldrich Lot No. SZE8210X). The physical-chemical properties of this analyte are shown in Table 2. The diluent used was deionized water (CAS 7732-18-5, Golden Bell). Volumes were measured using 100 and 25ml type A volumetric flasks (Kimax brand). Auxiliary materials included 50 ml precipitation flasks, crystal funnels (Kimax brand), 10 mm spectrophotometer quartz cuvettes (Secoman brand), micropipettes and plastic tips of 100 to 1000  $\mu$ l. Additionally, waxed paper, Whatman brand No.40 filters, and Millipore brand filters (nylon) 25 mm diameter, 0.22  $\mu$ m pore size Lot No. 140115010, were used. Weights were determined using an analytical balance with precision up to four decimals (0.0001 mg), Scientech ZSA brand, model ZSA120, series No. 25989.

Table 2. Physical-chemical Properties of Ethylenethiourea<sup>17</sup>.

Property	Value
Molecular weight	102.17
Solubility	Water soluble
Vapor pressure	16 mm Hg
Fusion point	203-204 °C

**UV Instruments and software:** The analyte dilutions were measured on two spectrophotometers, one with UV-Vis range, which uses a six cuvette carousel, Genesys 6 model, Thermo Spetronic brand. The other instrument was a Perkin-Elmer B050-7805 model UV spectrophotometer. The software used was Lambda 10 (UV Win Lab). The solutions were placed in 3.5 cm<sup>3</sup> spectrophotometric quartz cuvettes using a deuterium lamp in the UV region.

**Solutions:** Reference solutions were prepared by weighing 0.1000g of ETU, placed in a 100 ml volumetric flasks and adding deionized water to partially fill the flask. After vigorous mixing to obtain complete dissolution, more deionized water was added to bring the solution to volume, thus obtaining a solution of 100 mg l<sup>-1</sup> ETU. Small volumes (0.5, 1.5 and 5 ml) of this solution were transferred to 25 ml volumetric flasks and the volumes in each flask were mixed and brought to 25 ml using deionized water, thus obtaining concentrations of 2, 6 and 20 mg l<sup>-1</sup>. In this same order the absorbance of the solutions were read on the spectrophotometers and the UV range. Subsequently, the absorption maximum of the analyte was obtained to establish its' identity. Due to the photosensitivity of the analyte, the experiment was carried out in a dark area, to avoid effects of light on the samples.

The preparation of the calibration curve was made from the main reference solution of 100 mg l<sup>-1</sup>. Considering that the World Health Organization recommends a maximum concentration of ETU in water of 1.0 mg l<sup>-1</sup> for protection of wildlife<sup>22</sup>, the calibration curve was set up in the range of 0.01 to 18 mg l<sup>-1</sup>.

This was done by transferring each individual volume into a 25 ml volumetric flask, with mixing, and bringing the solution to final volume. Each concentration was prepared individually in triplicate (as recommended in the Eurachem 2005 protocol). Subsequently, the absorption of the solutions was measured in the UV spectrophotometers, using the ETU absorption maximum for identification. This process was repeated on different days, using different equipment and different analysts.

**Sample collection:** The banana production in Teapa is second in Mexico, representing 30.9% of national output<sup>19</sup>. In Tabasco, the Teapa municipality is the major producer, and it was here that water samples were collected for recovery tests. Samples were obtained from a representative aerial fumigation facility. All samples were collected according to Mexican norm NMX-AA-003-1980<sup>18</sup>, in 1 l amber colored flasks. The flasks had been wash previously with deionized water, followed by an ethanol wash to avoid any interference. The ethanol was completely volatilized prior to sampling. Samples were kept at <20°C until analysis and transported to the laboratory.

**Analytical validation:** Once the absorbances of the solutions were measured, the data was processed using Microsoft Office Excel 2010 software, graphing absorbance as a function of ETU concentration, thus obtaining the correlation and determination coefficients to verify the linearity of the reference calibration curve. For model validation, a chemio-metric test was performed using cross validation which consisted of eliminating one set of data for concentration vs. absorbance and predicting the ETU concentration from the conjunction of pairs of remaining data, and so on, until each pair of data had been excluded and calculated from the model<sup>10</sup>.

The exactness of the method, expressed as “the similitude of a result to the true value”<sup>13</sup>, was determined by calculating the expected concentrations using the model suggested by the first order model obtained, and comparing them to the observed (real) concentrations, by means of a Student-t test for paired data, with a significance level of  $p < 0.05$ .

The detection limit (DL) considered, “the minimum detectable value of the variable of a defined state”<sup>13</sup>, was obtained by the “reading of 10 independent blanks measured one at a time”<sup>8</sup>, considering the standard deviation between blanks.

The quantification limit (QL), referred to as “the lowest concentration of the analyte that can be determined to an acceptable level with precision, repeatability and veracity”, was expressed as “the concentration of the analyte that corresponds to the values of the blanks in the sample plus 5S”<sup>8</sup>.

For determination of percent recovery, three wastewater samples were obtained from an alternative drain in the fumigation area. The samples were analyzed by UV spectrophotometry, establishing the wavelength of maximum absorption. Triplicate analyzes were made for each of three different treatments: a) direct reading of the samples, b) determination on samples filtered with Whatman No. 40 paper, and c) readings on samples filtered with 0.22  $\mu\text{m}$  pore size, nylon filters. In the latter two cases, the filtering was done to eliminate foreign organic matter.

The ETU concentrations in the samples were calculated based on the calibration curve of the reference solution. Subsequently, non-parametric ANOVA tests (Kruskall Wallis) were run to determine if there were significant differences between the three treatments (direct reading vs. different filtering methods). To

measure the percent recovery of the method, these samples were then fortified with ETU concentrations of 1.8, 5.6 and 9.4 mg l<sup>-1</sup>, the absorbances read and the corresponding concentrations calculated, as per Eurachem<sup>8</sup>.

## Results

The criteria used for the validation of analytical methods were those proposed by the Eurachem document<sup>8</sup>, “The Fitness for Purpose of Analytical Methods”, which is accepted referenced by the CENAM (*Centro Nacional de Metrología*, National Center of Metrology, Mexico). The water solubility of the analyte was confirmed in the laboratory; all solutions were completely homogenous and transparent. On carrying out the identity tests of the analyte, absorption maxima were encountered at 220 and 232 nm (Figure 1). The peak at 232 nm was selected for quantification since it showed the greatest absorption in the UV regions studied, and therefore, had greater selectivity.

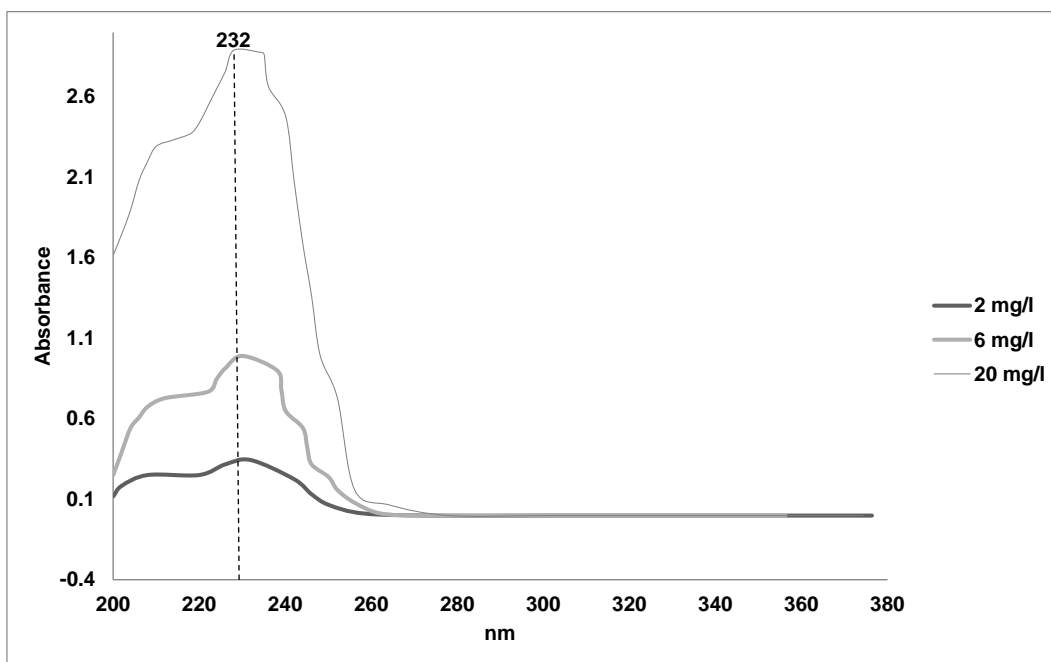


Figure 1. Spectrum of ETU (ethylenethiourea) in the ultraviolet region showing absorption maxima (data obtained with Lambda 10-UV Win Lab software and plotted with Excel 2010).

**Linearity:** The determination and correlation coefficients for the internal validation were 0.999 in both cases, which indicates a direct and high relationship between the values of absorbance and ETU concentration in the solutions used for the calibration curve (Figure 2).

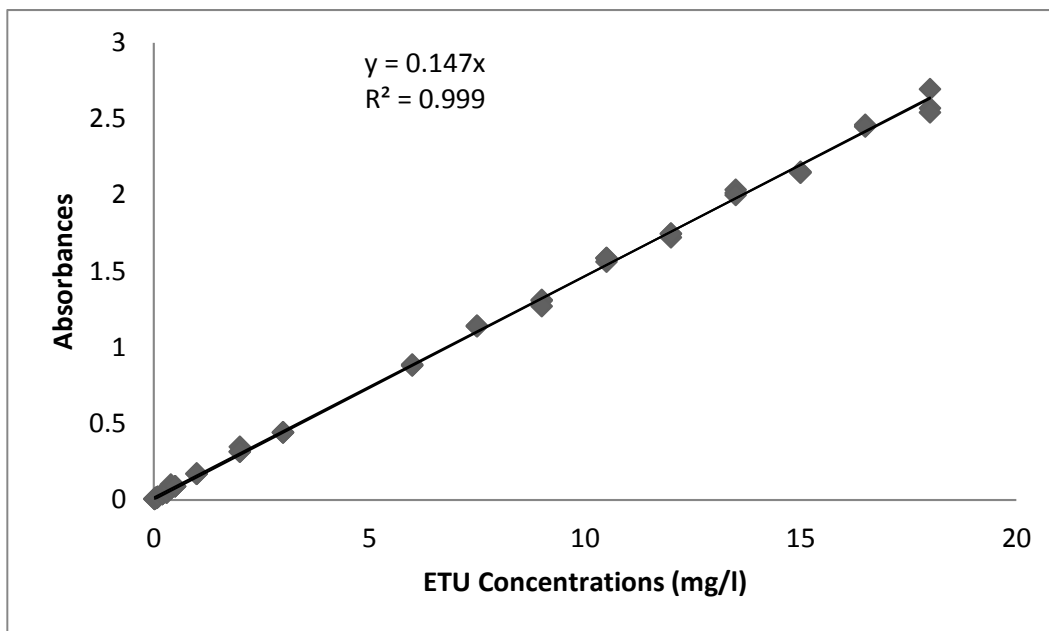


Figure 2. Dependency of absorption with respect to ETU (ethylenethiourea) concentration.

**Detection and quantification limits:** The detection limit (DL), considered as the (true) minimum detectable value, was determined according to Eurachem<sup>8</sup>, being 0.06 mg l<sup>-1</sup> of ETU in water. The quantification limit (QL) was 0.1 mg l<sup>-1</sup> in water. Both of these limits are adequate for the detection of ETU in water for the purpose of environmental exposure.

The average recovery obtained was 106.4%, a value that is considered within an acceptable range for method validation according to the method objectives, since the percentage was within the range of 80-110%. On comparing the readings of the samples prepared differently (direct reading vs. different filtering methods), no statistically significant ( $p < 0.05$ ) difference was observed, which indicates that no cleanup method is required for this method.

**Exactness:** The comparison of expected values versus calculated values was made using a Student-t test on paired data. This demonstrated that there was no significant ( $p < 0.05$ ) difference between data sets, and the determination and correlation coefficients were 0.999 for both (Figure 3).



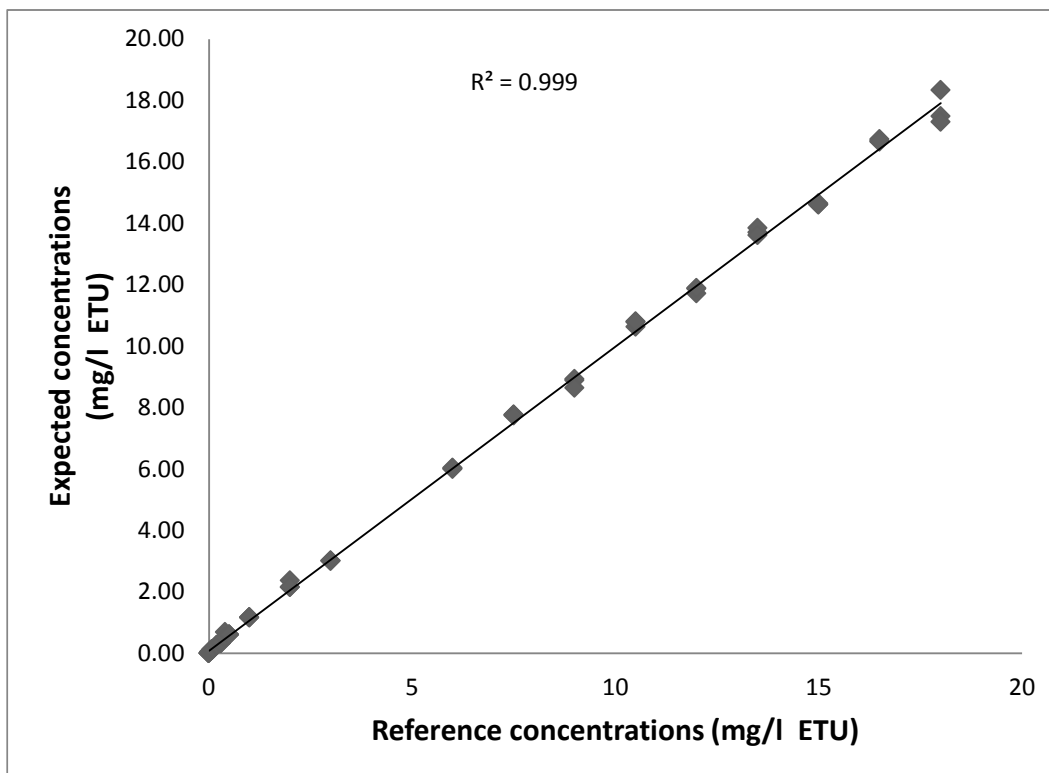


Figure 3. Comparison of expected and reference values for ETU concentrations.

**Intermediate precision:** On comparing absorbance values obtained on different equipment and with different analyst by ANOVA, no significant difference was observed at a 95% confidence interval ( $p < 0.05$ ) among the different data sets. This validated the precision of the method independent of the analyst running the tests or the UV spectrometer used. This be observed by integrating the values in a single graph and by obtaining the determination coefficient from each regression for the data sets (Figure 4).

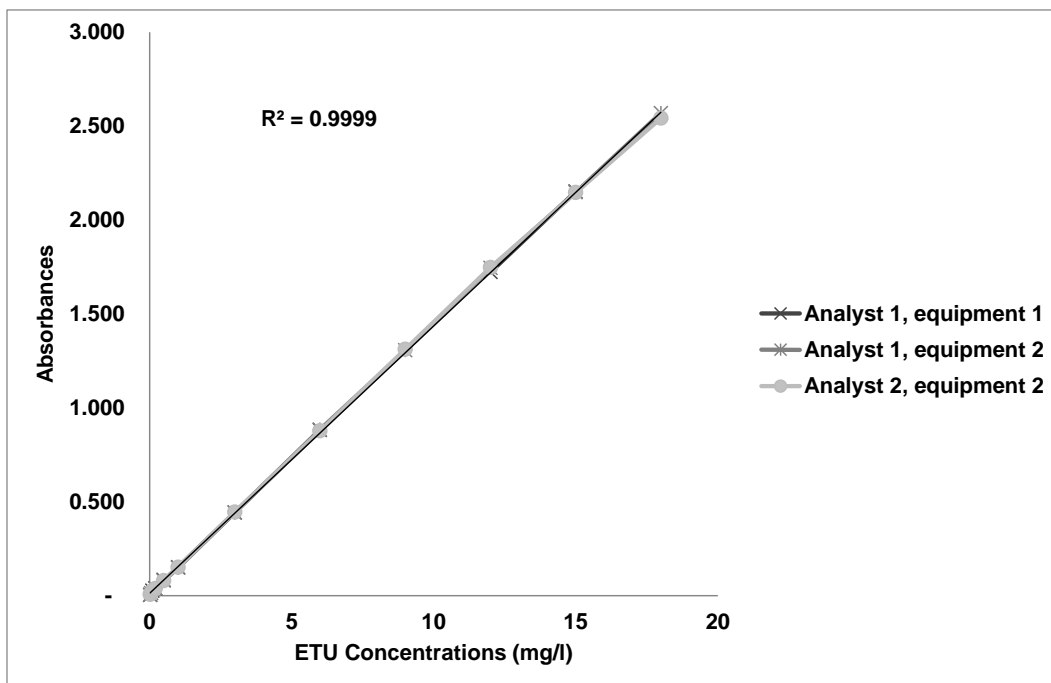


Figure 4. Intermediate validation and data reproducibility independent of analysts or equipment used.

## Discussion

The water solubility of the analyte (ETU) was a great benefit for the development of this method. The majority of extraction solvents are much more costly than that used in this method (deionized water), and have a considerable degree of toxicity to human health and the environment. Thus being able to use deionized water as a solvent reduced the exposure of analytical personnel, and also avoids the generation (and subsequent disposal issues) associated with commonly used solvents. Although two absorption maxima were observed for this analyte, the validation was realized using the peak at 232 nm since it was in the region of greater selectivity. At this same wavelength was analyzed ETU in soil using HPLC methods<sup>7</sup>.

The values obtained in the linearity test reflect the high dependency between the solution concentration and the absorbance response; which allows for a reliable determination of the analyte in question. The chemometric test of cross validation used as a tool for comparison of linearity offers robustness for this method upon carrying out the calculations of each pair of data and by observing the same determination and correlation coefficients from the experimental values.

The accuracy test confers to this method a degree of truthfulness that is expected between values on the experimentally generated curve and the estimated values derived from the proposed model, confirming the non-difference between both at a significance level of  $p < 0.05$ . The detection and quantification limits can be considered as adequate values according to the requirements established for analytical methods, for its capacity to quantify in the range of the recommended permissible limits in surface waters (Table 3).

Table 3. Maximum recommended exposure limits for aquatic organisms<sup>22</sup>.

Aquatic organism	(mg l <sup>-1</sup> )
Invertebrate ( <i>Daphnia</i> )	1
Algae	1 – 4
Fish	1 – 8

This method is quantitative, easy to use, economical and environment friendly compared to other methods (Table 1).

### Conclusions

The development of this analytical method by spectrometry offers benefits associated with the extraction solvent used (deionized water), which does not show a degree of environmental toxicity in contrast to some solvents and chemical reagents used in other methods, thus reducing the risks to the analyst. Another important aspect is the reduction in waste generation seen on comparing the use of filters for sample cleanup (no difference, not necessary), not observing any significant statistical difference between direct measurement and filtered samples. Besides complying with these requirements for the validation of analytical methods adequate for their purpose, this is a non-destructive test, it is quantitative, rapid, easy to use and economical, and that can be used in the absence of a gas chromatograph.

### Acknowledgment

The authors would like to thank the Colegio de Postgraduados and the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco for the facilities granted for the development of this work, and to Dr. Roberto Hernández Barajas and Dr. Jose Gilberto Torres Torres and his team for their great support.

### References

1. Al-Qaim F.F., Abdullah M.P., Othman M.R., Latip J., Afiq W.M. Development of Analytical Method for Detection of Some Pharmaceuticals in Surface Water. *Trop. J. Pharm. Res.* **12 (4)**: 609-616. (2013). Recovered from <http://www.tjpr.org> <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v12i4.25>
2. Amin, M., A.U. Malik, A.S. Khan and N. Javed. Potential of fungicides and plant activator for postharvest disease management in mangoes. *Int. J. Agric. Biol.*, **13**: 671–676. (2011)
3. Arysta LifeScience. Hoja de datos de seguridad. Chile. (2005)  
Recovered from [http://www.afipa.cl/afipa/msdst/MANCOZEB\\_Indofil.pdf](http://www.afipa.cl/afipa/msdst/MANCOZEB_Indofil.pdf)
4. Chawada G., Dholakiya B. Z. Environment friendly sol-gel pre-treatments for corrosion protection of aluminium alloys. *Research Journal of Chemistry and Environment*, **18(10)**:22-27.(2014)
5. Contreras, M. D. E. El chamusco negro, una nueva enfermedad de la hoja de plátano. Centro Regional Puyacatengo, Teapa, Tabasco. Universidad Autónoma de Chapingo. (1982)

6. Crnogorac G., Schwack W. Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *Trends Anal. Chem.* **29(1):40-50. (2009)**

Recovered from [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993608002367](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993608002367)

7. Domínguez, M. C., Peñuela G. y Florez, M. T. Método analítico para la determinación de etilentiourea (etu) subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueno. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad de. Antioquia*, **49**. pp. 42-49. **(2009)**

8. Eurachem. Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. En: Guía de laboratorio para la validación de Métodos y Temas Relacionados. Centro Nacional de Metrología. Publicación técnica cnm-mrd-pt-030. 2da. Edición. 67 p. **(2005)**

9. Geissen, V., Que, R. F., Bastidas-Bastidas, P. de J., Díaz-González, G., Bello-Mendoza, Huerta-Lwanga, R., E. and Ruiz-Suárez, L.E. Soil and Water Pollution in a Banana Production Region in Tropical Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol.* **85:407–413. (2010)**

10. Gemperline P. Practical Guide to Chemometrics, Second Edition, CRC Press, Boca RatonFL, **(2006)**

11. Gottschalk, R., Tauber, R. Method for the Analysis of Ethylenethiourea (ETU) in Water by LC/MS/MS (MS178.00). U.S. Environmental Protection Agency. **(1999)**

Recovered from <http://www.epa.gov/opp00001/methods/ecmmethods/448804-01-W.pdf>

12. Hanumantharaju, T.H. and Awasthi, M.D. Persistence and degradation of metalaxyl, Mancozeb fungicides and its metabolite ethylenethiourea in soils. *J. Environ. Sci. Eng.* **46(4):312-21. (2004)**

13. Internacional Organization for Standardization. ISO 3534-1 Statistics - Vocabulary and symbols. Part 1: Probability and general statistical terms. Ginebra. **(1993)**

14. Mahmood, A. and M.A. Gill. Quick decline of mango and in vitro response of fungicides against the disease. *Int. J. Agric. Biol.*, **4: 39–40. (2002)**

15. Moyano, A. E., Rojas, W. C. Manejo de agroquímicos en sistemas hortícolas-Capítulo 4. Chile Instituto de investigaciones agropecuarias. **(2007)**

Recovered from <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR35470.pdf>

16. Munch, D. J., & Environmental Monitoring Systems Laboratory (Cincinnati, Ohio). Method 509: Determination of ethylene thiourea (ETU) in water using gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector. Cincinnati, Ohio: Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency. **(1992)**

*Research Journal of Chemistry and Environment. Vol. 9(5):1-7 May 2015*

17. National Institute of Occupational Safety and Health US. Métodos analíticos NIOSH. **(2014)**  
Recovered from <http://www.estrucplan.com.ar/Secciones/Hojas/NIOSH/5011etilentiourea.asp>
18. Secretaría de comercio y fomento industrial. Norma Mexicana NMX-AA-003-1980 Aguas Residuales. Muestreo. Residual Waters.-Sampling. (SCFI). México. **(1980)**
19. World Health Organization (WHO). Dithiocarbamates pesticides ethylenethiourea, and propylenethiourea: a general introduction. Environmental health criteria 78. Geneva:World Health Organization,17-102. **(1988)**  
Recovered from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc78.htm>
20. Subhani, M.N., M.A. Chaudhry, A. Khaliq and F. Muhammad, Efficacy of various fungicides against sugarcane red rot (*Colletotrichum falcatum*). Int. J. Agri. Biol., **10**: 725–7 725. **(2008)**
21. Wendel, J.B., Mora, A.M., Córdoba, L. Cano, J.C., Quesada, R., Faniband, M., Wesseling, C. Ruepert, C., Öberg, M., Eskanazi, B., Mergler, D., Lindh, C.H. Aerial Application of Mancozeb and Urinary Ethylene Thiourea (ETU) Concentrations among Pregnant Women in Costa Rica: The Infants' Environmental Health Study (ISA). Environmental Health Perspectives. Advance Publication. **(2014)**  
Recovered from <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1307679>.
22. World Health Organization (WHO). Dithiocarbamates pesticides ethylenethiourea, and propylenethiourea: a general introduction. Environmental health criteria 78. Geneva:World Health Organization,17-102. **(1988)**  
Recovered from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc78.htm>

El método analítico establecido cumple con las características requeridas para su propósito, y con las expectativas propias del laboratorio de análisis, dentro de las que se establecen los límites de cuantificación en un rango conservador menor a  $1 \text{ mg l}^{-1}$ ; el método se podría tornar impreciso si se requiere cuantificar concentraciones menores a su límite de cuantificación ( $0.1 \text{ mg l}^{-1}$ ), tomando en cuenta que existen diferentes límites permisibles establecidos para organismos acuáticos. El porcentaje de recuperación obtenido por el método, es debido a la variabilidad entre algunas de las repeticiones, sin embargo dicha variabilidad está dentro de los rangos permitidos para la recuperación en la validación de métodos analíticos, se acuerdo a Valderrama (2009).

Una vez validado el método analítico, se llevó a cabo la etapa experimental de la evaluación de la tecnología de biocamas o sistemas de biopurificación (BPS), la cual consistió en probar tres tipos de sustratos orgánicos en tres diferentes proporciones cada uno, dichos sustratos son generados como residuos agroindustriales en la región.

Los resultados generados en esta etapa permiten considerar a las camas biológicas como una alternativa para la reducción de la aportación de Mancozeb y ETU al ambiente, debido a que es factible en términos técnicos, ambientales y económicos, al reducir los riesgos de contaminación de cuerpos de agua por efectos de la migración que se ha reportado de estos plaguicidas en otras investigaciones. La evaluación de esta tecnología se presenta a detalle en el Capítulo IV.

**CAPÍTULO IV. EVALUACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE  
BIOCAMAS PROBANDO TRES SUSTRATOS Y SUELO  
FLUVISOL PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS  
CONTAMINADAS CON MANCOZEB Y ETU**

# Evaluación de la tecnología de biocamas probando tres sustratos y suelo Fluvisol para el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y ETU

Verónica I. Domínguez-Rodríguez<sup>1</sup>, J. Jesús Obrador-Olán<sup>1\*</sup>, Randy H. Adams<sup>2</sup>, Joel Zavala-Cruz<sup>1</sup>, Humberto Vaquera-Huerta<sup>3</sup>, Armando Guerrero-Peña<sup>1</sup>, Edith Miranda-Cruz<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Periférico Carlos A. Molina S/N Carr. Cárdenas-Huimanguillo Km 3.5. H. Cárdenas, Tabasco. México.

<sup>2</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Biológicas, Carr. Vhsa-Cárdenas Km 0.5 Entronque Bosques de Saloya, Villahermosa, Tabasco, México

<sup>3</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo,

<sup>4</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco División Académica de Ciencias Agropecuarias, Km 25+2 de la Carr. Vhsa-Teapa R/a La Huasteca 2da. Secc. Centro, Tabasco. México.

\*For correspondence: obradoro@colpos.mx

## Resumen

*En este estudio se evalúa la efectividad de tres diferentes residuos agrícolas, punta de caña, pizonte de plátano y astillas de eucalipto, como sustratos para la degradación de Mancozeb y ETU en aguas residuales, mediante la tecnología de biocamas. Se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado, con el factor tratamiento y tres repeticiones. Cada unidad experimental estuvo constituida por una columna de acrílico con capacidad de tratar 1L de agua residual, las columnas contenían una mezcla en diferentes proporciones v/v de cada sustrato 30%, 50% y 70%, a las que se les aplicó cachaza y suelo (Fluvisol) en proporciones iguales para ajustar el 100% del volumen en cada unidad experimental. Se caracterizaron los sustratos y el suelo de acuerdo a las normas mexicanas vigentes. Las unidades experimentales se contaminaron de manera regular cada dos semanas con 878 mgL<sup>-1</sup> de Mancozeb, incrementando la concentración en un 10% las aplicaciones de los dos primeros meses, 15% los dos meses siguientes y 20% los dos últimos meses. Cada mes se determinó a profundidad (a 50 cm, en mezclas y en bentonita) la concentración de ETU (etilentiourea) y cada dos meses la toxicidad en todos los tratamientos. Los mejores tratamientos fueron PC30 (30% punta de caña), donde los procesos que podrían haber estado presentes son la adsorción, degradación fúngica y actividad enzimática; en el tratamiento PI50 (50% pizonte de plátano) las condiciones que se presentaron pudieron haber favorecido los procesos de adsorción, hidrólisis y degradación biológica, y para la mezcla EU70 (70% eucalipto), debido a su gran cantidad de lignina, la actividad lignolítica y fúngica podrían ser las predominantes, sin descartar los procesos de adsorción.*

**Palabras clave:** Toxicidad, Fluvisol, cachaza, punta de caña, eucalipto, degradación.



### **Abstract**

*In this study the effectiveness of three different agro-industrial residues, sugar cane tops, banana bunch stems and eucalyptus chips, were evaluated as substrates for the degradation of Mancozeb and ETU in wastewater using biobed technology. A completely randomized experimental design was established, for each the treatment factor and three replications. Each experimental unit consisted of a plastic (polymethacrylate) column with capacity to treat 1 L of wastewater; each column containing a mixture of different ratios (v/v) of each substrate a 30%, 50% and 70%, in each case using and soil and sugar cane cachasse to bring up the final volume to 100%. Substrates and soil were characterized according to current Mexican standards. The experimental units were dosed (contaminated) every two weeks with 878 mg L<sup>-1</sup> of Mancozeb, increasing the concentration by 10% during the first two months, 15% the following two months and 20% the last two months. This was done to determine if the system could respond with efficacy to the continual addition of wastewater. Each month the ETU concentration was determined in the deepest portion of each treatment cell, for all treatments. The best treatments were the following: PC30 (sugar cane top at 30%) where the processes that may occur according to the literature are adsorption, fungal degradation and enzymatic activity, in PI50 (banana bunch stem at 50%) presented the conditions may have favored the adsorption, hydrolysis and biological degradation, and in EU70 (eucalyptus chips at 70%), because of its large amount of lignin, lignolítica and fungal activity could be the predominant, without ruling out adsorption processes.*

**Keywords:** toxicity, Fluvisol, cachasse, sugar cane top, eucalyptus, degradation.

## Introducción

Tabasco se encuentra en segundo lugar de producción nacional de plátano después de Chiapas, y junto con Veracruz contribuyen a una producción nacional del 78.6 %. Los costos de producción para una ha de plátano bajo explotación comercial es de aproximadamente \$82, 450.00, siendo los fertilizantes y los plaguicidas los que más gasto generan (aproximadamente el 30%) (FND, 2014). Los intentos para la propagación de las plantaciones de plátano en Tabasco, iniciaron en 1884, cuando llegaron desde Honduras cinco plantas sobrevivientes de las condiciones del viaje, no fue hasta 1907 cuando se logró establecer la plantación con 60000 cepas sembradas a ambos márgenes del Grijalva (López, 2004). Poco después de iniciar la industria platanera en la Región de la Sierra de Tabasco, y debido a la alta humedad en el ambiente, se presentó la plaga de Sigatoka negra, un hongo que crece sobre el fruto, manchándolo y reduciendo su valor comercial (Contreras, 1982). Para controlar esta enfermedad se realiza la aplicación vía aérea de un Etilen bis-ditiocarbamato (EBDC) de nombre comercial Mancozeb en dosificaciones de dos kg ha<sup>-1</sup> en un rango de 42 a 50 aplicaciones anuales (Domínguez-Rodríguez *et al.*, 2015).

La fumigación aérea involucra un proceso previo y posterior a la aplicación del fungicida, a) preparación de la mezcla, b) llenado del tanque de avionetas de fumigación, c) aplicación del fungicida y d) lavado del tanque de avionetas, en la etapa b generalmente hay derrames de las mezclas de fumigación, y en la etapa d se generan aguas residuales del lavado combinadas con aproximadamente 20 L de mezcla de fumigación en cada avioneta, siendo dirigidas por un canal aledaño a las instalaciones de fumigación que se dirige hacia aguas abajo; esto sucede 364 días al año, por lo cual puede considerarse una fuente puntual de contaminación por el fungicida aplicado. El Mancozeb tienen muy poca probabilidad de permanecer en el ambiente, sin embargo puede haber presencia de ETU en el agua por efectos de escorrentías e infiltraciones de las aguas provenientes de estas fuentes (aeródromos de fumigación) contaminando acuíferos (Geissen *et al.*, 2010). Una propuesta de solución para evitar el vertimiento de las aguas residuales al ambiente es tratarlas mediante la tecnología de camas biológicas, la cual consiste en una construcción sencilla y económica, para coleccionar y degradar efluentes de plaguicidas. Su diseño original consta en una

cavidad en el suelo de 60 cm de profundidad, con una capa de arcilla de 10 cm en el fondo, una biomezcla compuesta de paja, suelo y turba, en proporciones volumen/volumen de 50, 25, 25 respectivamente, y una capa de pasto en la superficie. Donde el suelo provee de capacidad de retención y de microorganismos degradadores de plaguicidas (Castillo y Torstensson, 2008). Las biocamas han sido utilizadas y estudiadas en áreas agrícolas donde se usan tractores para la aplicación de los plaguicidas. El funcionamiento de la biocama en estas áreas consiste en que durante la preparación y carga de los tractores, cualquier goteo, derrame o escurrimiento caiga a la superficie de la biocama y sea absorbida por los materiales orgánicos en la mezcla. Este material orgánico es rico en lignina, estimula la actividad de humificación que realizan los hongos y actinomicetos del suelo (Castillo y Torstensson, 2008). La actividad enzimática no específica, generada principalmente por lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasas, y enzimas productoras de peróxido de hidrógeno, actúa sobre cualquier sustrato orgánico presente y los plaguicidas, generando sub-productos parcialmente oxidados (Aust, 1990; Castillo *et al.*, 1997). Estos compuestos presentan una reacción química espontánea de condensación que resulta en el ligamiento en una estructura irregular favoreciendo el secuestro de los subproductos de la descomposición parcial en el humus, y reduce su biodisponibilidad y potencial de lixiviarse del suelo. En el clima frío del sur de Suecia las biocamas duran de seis a ocho años. Durante este periodo el material orgánico en la biocama se descompone y pierde volumen. Se requiere remover la mezcla y preparar mezcla nueva para re-hacer la biocama. Con el material removido se realiza un composteo estático sencillo durante un año, después del cual los plaguicidas terminan de descomponerse en la mezcla. Al final de un año, las concentraciones residuales de plaguicidas en la mezcla son suficientemente bajas para poder re-utilizar el material como abono para jardinería (Torstensson, 2000).

En Suecia se han instalado más de 1500 biocamas (Castillo *et al.*, 2008). En otros países europeos (Reino Unido, Bélgica, Francia, Italia, Dinamarca, Holanda) se han realizado modificaciones a la tecnología de biocamas para aplicaciones locales, considerando las formas de aplicación de los

plaguicidas (utilizando bombas de mochila, pipas), e incluyendo el empleo de diferentes tipos de abonos orgánicos y suelos, el uso de biocamas con membranas, recolección del agua y aplicación gradual de las aguas residuales en las biocamas, e incrementos en la profundidad de las mismas (Debaer y Jaeken, 2006; Fait *et al.*, 2007; Coppola *et al.*, 2007). En América Latina se han realizado investigaciones en Perú, Ecuador, Guatemala, El Salvador y México sobre el funcionamiento de las biocamas (Castillo y Torstensson, 2008), donde se ha estudiado el remplazo de la paja y turba en la mezcla, por materiales disponibles localmente (carrizo u hojas de maíz), así también se ha estudiado el diseño de “biotablas”, que son unidades pequeñas y parcialmente arriba del piso para aplicaciones con bombas de mochila. Se ha determinado que existen varios factores importantes a considerar en el manejo de una biocama: a) lograr una buena adsorción de los plaguicidas a la materia orgánica, b) el tamaño de las fibras utilizadas, c) controlar la carga de agua (proveniente de la preparación de mezclas de plaguicidas o de precipitaciones); las condiciones aerobias son necesarias para la humificación y d) mantenimiento de un fondo impermeable (hecho con materiales naturales, o artificiales) para evitar la infiltración al subsuelo.

En otras investigaciones Fogg *et al.*, (2003) realizaron una mezcla de plaguicidas (isoproturón, pendimetalina, clorpirifos, clorotalonil, epoxiconazol y dimetoato), aplicando tres veces la misma mezcla de plaguicidas, a intervalos de 30 días, en dos sistemas (biocamas, tierra vegetal), obteniendo los mejores resultados de reducción en biocamas. Mientras que Spliid y Heinrichson (2006), estudiaron por 563 días la degradación y lixiviación de 25 plaguicidas (5 g de cada uno) en una biocama, donde la concentración de todos los plaguicidas se redujo a menos del 50% de la dosis inicial calculada, encontrando que los plaguicidas con valores de Koc por encima de 100 se encuentran principalmente en los primeros 10 cm y degradan más lento debido a la baja biodisponibilidad. Los 11 plaguicidas más degradables se degradan totalmente de tal manera que menos de 3% permaneció en la biocama después de 169 días. En relación a la retención y degradación de plaguicidas en las biocamas, Castillo y Torstensson (2007) encontraron que la mayoría de los plaguicidas investigados disminuyeron por procesos de co-metabolismo, y su reducción se correlacionó con la respiración y contenido de fenoloxidasa. Otro dato importante es

que los mejores parámetros de capacidad de retención de agua y temperatura para la reducción de plaguicidas son 60% y 20° respectivamente. Las biocamas o BPS se han probado en diferentes etapas de la industria agroalimentaria, para conocer los alcances su efectividad, Omirou *et al.*, (2012) han realizado estudios para la depuración de las aguas residuales producidas en las etapas de pre y post cosecha por la industria de cítricos, mostrando que los plaguicidas fueron retenidos totalmente y presentaron una reducción parcial o total. Reconociendo que las biocamas pueden ser una solución útil a nivel de pre y post cosecha para esta industria. El trabajo de Karanasios *et al.*, (2012), destaca que el manejo seguro para la mezcla al final de su utilización, requiere de mayor investigación, sugiriendo métodos moleculares y bioquímicos avanzados que puedan ayudar en la generación de conocimientos sobre los procesos microbiológicos que ocurren en los sistemas de biopurificación (BPS). También Karas *et al.*, (2015), identificaron otro campo de aplicación de las biocamas, que son las aguas residuales procedentes del envasado de frutas, en su investigación muestran una depuración eficiente de los efluentes de esta industria, con un reducción acelerada que incluye fungicidas recalcitrantes.

En general, los diferentes trabajos realizados, muestran la efectividad de las biocamas mediante los procesos de adsorción y degradación de plaguicidas, aun los recalcitrantes (Karas *et al.*, 2015). Sin embargo aún se requieren investigaciones sobre los procesos que se llevan a cabo dentro de las biocamas, según lo señala Karanasios *et al.*, (2012).

La presente investigación se complementa con estudios de toxicidad en los lixiviados de las mezclas en las biocamas, tomando en cuenta que gran cantidad de plaguicidas generan metabolitos secundarios que pueden ser más tóxicos o de mayor riesgo que su precursor.

## **Materiales y métodos**

En este estudio se probó la eficacia de tres residuos agrícolas de la localidad, se utilizó cachaza en lugar de turba y el suelo es un Fluvisol (Háplico Eútrico Arcílico), de la región bananera. Los sustratos y el suelo fueron colectados y caracterizados de acuerdo a la normatividad vigente, así también se prepararon mezclas de punta de caña, pizonte y eucalipto, a diferentes proporciones v/v: 30, 50 y 70% cada uno, agregando cachaza; y suelo, en proporciones equivalentes para tener 100% de volumen. Las mezclas se probaron en unidades experimentales con capacidad para tratar 1L de agua residual, se consideró un diseño experimental completamente aleatorizado con un factor (mezcla=tratamiento). Las unidades experimentales se evaluaron al inicio y de forma mensual para conocer la concentración de ETU y cada dos meses para la de toxicidad. Se generó un modelo de superficie de respuesta con la intención de conocer la eficacia de camas biológicas y de las mezclas de residuos en el control del impacto al ambiente que genera el fungicida Mancozeb.

Otras variables complementarias para cálculos y control fueron la humedad y la temperatura del interior de cada biocama.

Se construyeron unidades experimentales de polimetilmetacrilato (acrílico), con dimensiones de 9 x 7 x 60 cm, para una capacidad de 1L de agua residual, considerando que la relación del dimensionamiento de una biocama se recomienda de 1.5 a 2 veces el volumen del efluente vertido (FONDEF, 2012).

**Obtención y caracterización inicial de los componentes de las mezclas.** Para clasificar el tipo de suelo que formó parte de las biocamas, se realizó y describió un perfil en el sitio del cual fue obtenido, de acuerdo a Cuanalo (1990); se colectaron muestras de suelo por horizonte, los análisis de laboratorio se hicieron acorde a la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2001), tomando en cuenta que las características del suelo permiten conocer sus propiedades físicas y químicas e inferir sobre aspectos relacionados con la actividad de la biota del

suelo.

La punta de caña (recién contada) se colectó en un predio ubicado en el campo experimental del Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco, a 21 km al Oeste de la ciudad de Cárdenas, Tabasco, el manejo agronómico que se le realiza es el que se recomienda para las variedades y suelos de la zona de abastecimiento del Ingenio presidente Benito Juárez. (Obrador, 2009).

La cachaza se colectó a unos kilómetros de las instalaciones del ingenio Santa Rosalía, de acuerdo a la información de lugareños, usuarios de los residuos de cachaza en este sitio (propietarios de viveros de la localidad), el material es ideal como sustrato para plantas.

El pizonte de plátano recién cortado se obtuvo en Cárdenas, Tabasco en un predio privado próximo a la zona industrial “El Castaño” Activo Integral Bellota-Jujo.

El eucalipto se obtuvo como producto residual de un aserradero próximo a Huimanguillo, Tabasco. Todos los sustratos fueron transportados al laboratorio de análisis de suelos, plantas y agua (LASPA), para su procesamiento (molido, tamizado) y caracterización (Cuadro 1), también se analizaron las diferentes mezclas propuestas.

Cuadro 1. Caracterización de los componentes de la mezcla para las biocamas.

Suelo	Punta de caña, pizonte, eucalipto, cachaza	
*NOM-021-RECNAT-2000	pH *	C/N
** ( NMX-FF-104-SCFI-2007 )	CIC *	Ácidos húmicos
	Humedad *	Ácidos fúlvicos
	Cot **	
	%N *	

**Preparación de las mezclas.** La preparación de las mezclas que se probaron en las biocamas, involucra una relación v/v tomando como referencia el volumen de la unidad experimental, se realizaron estas composiciones de mezclas determinando la correspondencia de volumen de los diferentes sustratos y las mezclas, una vez preparadas las mezclas, fueron humectadas y se les dio un tiempo de acondicionamiento de 55 días para estimular la actividad microbiana con oxigenación y humedad. En este tiempo se concluyó la fase termófila, con temperaturas menores a 30°C y presencia de hongos, los cuales son indicadores de la finalización de esta etapa (Kalil,

2007). Las mezclas se colocaron en las unidades experimentales, sembrando estolones de pasto humidícola (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt), el cual sirvió como un indicador del funcionamiento del sistema, además de estimular el drenaje con sus raíces. La muerte del pasto indica que la biocama no está funcionando y habría que cambiar la mezcla y modificar el manejo del agua (Castillo y Torstensson, 2008).

**Contaminación de las biocamas (unidades experimentales).** Una vez listas las biocamas, se preparó una solución de Mancozeb a una concentración de  $878 \text{ mgL}^{-1}$  que es la concentración aproximada de las aguas residuales en los aeródromos, y se vertió por goteo un litro de la solución a cada unidad experimental. Se dejó reaccionar, al segundo día de la aplicación se muestrearon todas las unidades experimentales a dos diferentes profundidades (muestra de la mezcla de prueba a 50 cm y bentonita) colectando de 4-5 g de sustrato para análisis de lixiviados por toxicidad (SECOFI, 1996) y concentración de ETU (Domínguez-Rodríguez *et al.*, 2015); en el interior de las unidades experimentales se midieron los parámetros de control temperatura y humedad. Después, las unidades experimentales fueron enterradas en arena, simulando las condiciones de las camas biológicas. Se aplicó agua residual a las biocamas cada 15 días los primeros dos meses y cada siete días los siguientes cuatro meses, resultando un total de 16 aplicaciones a lo largo del estudio, con la intención de determinar su respuesta a la aportación continua del fungicida, midiendo la reducción de la concentración de ETU y de la toxicidad. Las biocamas fueron muestreadas cada mes para determinar la concentración de ETU, y cada dos meses para cuantificar toxicidad; los parámetros de control se monitorearon durante seis meses.

**Análisis de las mezclas.** La determinación de toxicidad en los lixiviados de las mezclas y la bentonita del fondo, se efectuó de acuerdo a la norma oficial mexicana NMX-AA-112-1995.

Los tratamientos (mezcla en cada biocama) fueron evaluados al inicio y cada dos meses; la prueba de toxicidad se reconoce como una herramienta para evaluar la efectividad de las mezclas en la degradación de plaguicidas, para este estudio se consideró el nivel umbral propuesto por Cornelio



(2001). La determinación de toxicidad en las mezclas a la profundidad de 50 cm (antes de la bentonita); permitieron estimar la capacidad del sistema para la disipación de los plaguicidas estudiados, considerando que una toxicidad nula hace referencia a que el material no representa ningún riesgo para el organismo de prueba y que no existe riesgo para el ambiente. La concentración de ETU se determinó con el método espectrofotométrico UV (Domínguez-Rodríguez *et al.*, 2015), aplicando la extracción propuesta por Domínguez *et al.*, (2009). La humedad se midió en termobalanza OHAUS de tres decimales y la temperatura se valoró con un equipo de precisión láser.

Para la determinación de la concentración de ETU se aplicó el método espectrofotométrico UV de acuerdo a lo propuesto por Domínguez-Rodríguez *et al.*, (2015), aplicando la extracción propuesta por Domínguez *et al.*, (2009).

Las mediciones de humedad se hicieron en termobalanza OHAUS de tres decimales y las de temperatura con un equipo de precisión láser.

**Evaluación de resultados.** Las variables de caracterización de sustratos y mezclas se evaluaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, considerando que esta prueba favorece la robustez de los datos por ser muestras pequeñas. Se realizó una exploración gráfica de los resultados de cada variable para conocer la respuesta de las concentraciones en los diferentes tratamientos con respecto al tiempo, identificando aquellos que resultaron no tóxicos, comparándolos mediante una prueba de Kruskal-Wallis, para determinar si existían diferencias significativas entre ellos, identificando así los tratamientos adecuados para reducir los contaminantes estudiados a un grado ‘no tóxico’. Finalmente se aplicó un modelo de superficie de respuesta basado en los valores de toxicidad, para identificar teóricamente las proporciones ideales de los sustratos que permitirán la reducción de las concentraciones de ETU a un nivel deseable de acuerdo a las exigencias ambientales. La hoja de cálculo Excel 2010 y los softwares estadísticos R versión 3.1.2 y Stat graphics XV fueron otros de los instrumentos utilizados.

## **Resultados y discusión**

### **Suelos del área de estudio**

La unidad de suelo de estudio es un Fluvisol Háplico (Eútrico, Arcílico) de acuerdo a la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB, 2007), esta unidad de suelo se desarrolla sobre un dique natural de forma ligeramente convexa, en una posición topográfica elevada de la planicie fluvial del río Teapa, el color pardo amarillento es evidencia de buen drenaje interno. El calificador eútrico se asocia a un alto porcentaje de saturación de bases. Otras características de los Fluvisoles del área indican textura arcillosa a franco arcillosa, pH ligeramente ácido a moderadamente alcalino, contenidos medios a bajos en MO, bajos en K, altos en Ca y Mg, y altos en CIC, sin problemas de salinidad (Cuadro 2). Para disminuir la limitante por drenaje interno en los Fluvisoles Gléyicos, ubicados en la planicie de inundación, se construyen drenes superficiales para evacuar el agua del manto freático e inundaciones, en la época de lluvias (Infoagro, 2014).

El cultivo de plátano en la región, coincide con su mayor distribución mundial en suelos Fluvisoles desarrollados en llanuras aluviales (Pineda, 2004; Delgado *et al.*, 2010; Fulvio *et al.*, 2010), por consiguiente concuerdan con requerimientos favorables al cultivo de plátano, como formas aluviales cóncavas a convexas con pendientes de 0.5 a 1 %, capacidad I para uso agrícola, contenido de materia orgánica medio a abundante, contenidos altos de nutrimentos, CIC entre 13 y 28  $\text{cmol}_c\text{L}^{-1}$ , pH ligeramente ácido a ligeramente alcalino, preferentemente textura franca sobre la arcillosa y drenaje bueno a imperfecto (Pineda, 2004; Palma-López *et al.*, 2007; Delgado *et al.*, 2010; Fulvio *et al.*, 2010). La mayor restricción para el cultivo es el incremento del manto freático en época de lluvia, seguido de drenaje imperfecto (Pineda, 2004; Delgado *et al.*, 2010), por lo que el exceso de humedad de los Fluvisoles Gléyicos se controla parcialmente con drenaje parcelario para mantener el manto freático a más de un metro de profundidad, el plátano es más tolerante a condiciones de sequía que a la humedad excesiva del suelo, debido a que las raíces de la planta se pudren con facilidad (Infoagro, 2014). Otras características desfavorables al cultivo son los contenidos bajos en K, la textura muy arcillosa e inundaciones fluviales del río Teapa, que

demeritan el rendimiento de la planta y posiblemente incrementan el ciclo del cultivo (Infoagro, 2014).

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo Fluvisol Háptico (Eútrico, Arcillo) de acuerdo a la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB, 2007).

	Horizontes				
	1	2	3	4	5
Prof. (cm)	0-16	16-39	39-71	71-95	95-135
DA (g cm <sup>-3</sup> )	0.77	0.94	0.88	0.66	0.75
PMP (%)	19	22	22	17	10
CC (%)	35	35	36	31	24
pH (H <sub>2</sub> O) rel 1:2	6	6.9	7.8	7.9	8.2
CE (dSm <sup>-1</sup> )	0.07	0.04	0.14	0.13	0.11
MO (%)	3.44	1.68	1.29	0.91	0.52
N (%)	0.2	0.1	0.1	0.1	MLD
P mg kg <sup>-1</sup>	4.99	1.39	1.25	2.22	3.47
K (cmol (c) kg <sup>-1</sup> )	0.34	0.21	0.18	0.15	0.09
Ca (cmol (c) kg <sup>-1</sup> )	22.9	25.2	40.2	30.6	33.1
Mg (cmol (c) kg <sup>-1</sup> )	4.8	5.7	4.7	3.5	2.4
Na (cmol (c) kg <sup>-1</sup> )	0.16	0.31	0.33	0.30	0.27
CIC (cmol (c) kg <sup>-1</sup> )	32	32	30	26	18
Arcilla (%)	48	54	54	42	26
Limo (%)	35	31	35	35	39
Arena (%)	17	15	11	23	35
Clase textural	Arcilla	Arcilla	Arcilla	Arcilla	Franco
Color (Munssel)	10 YR 4/4	10 YR 5/4	10 YR 5/4	10 YR 5/4	10 YR 5/4

10 YR 4/4: Pardo amarillento oscuro; 10 YR 5/4: Pardo amarillento

### Caracterización de sustratos

La degradación de los plaguicidas presentes en las biocamas depende de diferentes factores, como son las propiedades físicas, químicas y biológicas de cada uno de los sustratos de prueba. La caracterización de cada uno de los sustratos (cachaza, suelo, punta de caña, pizonte de plátano, eucalipto) permitió conocer las posibles contribuciones que tienen los sustratos en las mezclas de las biocamas.

El pH en los sustratos individuales se encontró entre 4.7 y 10.1, presentando diferencias estadísticamente significativa entre ellos ( $p < 0.05$ ), de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis (Figura 1).

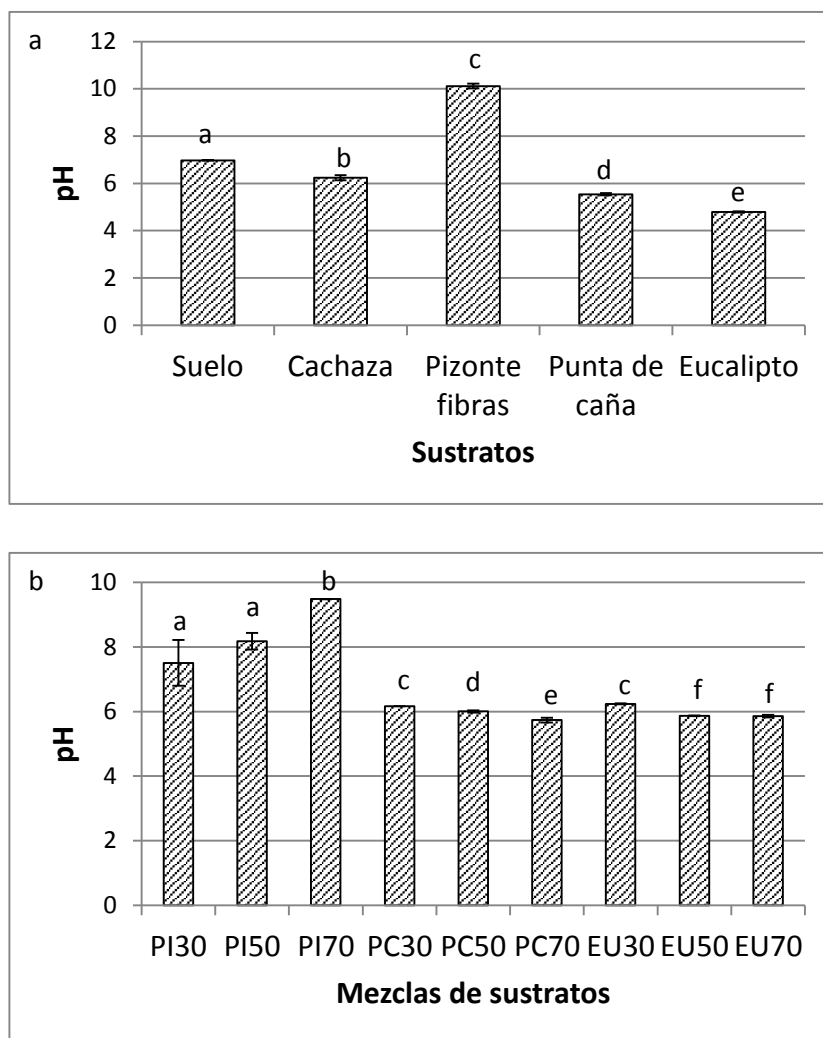


Figura 1. a: pH en sustratos de prueba individuales, b: pH en mezclas, donde PI es pizonte de plátano en fibras, PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

El pizonte de plátano es el sustrato que presentó un mayor pH, y los resultados confirman que las mezclas con éste material mantienen el pH más elevado en relación a los otros sustratos que se probaron. De acuerdo a Narváez et al. (2012), el pH es un factor determinante en los procesos de hidrólisis química, la cual se favorece en un intervalo de pH entre 8 y 10, potenciando otros

procesos de transformación para la degradación de contaminantes orgánicos y la reducción de la toxicidad. También interviene en los procesos de degradación biológica y adsorción de los contaminantes.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) de los sustratos se encontró entre los 8.6 y 32.1  $\text{cmol}_c\text{kg}^{-1}$ , presentando diferencias estadísticamente significativas entre varios de los tratamientos ( $p < 0.05$ ), siendo la cachaza la que tuvo el mayor valor en comparación con los otros sustratos (Figura 2).

La variable CIC de los suelos se asocia a la cantidad de arcilla y tipo de arcilla, y materia orgánica que contienen, y es una propiedad que tiene una correlación directa con el grado de maduración de los sustratos orgánicos (Fassbender, 1994). La presencia de iones monovalentes en la degradación avanzada de un sustrato, tiende a incrementar la CIC, por lo cual podría considerarse como un referente de la madurez de dicho sustrato. (Mathur *et al.*, 1993); sin embargo, Moreno (2007) refiere la dificultad de establecer un criterio universal de maduración para residuos agroindustriales a partir de la CIC, puesto que algunos de estos sustratos inician con una CIC superior a  $100 \text{ cmol}_c\text{kg}^{-1}$ , sin embargo es un valor al que se hace referencia para estimar el grado de maduración de los residuos sólidos urbanos; para este estudio es deseable que los sustratos tengan una CIC elevada, como indicador general de fertilidad, puesto que la presencia de cargas negativas en la superficie coloidal (arcillas y materia orgánica) está relacionada con el intercambio iónico con los cationes (elementos de carga positiva) presentes en la solución del suelo, esto puede favorecer el proceso de adsorción; y se puede relacionar de manera directa con la retención de compuestos catiónicos como el caso de algunos plaguicidas (Sanclémente, 2011).

La combinación de sustratos para la preparación de las biocamas, contribuyó a incrementar la CIC en las mezclas de punta de caña y astillas de eucalipto, mientras que las mezclas de pizonte de plátano se mantuvieron constantes en este parámetro; los mayores valores de CIC pueden favorecer los procesos de adsorción (Sanclémente, 2011) e hidrólisis (Narváez *et al.*, 2011).

Las variables carbono orgánico total (Cot) y capacidad de campo (CC), son de suma importancia, ambos contribuyen directamente a la presencia de la actividad microbiana en las biocamas, puesto que el carbono es la fuente para la producción celular, CO<sub>2</sub>, agua, enzimas y nuevos microorganismos (Carrillo, 2003; Upegui, 2010). Dentro de los sustratos caracterizados individualmente, se puede observar que la presencia de carbono es mayor en la punta de caña y eucalipto (Figura 3), por lo que se presume que la degradación por microorganismos es un proceso importante en estas mezclas.

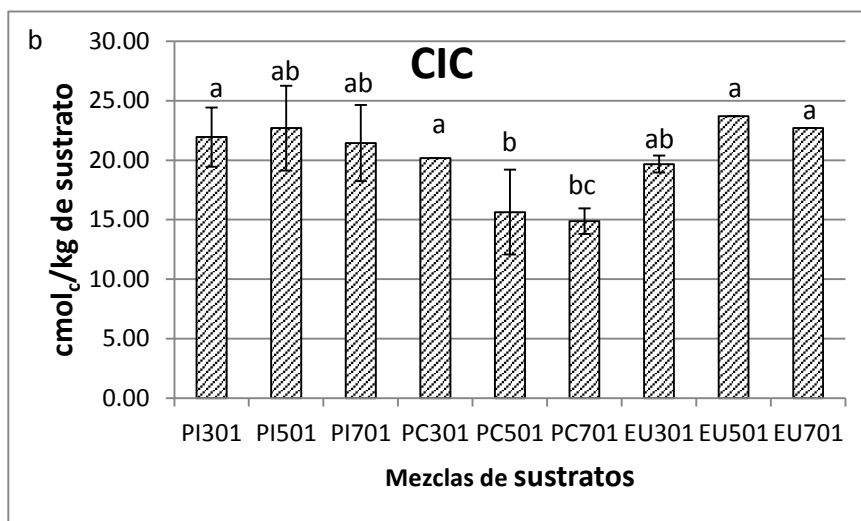
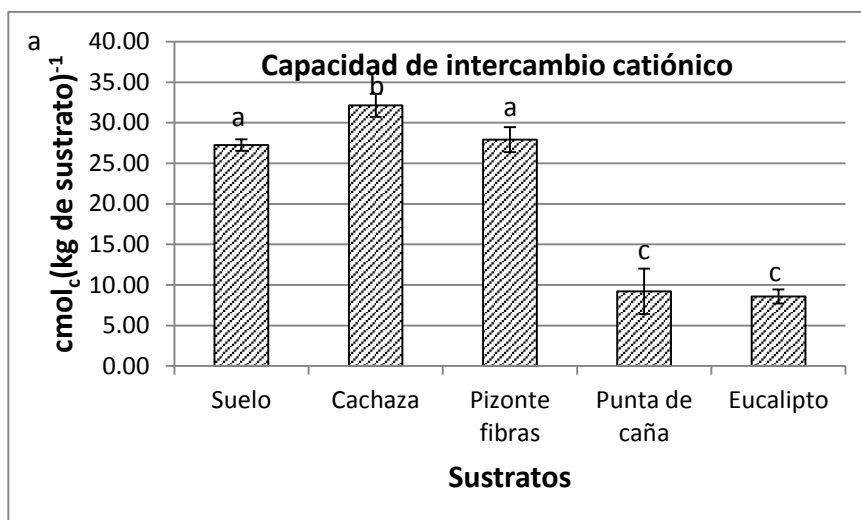


Figura 2. a: CIC en sustratos de prueba individuales, b: CIC en mezclas, donde PI es pizonte de plátano en fibras, PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

Con el porcentaje de humedad (determinada como capacidad de campo) se calculó la cantidad de agua requerida en cada mezcla para mantener la actividad microbiana aeróbica, para las biocamas es un máximo de 80% de humedad con respecto a la capacidad de campo (Castillo, 2008), se puede notar que el pizonte de plátano y la punta de caña son los sustratos de mayor demanda de agua para mantener la humedad señalada (Figura 3a).

Dentro de los sustratos caracterizados individualmente, se puede observar que la presencia de carbono favorece a la punta de caña y eucalipto (Figura 3b). Las variables carbono orgánico total (Cot) y capacidad de campo (CC), son de suma importancia, ambos contribuyen directamente a la presencia de la actividad microbiana de las biocamas, puesto que como se mencionó antes, el carbono es la fuente para la producción celular, CO<sub>2</sub>, agua, enzimas y nuevos microorganismos (Carillo, 2003; Upegui, 2010).

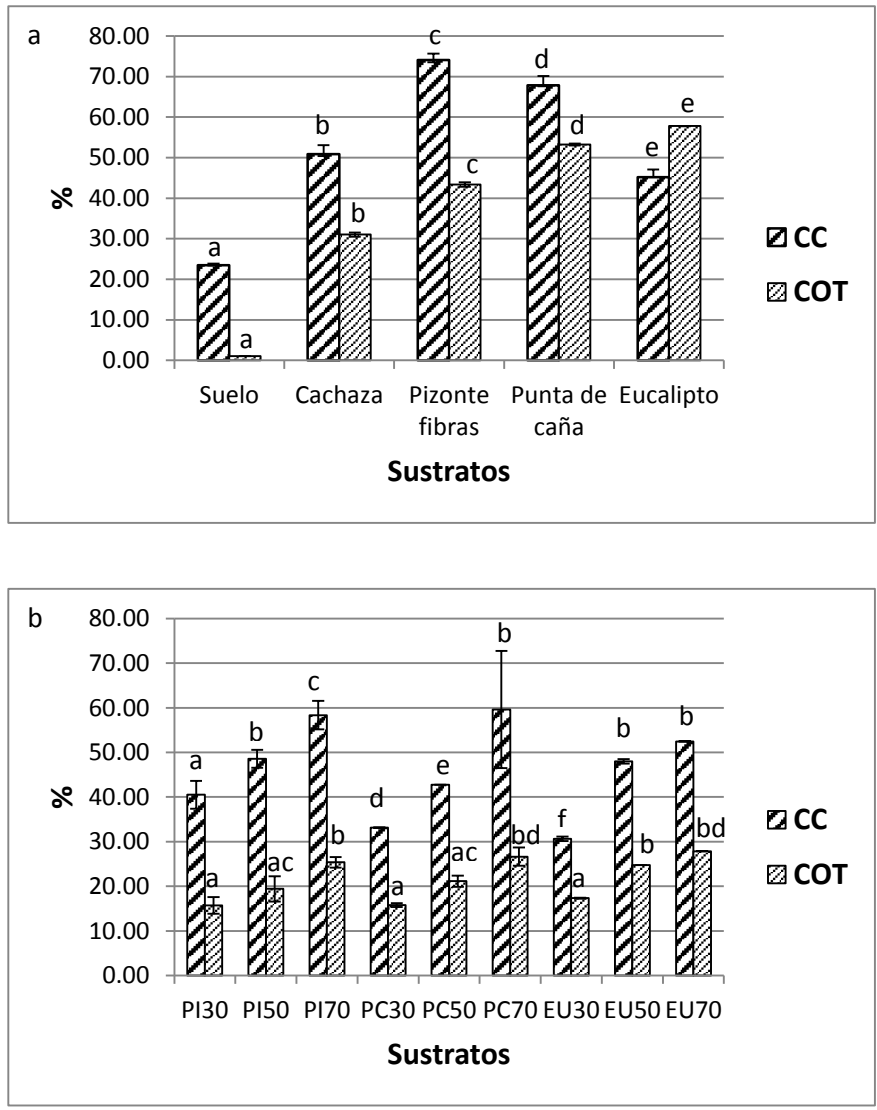


Figura 3. a: Capacidad de campo y Carbono orgánico total en sustratos de prueba individuales, b:) Capacidad de campo y Carbono orgánico total en mezclas, donde PI es pizonte de plátano en fibras,



PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

El análisis de Kruskal-Wallis muestra las diferencias significativas de las cantidades de nitrógeno entre los sustratos y entre las mezclas (Figura 4). En general, se observa que la cachaza, el pizonte y la punta de caña tienen un mayor contenido de N, sin llegar al 1% sus valores promedio, siendo así valores bajos de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 y la FAO (2013), que refiere porcentajes adecuados entre 1 y 4%. Sin embargo, Castillo *et al.*, (2008) hace referencia a que lo que activa la degradación lignolítica-fúngica es la limitación de nutrientes, especialmente la deficiencia del nitrógeno. Además, se tiene como antecedente que los hongos de pudrición blanca manifiestan una eficiencia extrema en el aprovechamiento del nitrógeno, al grado de que en condiciones de poco nitrógeno algunos hongos lo utilizan específicamente para la generación de enzimas extracelulares y sus componentes esenciales, otra función importante es el reciclado del nitrógeno en su micelio (Deacon, 2002; Chaparro y Rosas, 2006); Cameron y Aust (2001) mencionan que en general los hongos de la pudrición blanca son muy eficientes en el uso del nitrógeno.

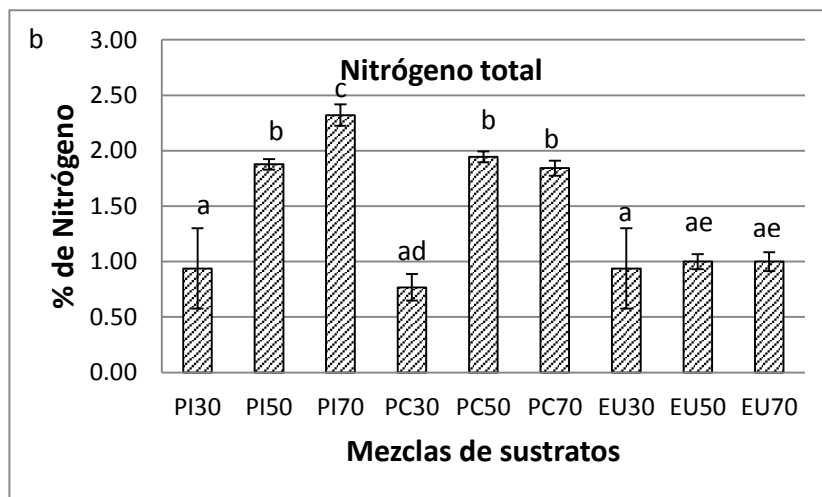
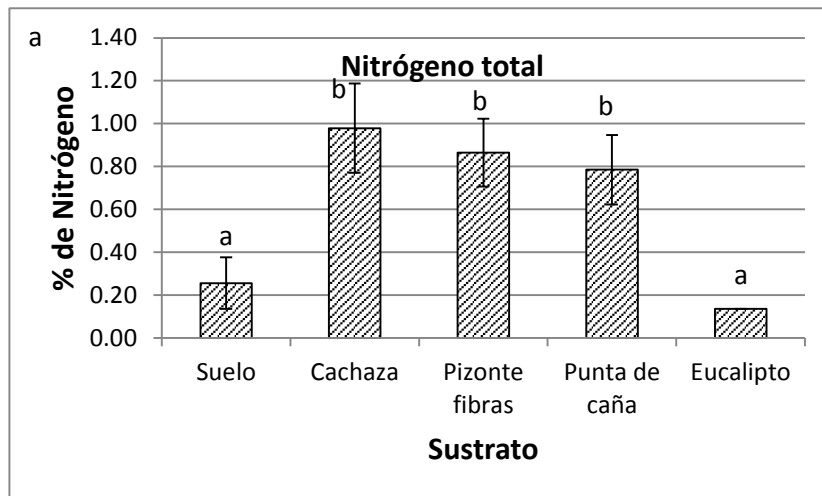


Figura 4. a: Nitrógeno total en sustratos de prueba individuales, b: Nitrógeno total en mezclas, donde PI es pizonte de plátano en fibras, PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

En la Figura 5, se observan las diferencias significativas de la relación C:N entre los sustratos y entre las mezclas de acuerdo al análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis).

La relación Carbono:Nitrógeno en los sustratos orgánicos de estudio es muy variable, desde 31.7 para el caso de la cachaza, hasta 423 para el caso de las astillas de eucalipto, se podría considerar que en los casos del pizonte de plátano (50 y 70%) se tiene un sustrato maduro de acuerdo con lo

que establece Bernal *et al.*, (1998), quienes refieren que un sustrato con una relación C:N<12 se considera maduro independientemente del tipo de residuo. Para éste estudio es deseable una relación C:N alta, puesto que Rayner y Boddy (1988) y Chaparro y Rosas (2006) refieren que las enzimas lignolíticas actúan efectivamente cuando el sustrato tiene una relación C:N alta.

En el caso de las mezclas estudiadas se podría considerar que el mejor candidato para la degradación enzimática es el eucalipto, por su gran cantidad de lignina (25%) (Aparecida, 2001) sin embargo los procesos de degradación microbiana dependen de diversos factores, mismos que se tienen que considerar para la eficacia en las mezclas de las biocamas, como son la temperatura, humedad, tipo de plaguicida, biomezcla (Castillo y Torstensson, 2007).

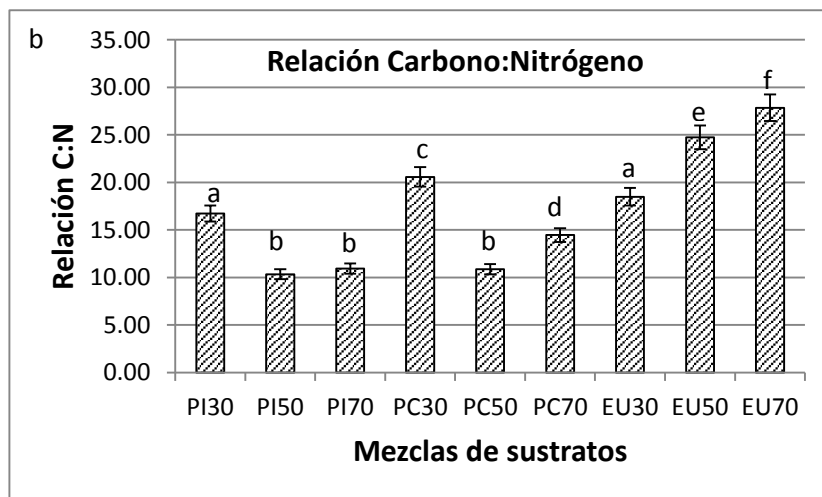
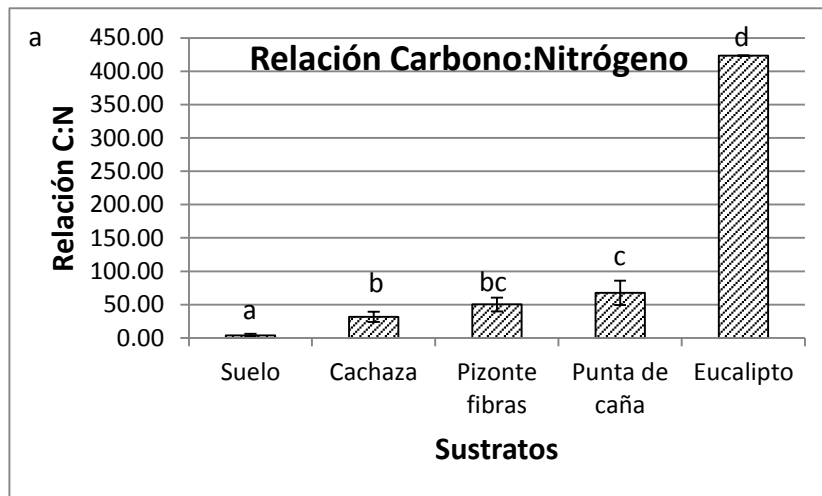


Figura 5. a: Relación C:N en sustratos de prueba individuales, b: Relación C:N en mezclas, donde PI es pizonte de plátano en fibras, PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

Las concentraciones de ácidos húmicos y fúlvicos en los sustratos, se encuentran en un rango de 8 a 17.6%, sin embargo al formar las mezclas, estas presentan porcentajes menores entre 5.7 a 11.7%, los valores más altos corresponden a las mezclas de punta de caña y eucalipto, en donde se podrían encontrar las mejores tasas de reducción de contaminantes, puesto que los ácidos húmicos y fúlvicos favorecen los procesos de degradación microbiana (Ruíz, 2001; Upegui, 2010); además

de presentar interacción por unión hidrofóbica en enlaces hidrógeno con contaminantes orgánicos polares; de acuerdo a Orsetti (2010), el material húmico presente en el suelo es más hidrofóbico que el material húmico presente en los cuerpos de agua, provocando una acumulación de los contaminantes hidrofóbicos en el suelo, reduciendo su solubilidad y movilidad. En el Cuadro 3 se pueden observar los valores a detalle.

Cuadro 3. Porcentaje de Ácidos húmicos y fúlvicos en sustratos de prueba individuales y mezclas.

	Ácidos húmicos		Ácidos fúlvicos	
	%		%	
	x	±	x	±
Cachaza	16.34	0.52	0.07	0.00
Pizonte fibras	14.63	0.50	0.04	0.01
Punta de caña	17.60	0.27	0.04	0.00
Eucalipto	8.05	0.44	0.03	0.01
PI30	10.31	1.01	0.03	0.04
PI50	8.23	3.86	0.02	0.03
PI70	9.67	0.71	0.40	0.52
PC30	10.49	0.49	0.05	0.01
PC50	11.67	0.68	0.02	0.02
PC70	11.24	0.15	0.02	0.01
EU30	7.71	0.13	0.56	0.74
EU50	6.41	0.21	0.00	0.00
EU70	5.70	0.42	0.03	0.00

PI es pizonte de plátano en fibras, PC es punta de caña, EU es eucalipto en astillas; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales.

### Concentración de ETU en suelo

La determinación de ETU se realizó en los suelos iniciales, los cuales reportan concentraciones por debajo del nivel de detección ( $ND = 0.06 \text{ mgL}^{-1}$ ), esto es debido a que se seleccionó un sitio aledaño a un aeródromo, lo que implicaba que estaba alejado de la zona sujeta a fumigación, es muy posible que esta sea la razón por la cual los niveles de ETU no se detectan.

### **Concentración de ETU en tratamientos**

Los tratamientos iniciales de las diferentes mezclas presentaron una mayor disipación del ETU, en todos aquellos tratamientos que contenían solo el 30% del sustrato de prueba, sin embargo como los tratamientos tenían un aporte regular (cada 15 días) de agua residual contaminada con Mancozeb (el cual se transformaba a ETU en un periodo muy corto), solo algunos tratamientos lograron reducir las concentraciones a niveles seguros para el ambiente ( $1\text{mgL}^{-1}$ ). La eficacia de los tratamientos con 30% de sustrato de prueba serían una solución muy adecuada para una dosis única. Es de gran importancia destacar los beneficios que ofrece la presencia de suelo en estas mezclas (35%), puesto que su mayor CIC sugiere una mayor adsorción del plaguicida debido a su polaridad, debido a que la CIC es un indicador asociado a la presencia de coloides en el suelo, mismos que por su carga negativa pueden determinar la adsorción de los plaguicidas con carga o con una característica polar, a parte de la adsorción directa, otro puente de unión que favorece la adsorción de plaguicidas es la presencia de bases intercambiables (Li *et al.*, 2006), después de la punta de caña, la cachaza es el sustrato con mayor porcentaje de ácidos húmicos que pueden beneficiar los procesos de degradación según lo refiere Ruíz (2001) y Upegui (2010). Al realizarse las mezclas con cada sustrato, la cachaza tiende a favorecer algunas de sus características (CIC, pH, relación C:N).

A diferencia de las proporciones ideales para la mezcla sueca original reportada por Castillo y Torstensson (2008), en las mezcla con punta de caña, la proporción con 30% de punta de caña, 35% de suelo y 35% de cachaza, presentó la mayor disminución del etilentiourea,

La explicación de esta disminución en el sistema posiblemente se deba a que ésta es la mezcla con mayor contenido de cachaza y suelo presente en el sistema, por lo cual puede presentar una mayor población microbiana por la cantidad de materia orgánica; la proporción que contiene más suelo y cachaza concuerda con una mayor CIC, lo cual favorece la adsorción del plaguicida, por ser una propiedad del suelo que puede determinar la adsorción de los plaguicidas con carga o con una característica polar (Li *et al.*, 2006), además esta misma proporción (30% punta de caña, 35%

cachaza y 35% suelo) aunque tiene baja concentración de nitrógeno (0.77%), la relación C:N es la más alta, esto beneficia el sistema debido a que los hongos de pudrición blanca son muy eficientes en el uso del nitrógeno (Cameron & Aust, 2001) y las enzimas lignolíticas actúan efectivamente cuando un sustrato tiene una relación C:N alta (Rayner & Boddy, 1998; Chaparro y Sosa, 2006). En estos tratamientos la proporción con menor cantidad de punta de caña y más cachaza-suelo tuvo la mejor respuesta (Figura 6 a).

Los resultados iniciales en las mezclas de pizonte de plátano presentaron una relación lineal directa ( $R^2=0.9729$ ) entre las proporciones del sustrato de prueba en la mezcla y las concentraciones de ETU en las biocamas, es decir con forme aumenta el pizonte de plátano (y se reduce la cachaza y suelo) las concentraciones de ETU que permanecen en las biocamas son mayores. Se puede suponer que conforme se reduce la cantidad de suelo y cachaza, se reduce la aportación microbiana, y los coloides (arcilla y materia orgánica) que pudieran adsorber el plaguicida con carga o característica polar, lo cual contribuye a la baja reducción del ETU.

El tratamiento con pizonte con mayor disminución de ETU es el que tiene la proporción de 50, seguido de la mezcla con 30%; se puede considerar que inicialmente la proporción de 30 respondió de forma más favorable, sin embargo, debido a la aplicación regular del agua residual, esta mezcla no mostró la misma respuesta, siendo la de 50% la que mejores resultados presentó, lo cual es congruente con la proporción ideal para la mezcla sueca reportada por Castillo (2008).

El tratamiento con la proporción 50% pizonte de plátano, 25% cachaza y 25% de suelo registró un valor promedio de pH 8.1, a diferencia de la mezcla sueca (que refiere valores de  $pH < 6$ ), el cual favorece los procesos de hidrólisis (Narváez *et al.*, 2012), que pueden ser los predominantes en la disminución de la concentración del plaguicida en esta mezcla (Figura 6 b)

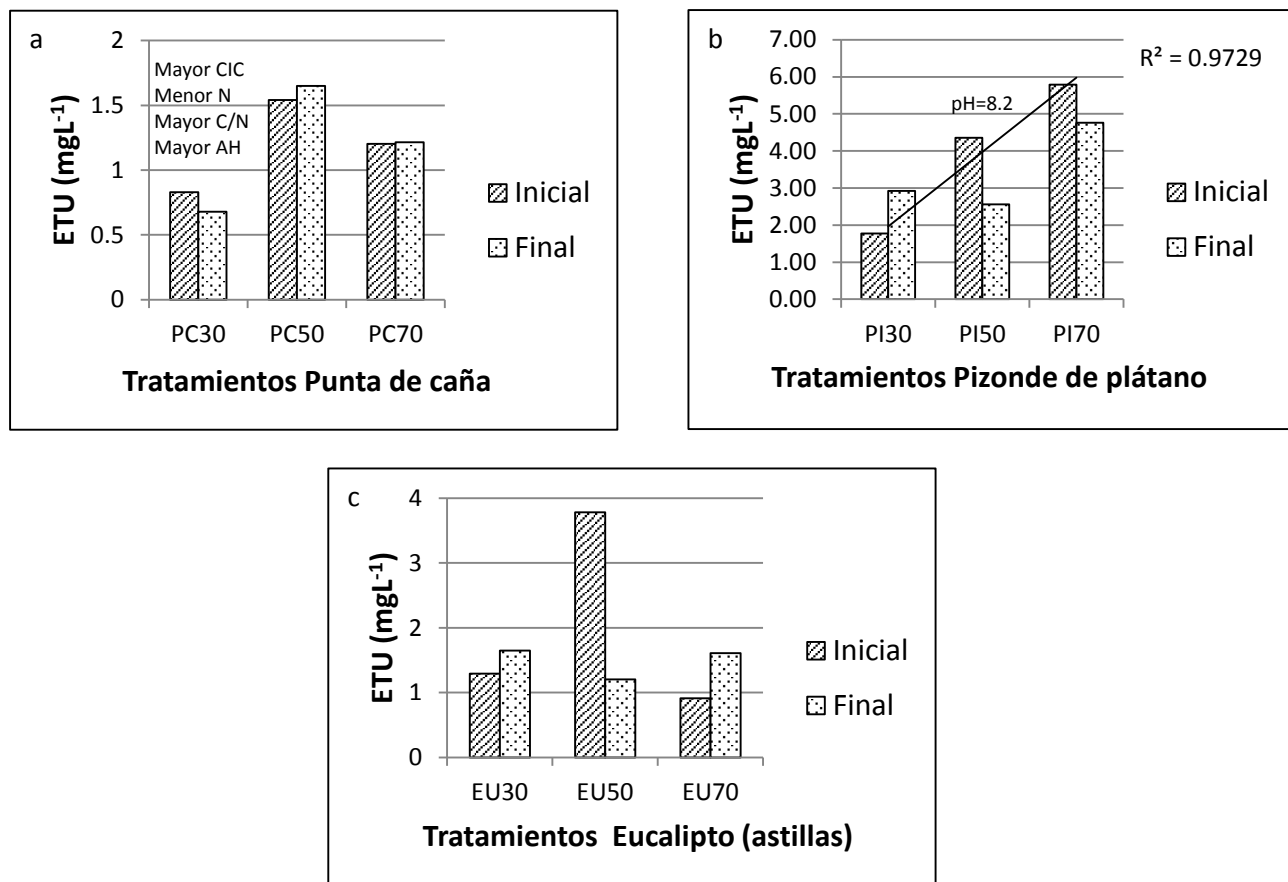


Figura 6. Concentraciones de ETU en los diferentes tratamientos. Cada tratamiento recibió 16 aplicaciones de agua residual durante el tiempo de tratamiento. Los valores de 30, 50 y 70 corresponden a las proporciones de sustrato de prueba, el resto de la proporción para cada caso corresponde a cachaza y suelo en proporciones equivalentes. PC: Punta de caña, PI: Pizonte de plátano, EU: Astillas de eucalipto.

El mejor resultado inicial en la reducción de ETU en las mezclas de astillas de eucalipto, fue la proporción de 70, sin embargo el tratamiento con mejor respuesta al final del tiempo de evaluación fue el de 50% coincidiendo con las proporciones de la mezcla sueca; otras variables indicadoras de lo que pudo suceder en la mezcla del sustrato de eucalipto son el pH menor a 6 (5.8) y bajo porcentaje de N (1.0), y la mayor CIC (23.7 cmol<sub>c</sub>kg<sup>-1</sup>) de las tres mezclas de eucalipto, por lo que se puede hacer referencia a procesos de degradación lignolítica, puesto que el eucalipto es el más rico en lignina, esto estimula la actividad de humificación que realizan los hongos y actinomicetos del suelo, sin tener un efecto adverso por el bajo contenido de N. (Castillo y Torstensson, 2007), a



la vez que se presenta gran adsorción por los coloides presentes en la mezcla, según se ha referido con anterioridad.

En general en cada caso, las mezclas con concentraciones menores de ETU correspondieron a aquellas con mayor CIC, sin embargo otras variables como el pH, la relación C:N no fueron constantes; se interpreta que en los intervalos de pH existentes en los diferentes sustratos, siendo los de astillas de eucalipto los más bajos 5.8 a 6.2 y los de pizote de plátano los más altos 7.5 a 9.5, se pudo presentar actividad de degradación biológica favorable por la variedad de microorganismos que predominan en cada condición particular de pH, aunado a esto, los sustratos con pH alcalino (de 8 a 10) pudieron presentar procesos de hidrólisis, y los de pH ácido actividad fúngica. Es posible que la actividad enzimática se estimulara en los casos de la relación C:N alta, sin embargo los mejores resultados para este estudio se pudieron definir por la mayor CIC, variable que se asocia con la presencia de materia orgánica y arcilla, que por su carga negativa favorecen los procesos de adsorción de los plaguicidas con carga o con una característica polar, y por la presencia de bases intercambiables (Li *et al.*, 2006), también tiene una relación directa con los contenidos de sustancias húmicas las cuales favorecen algunos procesos de degradación (Orsetti, 2010).

### **Toxicidad en muestras iniciales**

La variable de toxicidad se determinó en las muestras iniciales de suelo y sustratos orgánicos, en donde los valores obtenidos fueron inferiores a 10.52 UT, clasificándolas en un nivel de 'no tóxicas'.

### **Toxicidad en los tratamientos**

La evaluación inicial de la toxicidad para las mezclas de punta de caña presentó unidades de toxicidad bajo el nivel umbral ( $UT < 10.52$ ); debido a que la biocama recibía una aportación de agua residual cada dos semanas, la medición de toxicidad a los dos meses reportó valores en un rango tóxico, al final de la evaluación, sólo la biocama con la mezcla de 30% de punta de caña,

35% de cachaza y 35% de suelo, mostró una reducción hasta un nivel no tóxico (UT=6.45) (Figura 7). Lo cual coincide con la concentración de ETU debido a que para este tratamiento fue la más baja (ETU<1 mgL<sup>-1</sup>).

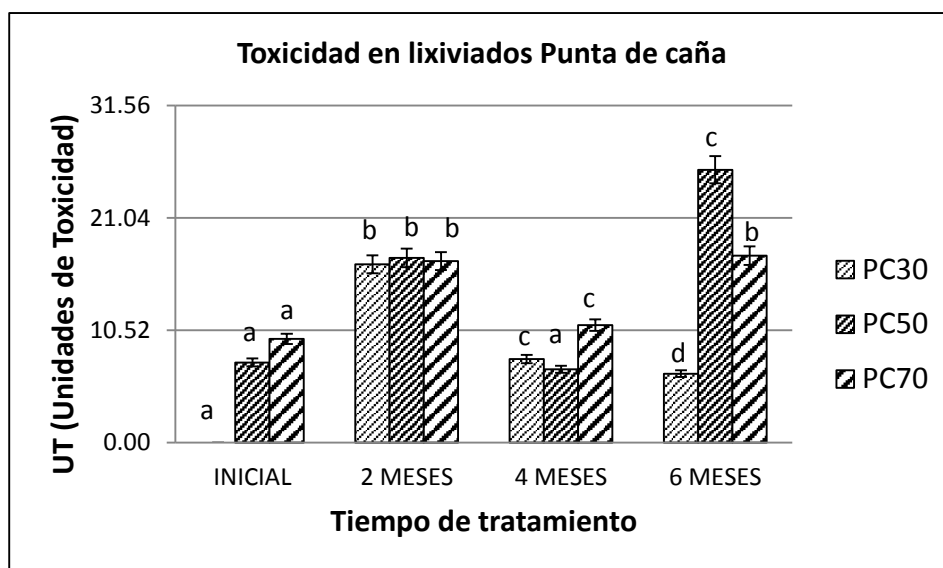


Figura 7. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con punta de caña; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

La mezcla de punta de caña que resultó ‘no tóxica’, a diferencia de las otras proporciones del mismo sustrato, cuenta con una mayor proporción de cachaza y suelo, lo cual puede ser el resultado de tener entre las tres mezclas un pH mayor (6.1), lo que pudo contribuir a la actividad microbiana, así también es superior en los valores de CIC (mostrando la tendencia de decrecer conforme se reduce el porcentaje de cachaza y suelo) relación C:N, y AF. Se puede inferir que alguno de estos factores influye en una mayor estimulación para la disminución de los plaguicidas en ésta mezcla, asociando una alta actividad lignolítica debido a la relación C:N y la presencia de ácidos húmicos que favorecen los procesos de degradación (Orsetti, 2010).

Las biocamas con mezclas de pizonte de plátano, presentaron una toxicidad nula al inicio del tratamiento, salvo la mezcla de 70%, que resultó muy tóxica, conforme incrementó el tiempo de

tratamiento se redujo la toxicidad hasta un nivel promedio no tóxico ( $UT < 10.52$ ) en todos los tratamientos (Figura 8), resultando como mejor tratamiento la mezcla de pizonte al 50% presentando una toxicidad nula (no detectada), esto coincide con lo observado en las concentraciones de ETU, debido a que la concentración en esta mezcla es la más baja ( $2.5 \text{ mgL}^{-1}$ ).

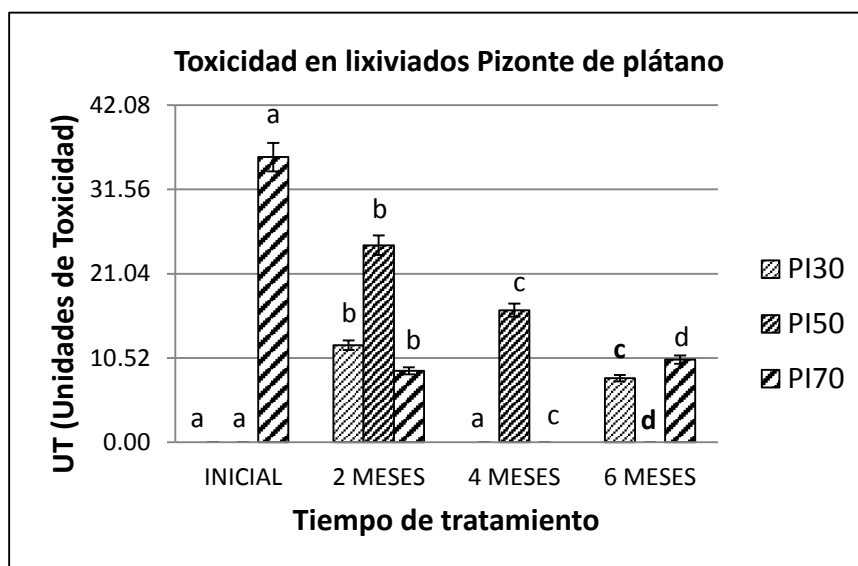


Figura 8. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con pizonte de plátano; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

Los resultados de toxicidad de las mezclas con pizonte de plátano resultaron muy favorables, esto puede deberse a una estimulación de los procesos de hidrólisis, considerando que las mezclas de pizonte fueron las únicas que presentaron un pH promedio inicial de 7.5 a 9.5, mientras que el resto de las mezclas tenía un pH promedio entre 6 y 6.2. Al respecto, Narváez *et al.* (2012) mencionan que el pH es un factor determinante en el medio puesto que favorece los procesos de hidrólisis en un rango de 8 a 10, lo cual potencia otros procesos de transformación que favorecen la degradación y la reducción de la toxicidad. Otro factor que puede estar contribuyendo es la gran capacidad de adsorción que les otorga la materia orgánica y la arcilla, las cuales se expresan mediante la CIC, puesto que estas mezclas cuentan con una CIC promedio entre 21.4 y 21.7

cmol.kg<sup>-1</sup> los cuales son superiores a los valores presentados en cuatro de las seis mezclas restantes (excepto en las de eucalipto al 50 y 70%); la CIC es una propiedad del suelo que puede expresar la presencia de materia orgánica y arcilla, que posibilitan la adsorción de los plaguicidas con carga o con una característica polar, a parte de la adsorción directa, otro puente de unión que favorece la adsorción de plaguicidas es la presencia de bases intercambiables (Li *et al.*, 2006).

Los porcentajes promedio de nitrógeno con los que se inicia el tratamiento en las mezclas de pizonte de plátano (9.39, 18.77 y 23.21), son superiores a los valores de las otras mezclas en su proporción correspondiente, el nitrógeno tiene una contribución importante en la generación de enzimas y aminoácidos (Upegui, 2010), por lo que las poblaciones de microorganismos podrían ser mayores en estos tratamientos, lo cual puede favorecer los procesos de estabilización-degradación-adsorción del plaguicida y sus compuestos de degradación.

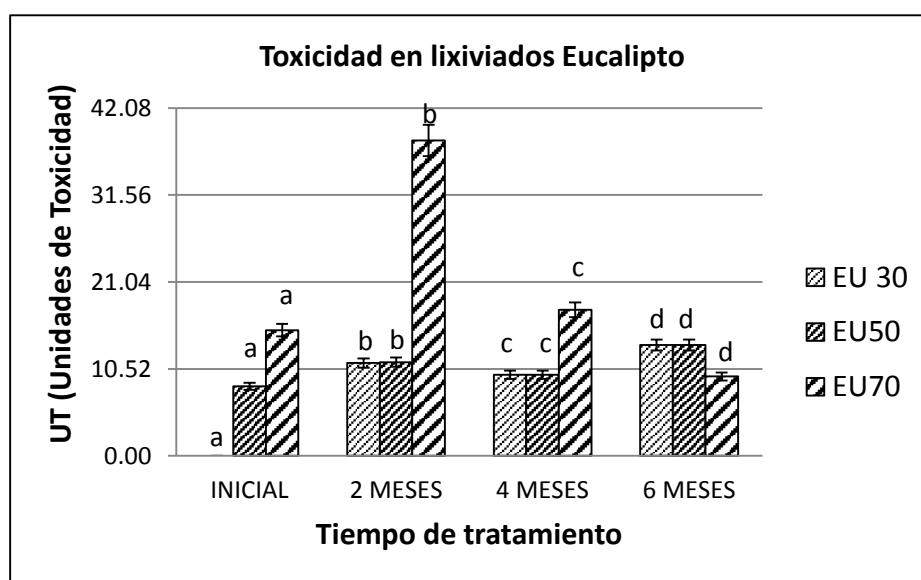


Figura 9. Evaluación de la toxicidad en los diferentes tratamientos (mezclas) con astillas de eucalipto; los valores de 30, 50 y 70, representan los porcentajes de sustrato en la mezcla, la proporción restante se compone de suelo y cachaza en partes iguales. Letras distintas muestran diferencias significativas en cada gráfica.

A final del tiempo de evaluación, de acuerdo a la escala propuesta por Cornelio (2001), los resultados de toxicidad de las mezclas de astillas de eucalipto en las proporciones de 30 y 50 fueron

ligeramente tóxicos; de acuerdo a lo propuesto por Rayner y Boddy (1998) y Chaparro y Rosas (2006) las enzimas lignolíticas actúan efectivamente cuando el sustrato tienen una relación C:N alta, en el caso de las mezclas de eucalipto, la relación C:N incrementa conforme la proporción del sustrato de prueba (30, 50 y 70) y la mezcla de mayor porcentaje de eucalipto es la que no presenta toxicidad al final de la evaluación, lo cual se puede atribuir a la efectividad de las enzimas lignolíticas asociada a la alta relación C:N presente en la mezcla EU70. A diferencia de las mezclas anteriores (punta de caña y pizonte), la ausencia de toxicidad no coincide con la baja concentración de ETU; esto puede deberse a que en los procesos de transformación de Mancozeb (EBDC) a ETU, y en la transformación subsecuente del ETU, se generan otros metabolitos tóxicos, en algunos casos desconocidos, que podrían tener una toxicidad acumulativa (antagónica) que aunque se esté cuantificando la reducción de ETU, la toxicidad de los metabolitos no evaluados puede estar detectando, para explicar esto se propone el esquema teórico presentado en la Figura 10. En el caso de las mezclas de astillas de eucalipto, se considera como mejor tratamiento a la mezcla no tóxica EU70.

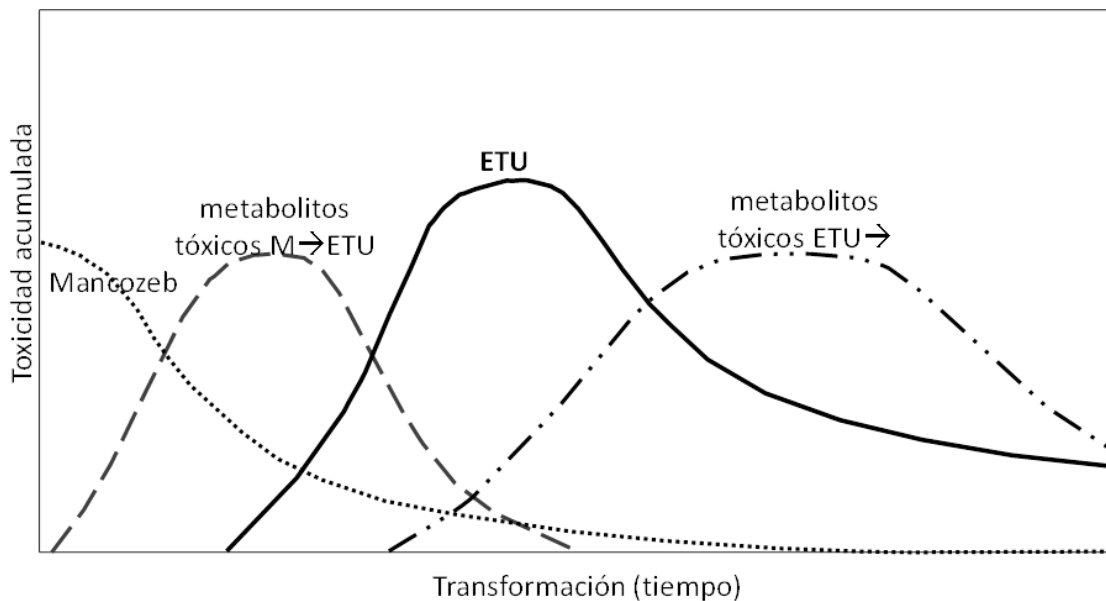


Figura 10. Modelo teórico que supone la toxicidad acumulativa en el proceso de transformación de Mancozeb.

## **Bentonita**

La bentonita conformó el fondo de cada unidad experimental, su importancia radica en su evaluación en presencia de toxicidad, de no presentarse toxicidad a esta profundidad se podría decir que las biocamas han sido eficaces en contener el fungicida para su disminución y el sistema no representa un riesgo para el ambiente. Al final del tiempo de evaluación de las biocamas, se realizaron determinaciones de toxicidad en la bentonita del fondo de las unidades experimentales, en donde todas estuvieron en un rango de ‘no tóxico’ ( $UT < 10.52$ ), y en más del 50 % de los casos se considera una respuesta estimuladora para el organismo de prueba, indicando con esto que en la profundidad de las biocamas no se presenta un riesgo para el organismo de prueba, y por consiguiente no representan un riesgo para el ambiente.

La prueba de toxicidad por el método NMX-AA-112-1995 usando el equipo Microtox específico para determinar la reducción de la bioluminiscencia de la bacteria *Vibrio fischeri*, se lleva a cabo mediante una comparación en la producción bioquímica de luz registrada en el equipo con diferentes concentraciones de muestra en una solución diluyente. De estos datos se generó una curva de dosis-respuesta para determinar a qué concentración se obtiene una reducción de 50% de bioluminiscencia. Esta concentración se conoce como la Concentración Efectiva 50 (CE50). Se espera que al exponerse la bacteria a la muestra, la bioluminiscencia se reduzca. Pero, para el caso del lixiviado de bentonita (con potencial de contener la toxicidad asociada al ETU), las absorbancias registradas reflejaron un incremento en la bioluminiscencia del organismo de prueba. En estas muestras, para determinar la bioestimulación (en vez de toxicidad) se tomaron en cuenta los valores absolutos de bioluminiscencia (100% de bioluminiscencia en el blanco, sin muestra), y se calculó el aumento por diferencias entre el patrón (100% bioluminiscencia) y la muestra de lixiviado de bentonita (% de bioestimulación), esto se muestra en la Figura 11.

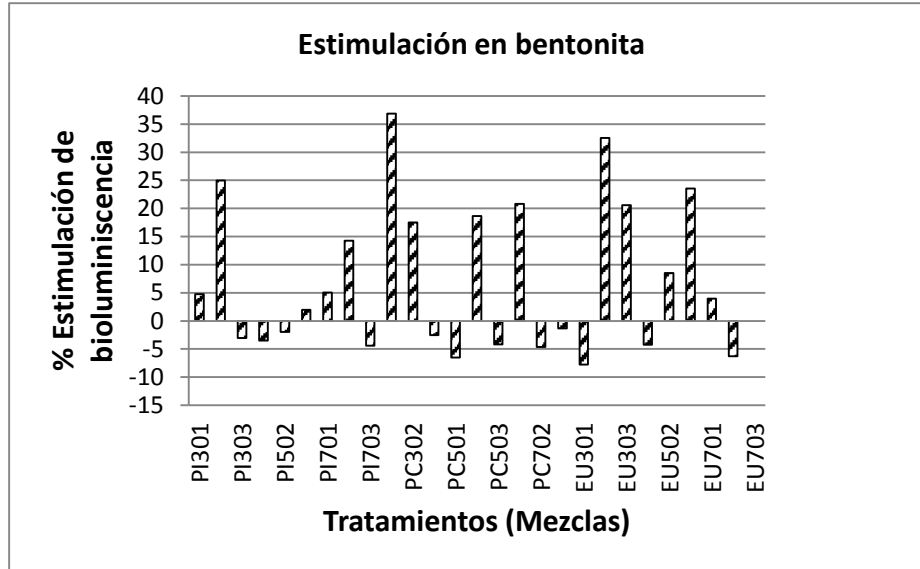


Figura 11. Porcentaje de bioestimulación de la luminiscencia en *Vibrio fisheri* en muestras de bentonita del fondo de cada tratamiento.

### Proporciones seguras y eficaces

A través del estudio en las biocamas para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con Mancozeb con una aportación continua, se observa que los resultados de las bajas concentraciones de ETU coinciden con la ausencia de toxicidad en las mezclas de los sustratos de punta de caña y pizonte de plátano. Tomando en cuenta lo anterior, se realizó un modelo de superficie de respuesta para cada conjunto de mezclas de punta de caña y pizonte de plátano, con la intención de identificar las proporciones óptimas de cada sustrato, para alcanzar los resultados deseados; este modelo permite seleccionar los sustratos de acuerdo a la abundancia o facilidad de obtener alguno que predomine sobre otro (Figura 12). Los resultados obtenidos con las mezclas de eucalipto no se ajustaron al modelo de superficie de respuesta.

Para la interpretación y empleo de estos gráficos, tomar en cuenta que en cada caso las líneas interiores representa los valores de ETU a los que se puede aspirar (de acuerdo a los datos que alimentaron el modelo), los valores de ETU están establecidos en los extremos de las líneas internas; puesto que se consideró como valor máximo  $1\text{mgL}^{-1}$  de ETU en los lixiviados de las

mezclas, lo ideal es tener mezclas que garanticen valores de ETU menores a este. El eje x indica los porcentajes iguales de suelo y cachaza sugeridos, mientras que el eje y indica el valor mínimo del sustrato de prueba (punta de caña, pizonte de plátano) para garantizar la concentración de ETU. El modelo numérico puede aplicarse para una mayor precisión o en caso de que los datos requeridos no estén expresados en el gráfico.

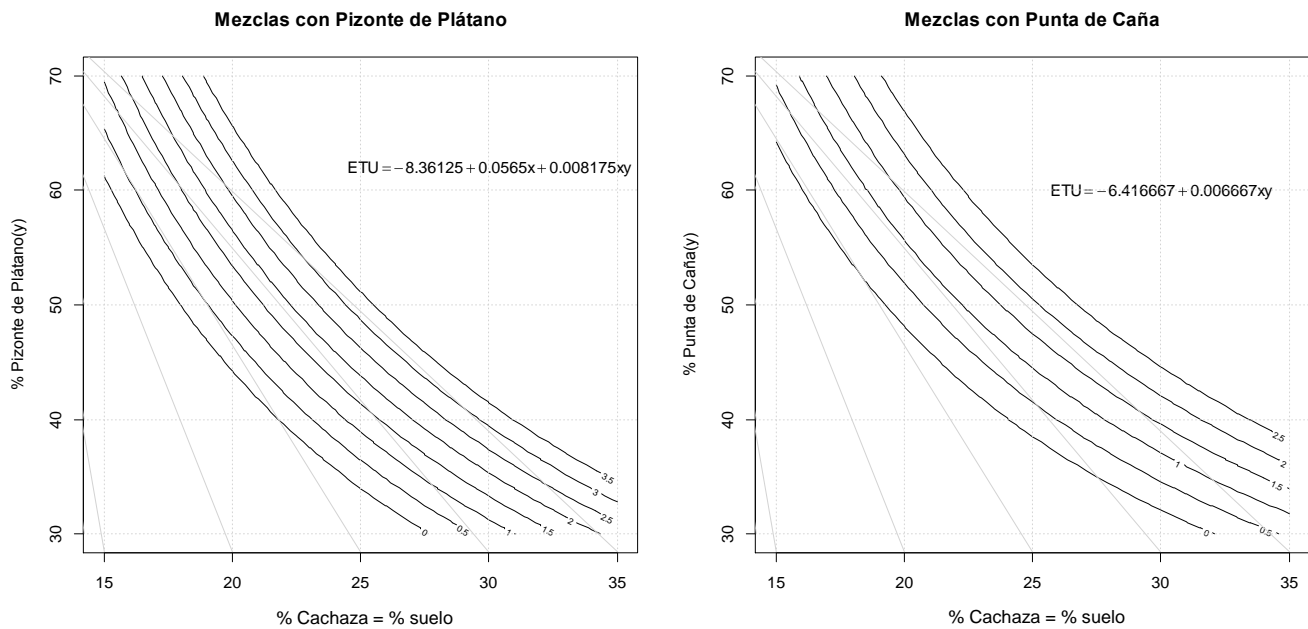


Figura 12. Predicción de proporciones de sustratos de acuerdo a las concentraciones de ETU que se requiera alcanzar.

## Conclusiones

El suelo nativo que se empleó como parte de las mezclas para las biocamas es un Fluvisol Háplico (Eútrico Arcílico), con un pH ligeramente ácido a moderadamente alcalino, buenos contenidos de materia orgánica, arcilla y bases intercambiables, alta CIC y una relación C:N de 4.04.

La evaluación de las biocamas utilizando residuos agroindustriales locales fue exitosa.

En todos los tratamientos la bentonita resultó no tóxica, esto indica que los fenómenos de adsorción y degradación del plaguicida fueron eficaces en todos los tratamientos, aunque dichos procesos no



estén totalmente definidos, además en más del 50% de los casos se presentó bioestimulación en el organismo de prueba.

Las mezclas con mayor CIC presentaron una disminución mayor de ETU y no mostraron toxicidad al final del tiempo de evaluación.

Los mejores resultados de biocamas probando tres sustratos y suelo Fluvisol para el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y ETU fueron las mezclas con 30% de punta de caña (PC30), 50% de pizote de plátano (PI50) y con 70% de eucalipto (EU70).

Los procesos que posiblemente favorecieron el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y ETU en la mezcla PC30 fueron los de adsorción, debido a que esta mezcla fue la de mayor CIC. La degradación biológica por hongos posiblemente se benefició debido al valor inicial de pH (6.17) en el sistema y debió ser muy eficaz por las concentraciones bajas de nitrógeno, la alta relación C:N pudo haber favorecido la actividad enzimática.

La disminución del plaguicida en el tratamiento de aguas contaminadas con Mancozeb y ETU usando la mezcla PI50 pudo verse beneficiada por los procesos de adsorción asociados a la alta CIC, así como la estimulación de la degradación biológica debido al contenido de sustancias húmicas; los procesos de hidrólisis pudieron haberse motivado por el pH inicial presente en la mezcla (8.2).

El tratamiento EU70, alcanzó el nivel de 'no tóxico' debido a que probablemente el pH (5.8) estimuló la actividad fúngica, la CIC alta pudo beneficiar los procesos de adsorción y la degradación biológica, mientras que la alta relación C:N pudo haber contribuido en la actividad enzimática.

El análisis de la concentración de los plaguicidas en las biocamas fue acompañado del análisis de

toxicidad, como evidencia del riesgo del fungicida y los metabolitos presentes en la mezcla.

## Referencias

- Aparecida L. 2001. Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira, Dissertação de mestrado, Unidade escola superior de agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), estado de São Paulo, Brasil.
- Aust S. D. 1990. Degradation of environmental pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microb. Ecol.*, 20(56):197–209.
- Bernal M. P. Paredes C. Sánchez-Monedero M. A. and Cegarra, J. 1998. Maturity and stability parameters of composta prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technol.* 63:91-99.
- Cameron M. and Aust S. 2001. Cellobiose dehydrogenase-an extracellular fungal flavocytochrome. *Enzyme and Microbial Technology.* 28: 120-138.
- Carrillo L. 2003. Capítulo 3: Actividad microbiana. en: *Microbiología agrícola*. Universidad nacional de Salta. [Consultado: Mayo de 2015]. <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micagricap3.pdf>
- Castillo M. D. P. Ander P. and Stenström J. 1997. Lignin and manganese peroxidase activity in extracts from straw solid substrate fermentations. *Biotechnol. Tech.*, 11:701–706.
- Castillo M. D. P., & Torstensson, L. 2007. Effect of biobed composition, moisture, and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5725-5733.
- Castillo M. D. P. & Torstensson L. Stenström J. 2008. Biobeds for environmental protection from pesticide se: a Review. *J. Agric. Food Chem.* 56(15):6206-6219.
- Contreras M. D. E. 1982. El chamusco negro, una nueva enfermedad de la hoja de plátano. Centro regional Puyacatengo, Teapa, Tabasco. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Coppola L. Castillo M. d. P. Monaci E. and Vischetti C. 2007. Adaptation of the biobed composition for chlorpyrifos degradation to southern Europe conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 396–401.
- Cornelio G.Y. 2001. Evaluación Preliminar de Toxicidad por Plaguicidas (Mancozeb) en Agua y Sedimentos en la Zona Platanera del Río Teapa, Tabasco, México. [dissertation] [México]:

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México.

Cuanalo de la C. H. 1990. Manual para la descripción de perfiles de suelos en el campo. 3a ed. Colegio de postgraduados. Chapingo, México.

Chaparro S. D. y Rosas W. D. 2006. Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera en la reserva natural La Montaña del Ocaso, Quimbaya-Quindío. Pontificia Universidad Javeriana.

Deacon J. 2002. Modern mycology. Third edition. Blackwell science. Edinburg, United Kingdom.

Debaer C. and Jaeken P. 2006. Modified biofilters to clean up leftovers from spray loading and cleaning; experience from pilot installations. *Aspects Appl. Biol.* 77: 247–252.

Delgado E. Trejos J. Villalobos M. Martínez G. Lobo D. Rey J. C, Rodríguez G. Rosales F. E. y Pocasangre L. E. 2010. Determinación de un índice de calidad y salud de suelos para plantaciones bananeras en Venezuela. *Interciencia.* Vol 35, núm. 12., pp. 927-933.

Domínguez M.C. Peñuela G. y Flórez M.T. 2009. Método Analítico para la determinación de Etilentiourea (ETU) subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueño. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia.* 49:42-49.

Domínguez-Rodríguez V. I. Guerrero-Peña A. Adams R. H. Miranda-Cruz E. Obrador-Olán J. J. Zavala-Cruz J. and Vaquera-Huerta H. 2015. Eco-friendly spectrophotometric method as alternative for carbon disulfide-free determination of Ethylenethiourea in surface water. *Research Journal Of Chemistry and Environmen.* 19 (5): 1-7.

Domínguez-Rodríguez V. I. Obrador-Olán J. J. Adams R. H. Zavala-Cruz J. Vaquera-Huerta H. Guerrero-Peña A. Miranda-Cruz E. 2015. Occupational and Environmental Risks from Mancozeb in Aviation Facilities in the Banana Producing Area of Teapa, Tabasco, Mexico. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 14(9):1703-1712.

Fait G. Nicelli M. Fragoulis G. Trevisan M. and Capri E. 2007. Reduction of point contamination sources of pesticide from a vineyard farm. *Environ. Sci. Technol.* 41: 3302–3308.

FAO 2013. Manual de compostaje del agricultor, experiencias en América Latina. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, oficina regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, 2013.

Fassbender H. W and Bornemisza E. 1994. Química de suelos con énfasis en suelos de América. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. San José. Costa Rica.

- Fogg, P. Boxall, A., Walker, A., & Jukes, A. A. 2003. Pesticide degradation in a 'biobed' composting substrate. *Pest management science*, 59(5), 527-537.
- Fulvio A. Mata R. Alvarado A. Serrano E. y Laguna J. 2010. Caracterización química y clasificación taxonómica de algunos suelos cultivados con banano en las llanuras aluviales del Caribe de Costa Rica. *Agronomía costarricense* 34(2): 177-195. ISSN: 0377-9424/2010.
- Geissen V. Que Ramos F. Bastidas-Bastidas P. d. J. Díaz-González G. Bello-Mendoza R. Huerta-Lwanga, E. and Ruíz-Suárez L. E. 2010. Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol*.85:407–413.
- Infoagro: Recuperado de [http://www.infoagro.com/frutas/frutas\\_tropicales/platano.htm](http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/platano.htm)., s. f. 2014.
- Kalil P. P. 2007. Seguimiento del proceso de humificación en compost inoculado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D. C. Colombia.
- Karanasios E. Tsiropoulos, N. G., & Karpouzas, D. G. 2012. On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. *Biodegradation*, 23(6), 787-802.
- Karas, P., Metsoviti, A., Zisis, V., Ehaliotis, C., Omirou, M., Papadopoulou, E. S., & Karpouzas, D. G. 2015. Dissipation, metabolism and sorption of pesticides used in fruit-packaging plants: Towards an optimized depuration of their pesticide-contaminated agro-industrial effluents. *Science of The Total Environment*, 530, 129-139.
- Li H. Teppen B. J. Laird D. A. Johnston C. T. y Boyd S. A. (2006). Effects of increasing Potassium Chloride and Calcium Chloride Ionic strength on pesticide sorption by Potassium-and Calcium-smectite, *Soils science society of american journal*. 70, 1989-1995.
- Mathur S. Owen G. P. Dinel H. Schnitzer M. (1993) Determination of compost biomaturity. *Biol. Agric. Hort.* 10: 65-85.
- Moreno C. J. and Moral H. R. 2007. *Compostaje*. Editorial Mundi Prensa. Madrid. España.
- Narváez V. J. Palacio B. J. y Molina, P. F. 2012. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad. *Revista gestión y ambiente*. Medellín. España. 15(3):27-38.

- Obrador O. J.J. 2009. Labores culturales en el cultivo de caña de azúcar (p 22-25). En Valdez B. A., Guerrero P. A., García L. E. y Obrador O. J.J. Manual para el cultivo y producción de la caña de azúcar. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco. México.
- Omirou M. Dalias P. Costa C. Papastefanou C. Dados A. Ehaliotis C. & Karpouzas D. G. 2012. Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies. *Environmental Pollution*, 166, 31-39.
- Orsetti S. 2010. Estudio de la heterogeneidad de ácidos húmicos en el enlace de cationes. Facultad de ciencias exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Palma L.D.J. D.J. Cisneros Moreno C.E y Rincón R.J.J. Suelos de Tabasco: Su Uso y Manejo Sustentable. Gobierno del Estado de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 2007.
- Pineda, N., Jaimes, E., Elizalde, G. & Mendoza, J. (2004). Aptitud física de tres clases de suelos de la planicie del río Motatán, Trujillo, Venezuela. *Bioagro*, 16(2) 85- 92. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85716202>
- Rayner A. D. M. & Boddy. L. 1988. Fungal Decomposition of Wood its Biology and Ecology. John Wiley and Sons Ltd. Inglaterra.
- Sanclemente R. O. 2011. Propiedades y contaminación del suelo. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. [Recuperado junio de 2015] [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358013/MODULO\\_PROPIEDADES\\_Y\\_CONTAMINACION\\_DEL\\_SUELO-FINAL.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358013/MODULO_PROPIEDADES_Y_CONTAMINACION_DEL_SUELO-FINAL.pdf)
- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). Norma Mexicana NMX-AA-112-1995-SCF Análisis de agua y sedimentos - Evaluación de toxicidad aguda con *Photobacterium Phosphoreum* – Método de Prueba. Water and Sediment Analysis – Acute Toxicity Evaluation with *Photobacterium Phosphoreum* – Test Method. México: Dirección General de Normas. México, D.F. 1996.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 que Establece las Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. 2002.

- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 Humus de lombriz (lombricomposta) - Especificaciones y Métodos de Prueba. Dirección General de Normas. México, D.F. 2007.
- Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP). (2014). Financiera Nacional de Desarrollo (FND). Panorama del plátano. [Recuperado: septiembre 2014].  
[http://ww.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Pl%C3%A1tano%20\(jul%202014\).pdf](http://ww.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Pl%C3%A1tano%20(jul%202014).pdf)
- Spliid N. H. Helweg A. & Heinrichson K. 2000. Leaching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. *Chemosphere*, 65(11), 2223-2232.
- Torstensson L. 2000. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. *Pestic. 11*, 206–212.
- Upegui S. S. 2010. Evaluación de mezclas compost inmaduro/suelo de Moravia, y fuentes de nutrientes, para la degradación de los pesticidas clorpirifos, malatión y metil paratión. Universidad de Medellín. Medellín, Colombia.
- WRB, I. G. D. T. (2007). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. *Primera actualización*.

## **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES**

## **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES**

Al evaluar la toxicidad en los suelos de un aeródromo en la plantación de plátano en Teapa, Tabasco, se observó alta toxicidad, que sugiere transformación de Mancozeb a ETU, así como la sedimentación de productos tóxicos en el canal de descarga. Estos pueden ser una fuente de contaminación secundaria a largo plazo sobre todo para aguas superficiales y posiblemente, aguas subterráneas, debido a la aplicación del Mancozeb (todo el año) y a los grandes volúmenes de aguas residuales que se generan y el manejo inadecuado de su descarga.

Las entrevistas e inspección de los aeródromos ponen de manifiesto que el riesgo ocupacional de los trabajadores es debido básicamente a la falta de uso de su equipo de protección personal.

El método analítico desarrollado para la cuantificación de ETU cumple con los parámetros de desempeño para la validación de métodos analíticos adecuados para su propósito, además de ser una prueba cuantitativa, no destructiva, rápida, fácil de usar, económica, amigable con el ambiente y que puede ser utilizada en la ausencia de un cromatógrafo de gases.

El suelo nativo que formó parte las mezclas probadas en las biocamas fue un Fluvisol Háptico (Eútrico Arcílico), contribuyó en los procesos de adsorción debido a su alto contenido de materia orgánica y arcilla, alto en bases K, Ca y pH favorable (ligeramente alcalino).

En todos los tratamientos la bentonita resultó no tóxica, lo que indica que los fenómenos de adsorción y degradación del plaguicida fueron eficaces en todos los tratamientos, aunque dichos procesos no estén definidos con claridad, además en más del 50% de los casos se presentó bioestimulación en el organismo de prueba.

Los mejores resultados de disminución del Mancozeb y sus productos de degradación en aguas residuales, mediante las biocamas fueron las mezclas de PC30, PI50, EU70.



Los principales procesos para la descomposición del Mancozeb que se pudieron haber presentado, fueron actividad enzimática (co-metabolismo), actividad lignolítica, humificación, adsorción e hidrólisis.

La determinación de la toxicidad es una variable que poco se ha hecho en los estudios de camas biológicas o sistemas de biopurificación (BPS), sin embargo aporta la información relevante sobre la existencia de riesgo ambiental por efectos del funcionamiento de las biocamas, para este estudio se consideraron los valores de referencia para Tabasco.