

3 C.71 - ANÁLISIS DE RESIDUOS DE HERBICIDAS EN ACEITE DE OLIVA VIRGEN PARA DIFERENTES VARIETADES DE OLIVAR EN MUESTRAS DE ÁRBOL Y SUELO.

M.J. Martínez¹, R. De Prado², G. Plaza³, C.L. Fuentes³

¹Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia
E-mail: mjmartinezc@unal.edu.co

²Departamento de Química Agrícola, Universidad de Córdoba, España.

³Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia;

Resumen: Todos los plaguicidas tienen una cierta toxicidad y por^t tanto su presencia en los productos vegetales puede suponer un riesgo para la salud si superan unos determinados límites. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles residuales de simazina y terbutilazina en diferentes variedades de olivar en muestras tomadas de árbol y suelo. Para ello se establecieron parcelas experimentales en campo distribuidas en bloques al azar para cada variedad de aceituna y herbicida. Las muestras se recolectaron 58 ddt y el aceite se obtuvo por el método ABENCOR. Dos gramos de aceite de cada muestra se mezclaron con 2 ml de hexano, 10 ml de acetonitrilo y 25 µl de una solución de Bromophos (patrón interno). Para el “clean up” se emplearon columnas de fluorisil previamente activadas. El análisis de residuos se realizó por GC-MMS/MS. El análisis estadístico de los resultados indica que no hay diferencias significativas entre los residuos de simazina o terbutilazina encontrados en los aceites, tampoco hay influencia de la variedad de aceituna. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas dependiendo de la procedencia de la muestra. En aceitunas procedentes de árbol las concentraciones detectadas de ambos herbicidas son menores que la detectadas en muestras procedentes de suelo. Las muestras procedentes de suelo superan los LRM establecidos por la legislación para simazina y son muy cercanos a los mismos para terbutilazina en las condiciones de este ensayo.

Palabras Clave: Olivar, triazinas, residuos en aceite, LMR

INTRODUCCIÓN

Uno de los factores más importantes en la pérdida de productividad y rendimiento de los cultivos es la presencia de malas hierbas, principalmente porque compiten por el agua y por nutrientes, siendo necesario el uso de estrategias para su manejo y control. El laboreo ha sido tradicionalmente el método empleado por los agricultores para luchar contra las malas hierbas, pero esta técnica ha influido decisivamente en la aceleración del proceso erosivo. El empleo de herbicidas ha supuesto un método alternativo de control de la vegetación no deseada y ha conseguido disminuir el fenómeno erosivo en los olivares andaluces (BLEVINS, 1986; MARTÍNEZ-RAYA, 2003). Dado que pequeñas concentraciones de plaguicidas son perjudiciales para la salud, y debido al mismo tiempo a la creciente presión de los consumidores, es necesario monitorear cuales de estas moléculas pueden aparecer en el aceite así como la influencia del tipo de aceituna que se va a procesar. El objetivo del presente trabajo fue conocer los niveles de residuos, de dos de los principales herbicidas utilizados en el olivar para diferentes variedades y en muestras procedentes de suelo y árbol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los ensayos se realizaron en parcelas experimentales localizadas en el CIFA de Cabra, al sur de la Provincia de Córdoba (España). En la Tabla 1 aparecen las principales propiedades fisicoquímicas del suelo en las que estaba establecida cada variedad de aceituna, que resultaron muy similares en todas las variedades ya que se hayan adyacentes unas a otras.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos de ensayo.

Parcela	Textura			pH	CO	Conductividad
	Arcilla	Arena	Limo			
	%	%	%		%	$\mu\text{S cm}^{-1}$
Hojiblanca	33.9	47.2	18.9	8.18	1.20	85.6
Picual	37.0	32.9	30.1	8.45	1.14	99.6
Picudo	29.4	50.3	20.3	8.30	1.10	105.1

En estas parcelas se habían instalado ensayos de manejos de suelo para estudiar la interferencia de los mismos con la degradación de los herbicidas en diseño de bloques completos repartidos al azar sobre los que se decidió realizar al tiempo los análisis de residuos. En cada variedad de olivar, se estableció un bloque (B1, B2, B3) para cada herbicida, simazina o terbutilazina y sistema de manejo de suelo (Suelo desnudo y cubiertas vegetales en el centro de las calles segadas 1) química o 2) mecánicamente en primavera). Cada bloque esta conformado por 12 olivos con un marco de plantación de 7x7 m. Los tratamientos se efectuaron en preemergencia (principios de noviembre 2003, después de las primeras lluvias), utilizando preparaciones comerciales de los herbicidas: 4 Lha⁻¹ Agrisimazina (Simazina 50 % P/V) y 3 Lha⁻¹ Cuña (terbutilazina 50 % P/V). Se utilizó un tractor equipado con una barra de tratamiento con 5 boquillas separadas entre si por una distancia de 0.5 m. Las boquillas empleadas fueron marca Albus de abanico plano, modelo ADI 110° ISO 11002. La presión de la aplicación fue de 200 KPa y el gasto de caldo de 300 L ha⁻¹

Toma de muestras

Para el análisis de residuos se tomaron muestras de los tres bloques situados en cada variedad que habían recibido tratamiento con el mismo herbicida sin distinguir entre los sistemas de manejo del suelo, en un principio se pensó que el tipo de manejo de suelo podría tener alguna influencia, sin embargo los análisis preliminares mostraron que no se cumplía esta hipótesis, debido probablemente a que las cubiertas vegetales en medio de las calles no quedan dentro del área radicular mas influyente de los árboles, por tratarse de plantaciones jóvenes de menos de 14 años de edad. Por esto se decidió promediar los resultados independientemente del tipo de manejo de suelo establecido antes del comienzo de los ensayos. El muestreo se realizó 58 ddt. Se cosecharon muestras de aceitunas procedentes de árbol (aceituna de vuelo) y suelo separadamente. El muestreo de aceituna de vuelo se realizó homogéneamente repartido por la copa del árbol (10 aceitunas árbol). En la recolecta de aceituna de suelo se recogieron aleatoriamente las aceitunas independientemente de su estado de degradación.

Procesado de muestra y obtención de aceite

Cada muestra de aceituna se lavó con agua limpia por separado (proporción 1:1, aceituna: agua). El aceite de cada muestra se obtuvo en laboratorio, empleando el método ABENCOR que consiste en la reproducción a escala de laboratorio, del proceso industrial, y siguiendo las mismas fases: molienda, batido, centrifugación y decantación. La extracción del aceite se realizó en condiciones de trabajo de baja temperatura y con el mínimo tiempo de malaxado, para no alterar los

atributos de calidad del aceite de oliva virgen obtenido (MARTÍNEZ *et al.*, 1975). Las muestras de aceite se guardaron, a 4° C, en botellas color ámbar hasta el momento del análisis.

Análisis de residuos de herbicidas

El análisis de residuos se realizó empleando la metodología propuesta por ARAMENDÍA *et al.* (2002). Dos gramos de aceite de cada muestra se mezclaron con 2 ml de hexano, 10 ml de acetonitrilo y 25 µl de una solución de Bromophos preparada en acetonitrilo (50 mg.l⁻¹), que actúa como patrón interno. Se agitó enérgicamente durante 30 min y se dejó reposar 2 h para que se separaran las dos fases orgánicas. Se recuperó la fracción de acetonitrilo (con un contenido graso inferior al 5%), se llevó hasta casi sequedad en rotavapor a temperatura inferior a 40 °C. El “clean up” o purificación se realizó en columnas de fluorisil previamente activadas mediante la adición de 5 ml éter etílico: éter de petróleo, 4:96. El residuo seco se redisolvió con 1 ml de la misma solución y se aplicó sobre la columna. Una vez la muestra penetró en la columna, se añadieron otros 5 ml éter etílico: éter de petróleo 4:96. Se realizó una segunda elución con solución 5 ml éter etílico: éter de petróleo, 15:85, y finalmente se realizó un último lavado con 5 ml mezcla de los mismos solventes en proporción 50: 50. Todas las fracciones se recogieron en el mismo matraz y se llevaron de nuevo hasta casi sequedad en rotavapor a 40 °C. Se añadió 1 ml de ciclohexano y se analizaron por GC-MMS/MS (en los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Córdoba). Todos los reactivos empleados fueron de calidad PAR. El análisis estadístico se realizó empleando el programa estadístico Statistix 8.0 mediante análisis de varianza (test de Tukey, $\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Límite Máximo Residual (L.R.M.) establecido por la legislación española (orden 1 Abril 2002) (INFOAGRO, 2008) para los herbicidas simazina y terbutilazina en aceituna es de 100 y 500 ppb respectivamente, no existiendo legislación sobre el aceite, únicamente sobre la materia prima. Normalmente, se emplea un factor de concentración de 4.5 veces de residuos de plaguicidas en aceite respecto a aceituna considerando rendimientos grasos entre el 20 y 25 % (LAFONT, 2006), aunque los factores de concentración de cada materia activa van a depender también de su mayor o menor liposolubilidad. En la tabla 2 se muestran los resultados de los niveles residuales encontrados en las muestras de aceite para cada variedad y tratamiento así como el valor estimado en masa de aceituna. Teniendo en cuenta este factor, en ninguno de los análisis se supera dicho límite, si bien, solo se trata de una aproximación. Debemos tener también en cuenta que este límite no es un umbral toxicológico a partir del cual se produzcan daños en la salud del consumidor, sino que hace referencia a las buenas prácticas fitosanitarias.

Tabla 2: Residuos en aceite y estimación en masa de aceituna, obtenidos de las parcelas tratadas con simazina y terbutilazina en muestras procedentes de suelo y árbol.

Parcela	Simazina ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ aceite)		Simazina ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ masa aceituna)	
	Árbol	Suelo	Árbol*	Suelo*
Hojiblanca	100.1 a	1356.1 b	22.2	301.3
Picual	67.8 a	940.9 b	15.1	209.1
Picudo	143.7 a	1156.6 b	31.9	257.0
	Terbutilazina ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ aceite)		Terbutilazina ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ masa aceituna)	
	Árbol	Suelo	Árbol*	Suelo*
Hojiblanca	19.3 a	1062.6 b	4.3	236.1
Picual	49.4 a	1191.0 b	11.0	264.7
Picudo	116.4 a	1926.5 b	39.2	428.1

*Valores estimados

La Ingesta Diaria Admisible (A.D.I) sí es un parámetro de seguridad y se define como la cantidad máxima de un producto fitosanitario que las personas pueden consumir diariamente durante toda su vida sin riesgo para su salud. El valor de L.M.R. es siempre inferior al de A.D.I.

El análisis estadístico de los resultados indica que no hay diferencias significativas entre los residuos de simazina o terbutilazina encontrados en los aceites, tampoco entre hay influencias de la variedad de aceituna. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas dependiendo de la procedencia de la muestra. En aceitunas procedentes de árbol las concentraciones detectadas de ambos herbicidas son menores que la detectadas en muestras procedentes de suelo. Estos resultados coinciden por lo encontrados por otros autores (GÓMEZ DE BARREDA *et al.* 2002, ARAMENDIA, *et al.* 2005).

En el caso de simazina, las muestras procedentes de suelo superan los LRM establecidos por la legislación, en el momento de realización del ensayo (ya que en la actualidad su uso en olivar esta completamente prohibido). En muchas ocasiones se suelen mezclar ambos tipos de muestras en la elaboración de aceites, lo que contribuye a la dilución de las moléculas en el producto final, ya que por lo general el volumen de muestras de suelo será inferior al de muestras de árbol. En otras ocasiones ambos tipos de muestras se procesan por separado, pero el aceite procedente de muestras de suelo se destina normalmente hacia procesos de refinación y no se destina a consumo directo. No es por tanto de esperar encontrar niveles no permitidos de residuos en aceites, aunque debe tenerse especial precaución.

En el caso de la terbutilazina, en muestras procedentes de aceituna de suelo se obtienen valores muy cercanos al LMR, si bien, no llegan a superarlos en ninguno de las variedades, debido a que los LMR son cinco veces superiores a los de simazina.

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a niveles de residuos de los herbicidas en función de la variedad de olivar estudiado o el herbicida empleado, aunque si se encontraron diferencias en función de la procedencia de la aceituna (vuelo o suelo).

En aceitunas caídas de suelo se encontró que para simazina se superan los LMR establecidos, y aunque en el caso de terbutilazina son superiores a los de las muestras de vuelo no sobrepasan los límites permitidos por la legislación.

Se demuestra bajo estas condiciones que terbutilazina tiene un comportamiento muy similar al de simazina, que en la actualidad ya esta prohibida, por lo que debe prestarse especial interés a este herbicida.

BIBLIOGRAFÍA

- ARAMENDIA, M.A., LAFONT, F., MARIÑAS, A., MARIÑAS, J.M., MORENO J.M., PORRAS J.M. y URBANO, F.J. (2005). Determinación de herbicidas en aceite de oliva mediante CG-MS y/o HPLC-MS. www.expoliva.com/expoliva2005/simposium/comunicaciones/Tec_10.pdf
- ARAMENDIA, M. A. BORAU, V., JIMÉNEZ, C., LAFONT, F., MARINAS, A., MARINAS, J.M., MORENO, J. M., PORRAS J. M. y URBANO, F. J. (2002). Determinación de herbicidas en aceite de oliva. Jornadas de Investigación y Transferencia de Tecnología al Sector Oleícola. Ed: Dirección General de Investigación Formación Agraria y Pesquera. Consejería de agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.
- BLEVINS, R. (1986). Idoneidad del suelo para el laboreo nulo. En: Agricultura sin laboreo. Ed. Phillips y Phillips. Bellaterra S.A. Barcelona.
- GÓMEZ DE BARREDA, D., GAMON, M., DEL BUSTO, A., ÍÑIGUEZ, A., TEN, A., VALDÉS, J. M., SÁEZ, A., GARCÍA, J., SÁNCHEZ, L., PERIS, I. y DE LA CUADRA, J. G. (2002). Residuos de herbicidas en olivares y aceite de oliva virgen. Jornadas de Investigación y Transferencia de Tecnología al Sector Oleícola. Ed: Dirección General de Investigación Formación Agraria y Pesquera. Consejería de agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.

- INFOAGRO(2008): http://www.infoagro.com/cajamar/lmr_materia.asp?laMateria=333, consultado en diciembre 2008
- LAFONT, F. (2006). Comunicación personal. Servicio Central de Apoyo a la Investigación. Universidad de Córdoba.
- MARTÍNEZ-RAYA, A. (2003). Evaluación y control de la erosión hídrica en suelo Agrícola en pendiente, en clima mediterráneo. Perspectivas de la degradación del suelo. I Simposio Nacional Sobre el Control de la Erosión y Degradación del Suelo. Madrid. 109-122
- MARTINEZ, J.M., MUÑOZ, E., ALBA, J.y LANZÓN, A. (1975). Informe sobre utilización del analizador de rendimientos Abencor. Grasas y Aceites, 26, 379- 385.

Abstract: Analysis of herbicide residues in virgin olive oil for different olive varieties in tree and soil samples procedure.

The aim of this study was to assess residual levels of simazine and terbuthylazine in different olive varieties in samples taken from tree and soil. To this end, field plots were distributed randomly in blocks for each variety of olive and herbicide. The samples were collected 58 DDT and oil was obtained by the ABENCOR method. Two grams of each oil sample was mixed with 2 ml of hexane, 10 ml of acetonitrile and 25 ml of a solution Bromophos (internal standard). For the "clean up" fluorisil columns were used previously activated. Residue analysis was performed by GC-MMS/MS. Statistical analysis of results indicates no significant differences between the simazine or terbuthylazine residues found in the oils, and there is no influence of olive variety. However, significant differences were found depending on the source of the sample. In olive tree samples, detected concentrations of both herbicides are much smaller than that detected in samples from soil. The soil samples exceeded the MRL was established by legislation to simazine and they are very close to MRL for terbuthylazine, in the assay conditions studied.

Key words: olive groves, triazines, oil residues, MRL