



El Colegio de la Frontera Sur

Degradación y transporte de etilentiourea (ETU) en  
suelo y agua de una zona tropical del sureste de  
México.

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Luz Elizabeth Ruiz Suárez

2009



# El Colegio de la Frontera Sur

Villahermosa, Tabasco, 08 de junio de 2009.

Los abajo firmantes, miembros del jurado examinador del alumno Luz Elizabeth Ruiz Suárez, hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada *“Degradación y transporte de etilentiourea (ETU) en suelo y agua de una zona tropical del sureste de México.”* para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural.

	Nombre	Firma
Tutor	Violette Geissen	_____
Asesor	Ricardo Bello Mendoza	_____
Asesor	Aarón Jarquín Sánchez	_____
Sinodal adicional	Ricardo A. Castro Chan	_____
Sinodal suplente	Manuel Mendoza Carranza	_____

## *Dedicatoria*

*A Luz María y a mi sobrino Paris*

*Mamá, todos tus esfuerzos y tu dedicación  
no han sido en vano.*

*Payi, rayito de luz que da alegría a nuestras vidas.*

## **Agradecimientos**

A Dios, porque Tú eres el dador de todas las cosas y por recordarme que unas de las repuesta a nuestras peticiones es “todavía, espera”. Gracias por quedarte cerca de mí.

A El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Villahermosa por darme la oportunidad realizar mis estudios de posgrado y, a la Unidad Tapachula por acogerme un tiempo para terminar la tesis.

Al CONACYT, por haberme otorgado una beca para la realización de los estudios de maestría.

A FOMIX por brindarnos una beca durante el tercer año para terminar la tesis de la maestría.

A la Dra. Violette Geissen, directora de esta tesis, por hacerme participe de su equipo de trabajo en los proyectos y, alentarme efectuar estos estudios. Creo que tus valiosos comentarios y ánimos durante la tesis pero principalmente, el apoyo anímico que me reconforto en el momento preciso, lo que hizo que pudiera continuar con este trabajo.

Al Dr. Ricardo Bello, no encuentro las palabras para decirte lo agradecida que estoy contigo, creo que podría resumirlo diciendo que fuiste clave para concluir con esta tesis, seguiste de cerca mi trabajo a pesar de estar lejos, me recibiste en tu laboratorio y, algo que no quiero dejar de mencionar es tu apoyo mediante una beca en los primeros meses de este año.

Al M. en C. Aarón Jarquín, que más que ser mi asesor, se portó como un amigo. Gracias Aarón tanto por todos tus comentarios para esta tesis durante estos tres años, como por tu apoyo económico para realizar este trabajo.

Al M. en C. Ricardo Castro, por compartir sus conocimientos de cromatografía conmigo y por las horas extras que trabajó para esta tesis, en el laboratorio.

A Yadira Ramos, por su invaluable ayuda en trámites administrativos y académicos durante la maestría.

A Karina, Rubén, David, Sergio integrantes del equipo de laboratorio de Microbiología Ambiental de ECOSUR Tapachula, por su apoyo técnico y científico en la tesis, durante mi estancia en Tapachula.

A mis hermanas Irma Aydeé, Shandy, Martha y mi cuñadito Joel por acompañarme y ayudarme los sábados en la parte experimental de la tesis y por las porras. A mi hermano Christian y a mí cuñado Natividad por infundirme ánimo.

A Aldo, Dorian, Franklin Martha, Lalo, Cesar por ayudarme, acompañarme, animarme, esperarme durante la realización de esta tesis en Tapachula.

A mis compañeros de generación Pilar, Jaime, Wilbert, Mirian, Isidro, Martha por la convivencia durante la maestría.

A todas las personas que en general contribuyeron en la realización de esta tesis.

## ÍNDICE

Índice de figuras .....	iii
Índice de cuadros .....	iv
Resumen .....	v
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo general.....	8
2.2 Objetivos específicos .....	8
3. HIPÓTESIS.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
4.1 Procesamiento y caracterización física y química del suelo y agua.....	10
4.2 Material químico usado en los experimentos .....	10
4.3.1 Degradación de ETU en suelo.....	11
4.3.2 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en suelo ....	11
4.3.3 Degradación de ETU en agua .....	13
4.3.4 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en agua .....	13
4.3.5 Lixiviación y movimiento de ETU en suelo.....	14
4.3.6 Efecto de mancozeb y ETU a partir de mancozeb en la respiración del suelo .....	14
4.4 Extracción de ETU de las muestras para el análisis .....	17
4.4.1 Extracción de ETU de las muestras de suelo .....	17
4.4.2 Extracción de ETU de las muestras de agua.....	17
4.5 Análisis de ETU .....	18
4.6 Validación del método de análisis de ETU.....	18

4.6.1 Preparación de curva de calibración en matriz suelo.....	18
4.6.2 Preparación de curva de calibración en matriz agua .....	19
4.6.3 Determinación de la tasa de recuperación de ETU.....	19
4.6.4 Determinación del Límite de Detección (DL) y Límite de Cuantificación (CL) .....	19
4.7 Análisis de datos.....	20
4.7.1 Cinética de la velocidad de degradación y vida media ( $t_{1/2}$ ) de ETU..	21
4.7.2 Tasa de formación de CO <sub>2</sub> en suelo .....	21
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	22
5.1 Validación del método de análisis de ETU.....	22
5.2 Características físicas y químicas del suelo .....	24
5.3 Monitoreo de ETU en suelo y agua.....	25
5.3.1 Degradación de ETU en suelo.....	25
5.3.2 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en suelo ....	28
5.3.3 Degradación de ETU en agua .....	30
5.3.4 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb, en agua .....	32
5.3.5 Lixiviación y movimiento de ETU a partir de mancozeb.....	24
5.4 Efecto de mancozeb y ETU a partir de mancozeb en la producción de CO <sub>2</sub> .....	36
6. CONCLUSIONES .....	38
7. LITERATURA CITADA .....	40
8. ANEXOS.....	46

## Índice de Figura

<b>Figura 1.</b> a) Destino ambiental de mancozeb (Xu 2000a), b) Destino ambiental de ETU (Xu 2000b).....	4
<b>Figura 2.</b> Iones utilizados para cualificación y evaluación de la transición de ETU.....	23
<b>Figura 3.</b> Tiempo de retención de ETU.....	23
<b>Figura 4.</b> Degradación de ETU en suelo ( $n=3$ ) DS.....	27
<b>Figura 5.</b> Formación y degradación de ETU en suelo ( $n=4$ ). Valores con medias $\pm$ D.S. * $P < 0.05$ .....	28
<b>Figura 6.</b> Degradación de ETU en agua ( $n=3$ ).....	31
<b>Figura 7.</b> Formación y degradación de ETU en agua ( $n=4$ ). Valores con medias $\pm$ D.S. * $P < 0.05$ .....	32
<b>Figura 8.</b> Tasa de producción de $CO_2$ en el suelo ( $n=3$ ).....	37



## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos del ensayo de respiración del suelo.....	15
<b>Cuadro 2.</b> Relación entre el Límite de Detección y Límite de Cuantificación.....	20
<b>Cuadro 3.</b> Validación del método analítico.....	23
<b>Cuadro 4.</b> Características físicas y químicas del suelo.....	25
<b>Cuadro 5.</b> Cinética de velocidad de degradación de ETU en suelo y agua simulando condiciones de campo.....	27

## Resumen

En la zona del trópico de México, se usan productos principalmente a base del ingrediente activo mancozeb, para el control de Sigatoka negra, en el cultivo del banano. Se hacen aproximadamente 52 aplicaciones anuales, usando una dosis de  $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$ . Uno de los productos de degradación del mancozeb es el etilentiourea (ETU), el cual es considerado como un posible contaminante ambiental. Con el objetivo de conocer la persistencia, movilidad y efecto de etilentiourea (ETU), se hicieron ensayos en suelo y agua, simulando condiciones de una zona tropical. Se encontró que  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  de ETU en suelo activo, tuvo una vida media de 1.5 h y que fue degradado totalmente en menos de 24 h. El contenido inicial de ETU producido de mancozeb ( $20.8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en suelo activo, estuvo por debajo del límite de detección ( $0.006 \text{ mg L}^{-1}$ ) en la 120 h, al degradarse principalmente por vía biológica. Por otro lado, no hubo diferencia significativa en la degradación de la concentración inicial de  $2.38 \text{ mg L}^{-1}$  de ETU, en agua activa y estéril, la vida media fue 115.52 y 99.02 h, respectivamente. Lo anterior indica que la principal vía de degradación de ETU en agua fue la hidrólisis, la cual no ha sido reportada anteriormente como vía principal de degradación. Al hacer el estudio del movimiento de ETU en suelo, el metabolito no fue detectado en el suelo y ni en el lixiviado, debido a que tuvo un efecto de dilución en el suelo. El mancozeb y el ETU no tuvieron efecto en la respiración del suelo al tener una tasa de producción de  $\text{CO}_2$  de 46.99 y  $47.21 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en suelo activo con y sin mancozeb, respectivamente. Los resultados indican que bajo condiciones de una zona tropical, ETU a partir de mancozeb no representa riesgo de acumulación en suelo

ni en aguas subterráneas, mientras que para los acuíferos el metabolito podría representar un riesgo de contaminación.

Palabras claves: ETU, mancozeb, degradación, vida media, lixiviación, agua, suelo.

## 1. INTRODUCCIÓN

El plátano y banano (*Musa* spp.) son considerados entre los cultivos más importantes en el mundo; en total, estos constituyen el cuarto producto alimenticio en importancia a nivel global, en términos del PIB (CGIAR 1993). En México, estos productos ocupan el segundo lugar en importancia económica entre los frutales que a nivel comercial se cultivan (Vázquez et al. 2005), generando 3,000,000,000 de pesos al año y más de 200,000 de jornales en los estados productores de Tabasco, Colima, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Puebla, Oaxaca y Veracruz (SAGARPA 2006).

Una de las enfermedades que más afecta la producción comercial de bananos y plátanos en la mayoría de las regiones productoras del mundo es la Sigatoka negra, causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. (Fullerton y Stover 1990; Mourichon y Fullerton 1990; Fullerton 1994; Gómez et al. 2004). Esta enfermedad ataca directamente las hojas del plátano y, se caracteriza por la presencia de un gran número de rayas y manchas, más notorias por debajo de las hojas, lo que provoca lesiones que aceleran el proceso de secamiento y muerte de la superficie foliar. Estos daños conducen a una reducción del rendimiento, a la maduración prematura de los frutos y a la producción de racimos de mala calidad (Mourichon et al. 1997; Rosales et al. 2004). La Sigatoka negra se identificó por primera vez en el sureste de México en 1981, en los estados de Chiapas y Tabasco (Contreras 1983).

Según Orozco-Santos (1998), en las regiones plataneras del país, el combate químico de la enfermedad se realizaba, hasta 1995, mediante el uso de

fungicidas de acción sistémica del grupo de los triazoles (tebuconazole, propeconazol, bitertanol y hexaconazol), pirimidinas (fenarimol), benzimidazoles (benomyl, carbendazim y metil-tiafanato) y morfolinas (tridemorph). Después se incorporó el grupo químico de las estrobilurinas (azoxistrobin) y otros triazoles (fenbuconazole). A partir de 1995, los fungicidas de la familia de los etilenbisditiocarbamatos (EBCD), como mancozeb, maneb y zineb, han sido claves en los programas de control de la Sigatoka negra. En las zonas de producción de banano del sureste del país, se usan productos principalmente a base del ingrediente activo de mancozeb, con aproximadamente 52 aplicaciones anuales, usando una dosis de  $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$  (Melgar et al. 1998).

El mancozeb es un polímero complejo que contiene 20% de manganeso y 2.5% de zinc (EPA 2005) (Fig. 1). Presenta un amplio espectro antifúngico frente a hongos endoparásitos causantes de enfermedades foliares (Bayoumi et al. 2002). En algunos estudios mancozeb ha sido reportado como prácticamente no tóxico por vía oral con un  $DL_{50}$  de 5,000 a 11,200  $\text{mg kg}^{-1}$  en ratas (Edwards et al. 1991; Kidd et al. 1991). Sin embargo, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos ha reportado un  $DL_{50}$  de 10,000  $\text{mg kg}^{-1}$  en ratas y 5,000  $\text{mg kg}^{-1}$  en conejos por vía dérmica (USEPA 1987). Así mismo, ha clasificado a este fungicida dentro de la categoría toxicológica III, moderadamente tóxico, y dentro del grupo B2, probable cancerígeno humano y causante de alteraciones en la tiroides (EPA 2005).

El mancozeb es de baja persistencia en suelo y tiene un factor de adsorción ( $K_d$ ) en suelo de textura franco arenosa, franco limoso y franco arcillosa de 9.98  $\text{mL g}^{-1}$ , 7.26  $\text{mL g}^{-1}$  y 10.13  $\text{mL g}^{-1}$ , respectivamente (R&H Company 1987).

Además, tiene una solubilidad en agua de 6-20 mg L<sup>-1</sup> a 25°C (Heller y Herner 1990; Kidd y James 1991; IAO 1997).

Uno de los principales productos de degradación del mancozeb, y en general de la familia de los EBCD, es el metabolito etilentiourea (ETU) (Engst y Schnaak 1974) (Fig.1), el cual es producido bajo condiciones de alta humedad y temperatura (Marshall 1977; IUPAC 1977). ETU es un conocido agente mutagénico, teratógeno y cancerígeno, así como antitiroideo (Hedenstedt et al. 1979; Frakes 1988; Padgett et al. 1992). La Comisión Europea (1995) reportó un DL<sub>50</sub> de > 5000 mg kg<sup>-1</sup> en rata; así mismo reporta un CL<sub>50</sub> de >1000 mg kg<sup>-1</sup> y CL<sub>50</sub> de > 490 mg L<sup>-1</sup> en lombrices y peces, respectivamente.

La solubilidad en agua de ETU es de 20,000 mg L<sup>-1</sup> a 30°C, 90,000 mg L<sup>-1</sup> a 60°C y de 440, 000 mg L<sup>-1</sup> a 90°C (Merck 1996), en tanto que tiene una adsorción (K<sub>d</sub>) de 0.76 mL g<sup>-1</sup>, 1.13 mL g<sup>-1</sup> y 0.51 mL g<sup>-1</sup> en suelo de textura franco arenosa, franco limoso y franco arcillosa respectivamente (R&H Company 1987).

En el ambiente ETU puede seguir varias rutas de degradación, tanto en agua como en suelo (Fig. 1). ETU no es el producto final de degradación de los fungicidas EBDC (IUPAC 1977) (Fig. 1). Sin embargo, es considerado como un compuesto relativamente estable y polar, dos características que hacen a este metabolito un contaminante potencial para el agua subterránea (Jacobsen y Bossi 1997).

Se ha realizado una considerable cantidad de trabajos sobre el comportamiento ambiental de ETU en agua y suelo, para conocer su persistencia en el ambiente bajo diferentes condiciones.

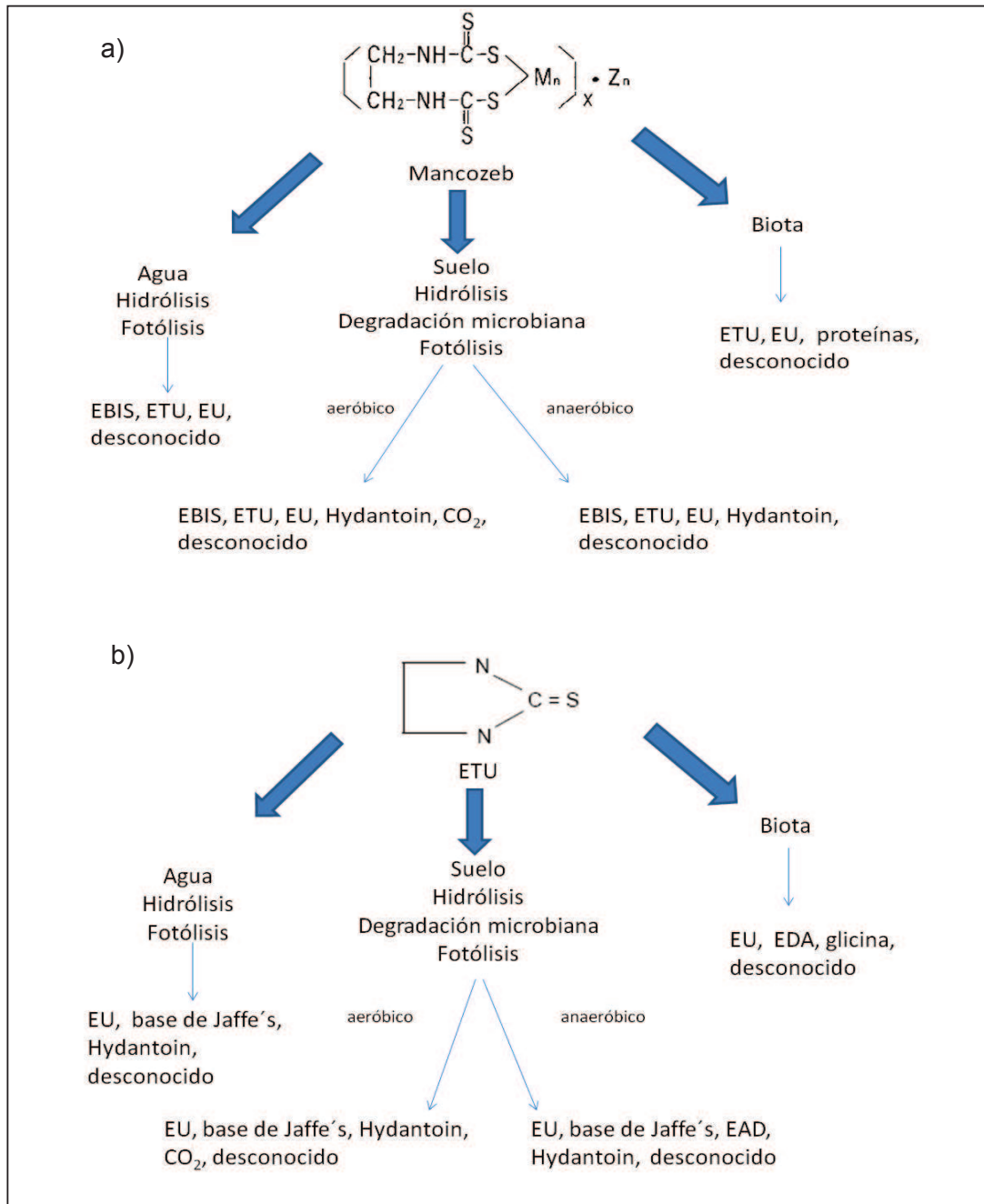


Figura 1. a) Destino ambiental de mancozeb (Xu 2000a), b) Destino ambiental de ETU (Xu 2000b).

Blazquez (1973), en un estudio en agua, bajo condiciones de laboratorio (25°C) encontró que solamente el 50% de la dosis inicial de ETU queda después de un día, y nada después de 21 días.

Crucickshank y Jarrow (1973) reportaron que en una solución que contenía una concentración inicial de 1% de ETU, el metabolito fue persistente a hidrólisis durante 3 meses a una temperatura de 90°C y diferentes condiciones de pH (5, 7 y 9).

Por otro lado, Ross y Crosby (1973) encontraron que 0.64 mg kg<sup>-1</sup> de ETU fue degradado lentamente en agua desionizada pero en presencia de acetona (fotosensibilizador) y en condiciones de luz natural y artificial, el 95% de la dosis inicial fue degradado aproximadamente a las 4 horas. Así mismo, menos del 5% de las concentraciones de 10 y 25 mg kg<sup>-1</sup> de ETU fueron detectadas después del cuarto día con el uso de la riboflavina como fotosensibilizador y en condiciones de luz natural. También reportaron que etileneurea (EU) y sulfato de glicina son productos de degradación de ETU.

En suelo, Kaufman y Fletcher (1973) reportaron que 2, 20 y 200 mg kg<sup>-1</sup> de ETU fueron totalmente degradados y principalmente convertidos a EU en un plazo de 2 días para un suelo arenoso, 2 días para un suelo arcilloso y 8 días en un suelo rico en materia orgánica.

Rhodes (1977) hizo un estudio en un suelo de textura franco limosa, bajo condiciones de campo de un clima templado (Delaware, EUA), en donde se aplicó 1.82 mg kg<sup>-1</sup> de ETU, basado en la dosis de 2.24 kg de ingrediente activo de maneb ha<sup>-1</sup>; bajo estas condiciones se observó que ETU tuvo una vida media de menos de 4 semanas.



Nash y Beall (1980) observaron una vida media de 3 días, en un suelo con pH 6.7 y 5.2 g de materia orgánica (MO) 100 g<sup>-1</sup> suelo. Mientras que, Hanumantharaju y Awasthi (2003) al realizar un estudio en suelo de textura arenosa, con concentración de 20 mg kg<sup>-1</sup> y 10 mg kg<sup>-1</sup> de mancozeb y, bajo condiciones de laboratorio, detectaron cantidades apreciables de ETU (0.87 mg kg<sup>-1</sup> y 0.52 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente) después de cinco días y, el contenido máximo de ETU después de los 30 días de la aplicación del fungicida.

Por otro lado, Calumpang et al. (1993) investigaron el movimiento de ETU al aplicar 1.59 mg kg<sup>-1</sup> de mancozeb (Dithane M-45), en un suelo de textura franco arcillo limoso (2.73 g MO 100 g<sup>-1</sup>, pH 6.87); con una precipitación total de 31.1 mm hasta el día 21. Los resultados mostraron que ETU se lixivió a una profundidad máxima de 8 cm, después de los 14 días de la aplicación de Dithane M-45, y que se redujo un 78% a los 3 días de la aplicación del fungicida. La vida media de ETU en este ensayo fue reportada en 2.5 días.

También se tienen reportes en los que se menciona que ETU puede persistir de 5 a 10 (Wauchope et al. 1992 *in* DFID NRSP 2003) y 52 semanas (Rhodes 1977).

De acuerdo con los estudios anteriores, el tiempo de degradación y vida media de ETU en los compartimentos del ambiente (agua y suelo) han sido reportados desde 2 h (Comisión Europea 1995) hasta 52 semanas (Rhodes 1977). La variación se debe principalmente a las diferentes condiciones bajo las que se realizaron los estudios, las cuales no se describen totalmente; esto hace que no sea posible usar los reportes anteriores de degradación de ETU para

extrapolarlos a ambientes con condiciones semejantes, con el fin de conocer la persistencia y acumulación de esta molécula.

De igual manera, pocos son los trabajos que se han realizado en México sobre el comportamiento ambiental de ETU, a pesar de que hay zonas productoras en las que se hace uso intensivo de los fungicidas de la familia de los EBCD, principalmente para el control de Sigatoka negra, y pese a que las características ambientales son favorables para la formación de ETU, debido a estas razones, se realizó este estudio.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Estimar la persistencia de ETU en suelo y agua, así como su movimiento en suelo y su efecto en la respiración del suelo, bajo condiciones tropicales.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Estimar la tasa de degradación y la vida media de ETU estándar en suelo.
2. Estudiar el tiempo de formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en suelo.
3. Estimar la tasa de degradación y vida media de ETU estándar en agua.
4. Estudiar el tiempo de formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en agua.
5. Determinar la lixiviación de ETU simulando temporada de lluvias.
6. Determinar el efecto de mancozeb y de ETU a partir de mancozeb, en la respiración del suelo.

### 3. HIPÓTESIS

1. Bajo condiciones de una zona tropical, ETU no se acumula en el suelo, al ser degradado principalmente por los microorganismos.
2. Bajo condiciones de una zona tropical, ETU representa un riesgo de contaminación por acumulación para el agua, por su degradación lenta.
3. La lixiviación de ETU es lenta en suelos de textura arcillosa al simular una temporada de lluvias de una zona tropical, lo que produce acumulación del mismo.
4. La dosis de campo ( $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$ ) de mancozeb y ETU producido por este, afectan significativamente la tasa de respiración del suelo.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Procesamiento y caracterización física y química del suelo y agua**

Las matrices utilizadas en los ensayos fueron agua y suelo. El agua fue tomada del Rio Coatán y el suelo de una finca de banano, ambos en Tapachula, Chiapas.

El agua fue filtrada usando papel Whatman # 41, para eliminar partículas que pudieran obstruir la columna del equipo de cromatografía, que se usó en el análisis de ETU.

Para los ensayos en lo que usó agua estéril, esta se esterilizó en autoclave a una temperatura de 120°C, a 1.5 kg cm<sup>-2</sup> de presión, durante 20 minutos.

El suelo se secó a temperatura ambiente bajo sombra y fue molido hasta obtener una partícula de 2 mm de diámetro.

Las características físicas y químicas del suelo que se analizaron fueron: pH (H<sub>2</sub>O), MO y textura, estas fueron determinadas e interpretadas en base a la Norma Oficial NOM-021-RECNAT-2000 (SEMARNAT 2000).

Para los ensayos en lo que se usó suelo estéril, este fue sometido al proceso de tinalización, a una temperatura de 120°C, a 1.5 kg cm<sup>-2</sup> de presión, durante una hora, incubando el suelo después de cada esterilización por 24 horas. El proceso se realizó por tres días continuos.

### **4.2 Material químico usado en los experimentos**

El fungicida utilizado para los ensayos fue una fórmula comercial (Raksha ®), adquirido de United Phosphorus de México, S.A. de C.V., que contenía 80% de mancozeb y 20% de ingrediente inerte.

El estándar de ETU que se usó para los ensayos fue 2-Imidazolidinethion PESTANAL®, éste fue adquirido de Sigma Aldrich de México.

### **4.3 Diseño experimental**

#### **4.3.1 Degradación de ETU en suelo**

Este ensayo se desarrolló en base a la norma 307 de la OECD (2004a). El ensayo tuvo dos tratamientos: uno, suelo activo con estándar de ETU (DSAE) y el otro, suelo estéril con estándar de ETU (DSEE). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La concentración que se aplicó a los tratamientos fue 1 mg de estándar de ETU kg<sup>-1</sup> de suelo seco. Este contenido es similar a los usados en otros estudios (Rhodes 1977; Miles y Doerge 1991).

Para cada tratamiento se pesaron 150 g de suelo y se colocaron en vasos de precipitado de 250 mL. A cada vaso se les agregó con una pipeta el ETU en 10 mL de agua destilada y se mezcló durante 5 minutos. Para el tratamiento DSAE, el suelo se humedeció al 50% de su capacidad de campo, tres días antes de iniciar el ensayo, esto con el fin de activar los microorganismos. En el caso del tratamiento DSEE, el suelo se humedeció en el primer día del ensayo.

La humedad fue mantenida durante todo el ensayo ajustándola cada dos días por diferencia de peso. Además, se colocó una gasa en la boca del vaso para evitar pérdidas de humedad. Los vasos de precipitado se incubaron a temperatura de 29±1°C y en oscuridad.

Para la determinación de ETU se tomaron 10 g de suelo a las 2, 12, 24, 48 y 120 horas. Las muestras obtenidas fueron analizadas inmediatamente ya que de esta forma la extracción es óptima al reducir la pérdida (Dierksmeier 2001).

#### **4.3.2 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb, en suelo**

Este ensayo se desarrolló en base a la norma 307 de OECD (2004a). El ensayo tuvo dos tratamientos: uno, suelo activo con mancozeb (DSAM) y el otro, suelo estéril con mancozeb (DSEM). Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones.

La concentración que se aplicó a los tratamientos fue de 20.83 mg de mancozeb  $\text{kg}^{-1}$  de suelo seco, ajustando la dosis usada de campo ( $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$ ), en la que se tomo en cuenta una distribución de mancozeb de 1 cm profundidad de suelo en campo.

En cada tratamiento se pesó 150 g de suelo, los cuales se colocaron en vasos de precipitado de 250 mL. El mancozeb fue agregado con una pipeta y se mezcló con el suelo durante 5 minutos. Para el tratamiento DSAM, el suelo se humedeció al 50 % de su capacidad de campo, tres días antes de iniciar el ensayo, esto con el fin de activar los microorganismos. En el caso del tratamiento DSEM, el suelo se humedeció en el primer día del ensayo.

La humedad fue mantenida durante el ensayo en ambos tratamientos, ajustándola cada dos días por diferencia de peso. Además, se colocó una gasa en la boca del vaso para evitar pérdidas de humedad. Los vasos de precipitado se incubaron a temperatura constante de  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ , en condiciones de oscuridad.

Para el análisis de ETU se tomaron 10 g de suelo a las 2, 12, 24, 48 y 120 horas. Las muestras obtenidas fueron analizadas inmediatamente, ya que de esta forma la extracción es óptima al reducir posibles pérdidas (Dierksmeier 2001).

### **4.3.3 Degradación de ETU en agua**

Este experimento se desarrolló de acuerdo a la norma 309 de la OECD (2004b). El ensayo tuvo dos tratamientos: uno, agua activa con estándar de ETU (DAAE) y el otro, agua estéril con estándar ETU (DAEE). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La concentración usada fue 2.38 mg de estándar de ETU L<sup>-1</sup>. Esta concentración se usó basada en un ensayo preliminar, en el que se monitorearon las concentraciones de ETU después de aplicar mancozeb.

Se colocaron 100 mL de agua en frascos ámbar, los cuales se incubaron en oscuridad a una temperatura de 25°C. Las muestras para el análisis de ETU se tomaron a las 2, 10, 18, 30, 50, 98, 122, 146 170 y 194 horas. El análisis de ETU se llevó a cabo inmediatamente después del muestreo para evitar pérdidas.

### **4.3.4 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en agua**

Este experimento se desarrolló de acuerdo a la norma 309 de la OECD (2004b). El ensayo tuvo dos tratamientos: uno, agua activa con mancozeb (DAAM) y el otro, agua estéril con mancozeb (DAEM). Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. La concentración usada fue 20.38 mg de mancozeb L<sup>-1</sup> de agua. Esta concentración se usó en este ensayo, basada en el supuesto de que en campo pudiera darse el peor escenario, es decir, que toda la concentración de mancozeb llegará directamente al compartimento agua.

Se colocaron 100 mL de agua en frascos ámbar, los cuales se incubaron en oscuridad a una temperatura de 25°C. Las muestras para el análisis de ETU se tomaron a las 2, 10, 18, 30, 50, 98, 122, 146 170 y 194 horas. El análisis se hizo inmediatamente después del muestreo para evitar la pérdida de ETU.



#### **4.3.5 Lixiviación y movimiento de ETU en suelo**

Este experimento se desarrolló de acuerdo a la norma 312 de la OECD (2004c). El ensayo tuvo un tratamiento, suelo con mancozeb (LCM), y un testigo, suelo sin mancozeb (LSM), ambos con cuatro repeticiones.

En tubos de PVC de 15.24 cm de diámetro y 30 cm de longitud se colocó suelo disturbado, este se saturó con agua (Anexo I). Para observar la lixiviación y movimiento del ETU en el suelo de una zona tropical se simuló la temporada de lluvias tropicales, empleando una precipitación de 10.42 mm diariamente durante el ensayo; esta fue calculada en base a la precipitación de la temporada de lluvia del año 2004 al 2008 de Tapachula, Chiapas. La información fue proporcionada por la oficina regional en Tapachula de la Comisión Nacional del Agua.

Se aplicó 0.0062 g de mancozeb a 6.03 kg de suelo. Esta cantidad de mancozeb fue basada en la dosis usada en campo ( $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$ ). El mancozeb, se aplicó una vez por semana, durante tres semanas. El ensayo se mantuvo en condiciones de luz natural, a una temperatura de  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Los lixiviados se tomaron cada 3 días durante todo el ensayo. En la semana 3 se muestrearon las columnas de 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm. Las muestras de suelo se almacenaron a  $-20^\circ\text{C}$  hasta el análisis para evitar pérdidas del metabolito (FAO 1997).

#### **4.3.6 Efecto de mancozeb y ETU a partir de mancozeb en la respiración del suelo**

La respiración del suelo fue determinada de manera indirecta mediante la producción de  $\text{CO}_2$ . Esta se midió siguiendo la metodología propuesta por

Isermeyer (1952), en la cual el CO<sub>2</sub> liberado durante la respiración aeróbica en suelos es adsorbido en una solución alcalina (NaOH) y medida como un índice de la tasa de respiración. En este ensayo se tuvieron tres tratamientos, uno de los tratamientos fue usado como testigo, cada uno con cuatro repeticiones (Cuadro 1).

Se colocaron 50 g de suelo en frascos de polietileno de 250 mL. Tres días antes de dar inicio al ensayo los suelos de los tratamientos CMA y SMA se humedecieron al 40% de su capacidad de campo para activar a los microorganismos. Esta humedad se mantuvo durante todo el ensayo ajustándola cada dos días por diferencia de peso con agua estéril.

La concentración usada de mancozeb fue de 20.83 mg kg<sup>-1</sup> de suelo seco, basada en la dosis usada en campo (2.5 kg ha<sup>-1</sup>).

En frascos de 50 mL se colocaron 20 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M, estos frascos fueron introducidos en los frascos de 250 mL en posición vertical sin que tocaran directamente la superficie del suelo (Anexo II).

Cuadro 1. Tratamientos del ensayo de respiración del suelo

Tratamiento	Clave
Suelo con mancozeb activo	CMA
Suelo sin mancozeb activo	SMA
Testigo	
Suelo con mancozeb estéril	CME

Los frascos fueron cerrados herméticamente y se incubaron a  $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ . El ensayo tuvo una duración de 7 días, sin embargo los frascos fueron destapados diariamente y dejados abiertos durante 30 minutos a fin de renovar la atmosfera de aire contenida en el frasco y evitar así anaerobiosis.

La medición de  $\text{CO}_2$  se hizo cada 24 horas los primeros 3 días y cada 48 horas los siguientes días. Se usaron tres frascos sin suelo para evitar la sobreestimación por el  $\text{CO}_2$  ambiental. La estimación de  $\text{CO}_2$  se hizo por titulación potenciométrica. El carbonato se precipitó con solución de cloruro de bario ( $\text{BaCl}_2$ ) 0.5 M y el exceso de NaOH se titulo usando ácido clorhídrico (HCl) 0.5 M. La concentración real de la solución de HCl, fue valorada cada vez que se estimó  $\text{CO}_2$ .

Para el cálculo de los resultados se uso la siguiente ecuación:

$$\text{CO}_2 \text{ desprendido} = \frac{(B - S) * M * \text{PM CO}_2 * 1000}{\text{SH} * \text{BS} * T} = \text{mg CO}_2 \text{ kg suelo}^{-1} \text{ día}^{-1}$$

Donde:

B= Volumen de HCl empleado en la valoración de los blancos (mL)

S= Volumen de HCl empleado en la valoración de las muestras de suelo (mL)

M= Molaridad real del HCl utilizado en la valoración ( $\text{mol L}^{-1}$ )

PM  $\text{CO}_2$ = peso molecular del  $\text{CO}_2$  ( $\text{g mol}^{-1}$ )

SH= Peso del suelo húmedo (Kg)

BS= Base seca del suelo (Kg)

1 T= Tiempo (día)

#### **4.4 Extracción de ETU de las muestras para el análisis**

##### **4.4.1 Extracción de ETU de las muestras de suelo**

Se pesó  $10 \pm 0.05$  g de la muestra de suelo y se colocó en un vaso de precipitado de 80 mL, se adicionó 20 mL de una solución metanol-agua (50:50 v/v) y se licuó a alta velocidad por 2 min. Después se filtró al vacío con un embudo Buchner sobre papel filtro (Whatman # 41) adherido con agua-metanol, el embudo se colocó en un matraz Kitasato de 100 mL. Con 5 mL de la mezcla metanol-agua se lavó el vaso en donde fue licuado el suelo y se usó 5 mL más de agua-metanol para lavar el papel filtro; el filtrado se aforó a 50 mL con agua destilada, esto fue mezclado en un Vortex durante 1 minuto, posteriormente se tomaron 8 mL de la muestra, los cuales se colocaron en un vial. A estos, se agregó 2 mL de Hexano y se agitó durante 1 minuto en Vortex. A continuación, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos y se tomó 1.5 mL de la muestra, teniendo cuidado de tomar de la parte intermedia del vial; finalmente la muestra fue inyectada inmediatamente al equipo de cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas/masas (LC/MS/MS).

##### **4.4.2 Extracción de ETU de las muestras de agua**

Antes de tomar las muestras las botellas fueron agitadas en un Vortex durante 30 segundos para homogeneizar su contenido. A continuación, se tomó 1 mL de la muestra y se colocó en viales, posteriormente se les agregó 0.5 mL de Hexano, se agitaron durante 1 minuto en Vortex y finalmente, la muestra fue inyectada al LC/MS/MS.

#### **4.5 Análisis de ETU**

El análisis del contenido de ETU en suelo y agua se realizó en el laboratorio de Biotecnología Ambiental y Agroecológica de El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Tapachula.

Para ello, se utilizó un equipo de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas/masas (LC/MS/MS) de triple cuadrupolo (QQQ), marca Agilent, modelo 6410B, debido a que este tiene una mayor facilidad para analizar compuestos polares y de baja volatilidad y por qué se tiene la posibilidad de realizar el análisis directo de las muestras (cuando la sensibilidad requerida lo permite) evitando así las pérdidas derivadas del proceso de extracción. La columna que se uso fue una ZORBAC C18 (250 X 4.6 mm y 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula). El solvente de arrastre fue agua. El análisis se hizo mediante ionización química de presión atmosférica, el modo de ionización fue positivo (APCI positivo), en monitoreo de reacciones múltiples (MRM).

#### **4.6 Validación del método de análisis de ETU**

##### **4.6.1 Preparación de curva de calibración en matriz suelo**

Se preparó una solución madre de ETU estándar con una concentración de  $50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  en metanol, de esta solución fueron tomadas las alícuotas para la curva de calibración. El patrón de dilución fue 1:2. Los puntos de la curva de calibración fueron 1.0, 0.5, 0.25,  $0.125 \text{ mg kg}^{-1}$ , además se preparó un blanco, estos fueron preparados con metanol, aforando a 10 mL. Cada uno de los puntos de la curva fue tratado como una muestra de suelo.

Debido a la inestabilidad de ETU, con cada lote de muestras de se corrió un estándar ( $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

#### **4.6.2 Preparación de curva de calibración en matriz agua**

Se preparó una solución madre de ETU estándar con una concentración de  $50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  en metanol, de esta solución fueron tomadas las alícuotas para la curva de calibración. El patrón de dilución que se siguió fue 1:5:2, por lo tanto los puntos de la curva de calibración fueron  $5.0, 2.5, 0.5, 0.25, 0.05 \text{ mg L}^{-1}$ . Alternó a esto se preparó un blanco; las concentraciones de cada punto fueron preparadas con agua destilada, aforadas a  $10 \text{ mL}$  y finalmente inyectadas al LC/MS/MS.

Debido a la inestabilidad de ETU, con cada lote de muestras de se corrió un estándar ( $0.5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ).

#### **4.6.3 Determinación de la tasa de recuperación de ETU**

Se hicieron pruebas para evaluar la eficiencia de la extracción del analito, en donde se prepararon concentraciones de  $50, 25, 10, 5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  y un blanco, en el suelo; se analizaron según la metodología descrita en el párrafo 4.4.1. La recuperación (eficiencia de la extracción) se calculó mediante la comparación de las relaciones de área de las muestras extraídas y las de los estándares.

#### **4.6.4 Determinación del Límite de Detección (DL) y Límite de Cuantificación (CL)**

Los límites de cuantificación y detección fueron determinados según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC 1975), en donde al Límite de Detección lo define como la concentración del elemento que produce un cociente

de la señal/ruido de 3. Así, el límite de detección considera la amplitud de la señal y el ruido de la línea de fondo, además la concentración más baja que se puede distinguir claramente a partir del cero (Cuadro 2).

Mientras que al Límite de Cuantificación lo define como la cantidad más pequeña de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el instrumento. Generalmente se acuerda la cuantificación como la señal para una concentración igual a 10 veces la desviación estándar del blanco (Cuadro 2).

Para determinar ambos límites, la matriz suelo fue preparada con la metodología de extracción de ETU en las muestras de suelo (párrafo 4.4.1).

Cuadro 2. Relación entre el Límite de Detección y Límite de Cuantificación

	Desviación estándar absoluta	Desviación estándar relativa
Límite de Detección	3 $\sigma$	33%
Límite de Cuantificación	10 $\sigma$	10%

#### 4.7 Análisis de datos

Se hicieron análisis para corroborar los supuestos de Normalidad y Homocedasticidad que se exigen para realizar un Análisis de Varianza, debido a que los datos no cumplieron con dichos supuesto, se procedió a analizarlos mediante la prueba de Mann Whitney con un nivel de confiabilidad del 95% ( $p < 0.005$ ) para ver diferencias significativas entre la degradación de ETU en suelo activo y estéril, la degradación de ETU en agua activa y estéril, y la producción de

CO<sub>2</sub> en suelo. Las herramientas utilizadas para estos análisis fueron STATISTICA 7.0 y Sigma Plot 10.0 Graph.

#### 4.7.1 Cinética de la velocidad de degradación y vida media (t<sub>1/2</sub>) de ETU

Para determinar la velocidad de degradación de ETU, la cinética de degradación se ajustó a una ecuación de primer orden.

$$k(t) = \frac{-\ln C_A}{C_{A0}}$$

donde:

k=Constante de velocidad de reacción (h<sup>-1</sup>)

C<sub>A</sub>= Concentración de ETU en un tiempo cualquiera t

C<sub>A0</sub>= Concentración inicial de ETU

t= tiempo (h)

También se determinó el tiempo de vida media de ETU usando la siguiente ecuación.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

donde:

k= constante de velocidad de reacción (h<sup>-1</sup>)

t<sub>1/2</sub>= Tiempo de vida media

#### 4.7.2 Tasa de formación de CO<sub>2</sub> en suelo

Para determinar la tasa de producción de CO<sub>2</sub> en suelo se realizó una regresión lineal del CO<sub>2</sub> acumulado durante el tiempo de cada tratamiento. De la fórmula de la regresión lineal (Y = ax + b) el valor de a es considerado como la tasa de producción de CO<sub>2</sub>.



## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Una molécula de plaguicida al entrar en el ambiente, como consecuencia de la cantidad usada y de sus propiedades fisicoquímicas, está sujeta a una serie de procesos de conversión y transporte, influenciado por factores bióticos y abióticos, por lo que se encuentra en todos los comportamientos del ambiente, tales como sedimentos, aguas superficiales y subterráneas, atmósfera y suelos (Barriuso 2000).

A continuación se presentan los resultados del comportamiento ambiental de ETU en suelo y agua al simular condiciones de una zona tropical, así como los resultados de la validación del método de análisis de ETU.

### **5.1 Validación del método de análisis de ETU**

Es importante validar los métodos de análisis que se usan en laboratorio ya que proporciona mayor seguridad y confianza en la calidad de los resultados.

En el Cuadro 3 se observan los resultados de las pruebas para la validación del método de análisis de ETU. De acuerdo con estos, la metodología de extracción permitió altos porcentajes de recuperación disminuyendo los efectos de matriz. También se observa que la reproducibilidad obtenida con el método fue buena, lo que garantiza la precisión, permitiendo la aplicabilidad de la técnica para el análisis de ETU por métodos cromatográficos. El método validado tuvo un límite de cuantificación de  $0.018 \text{ mg L}^{-1}$ , lo cual es apropiado para determinar la residualidad de plaguicidas. El límite de detección fue de  $0.006 \text{ mg L}^{-1}$ .

Cuadro 3. Validación del método analítico

Parámetro	Resultados
% de recuperación en agua	100 %
% de recuperación en suelo	80 %
Reproducibilidad	82 %
R <sup>2</sup> de la curva de calibración en agua	0.9995
R <sup>2</sup> de la curva de calibración en suelo	0.9995
Límite de cuantificación	0.018 mg L <sup>-1</sup>
Límite de detección	0.006 mg L <sup>-1</sup>

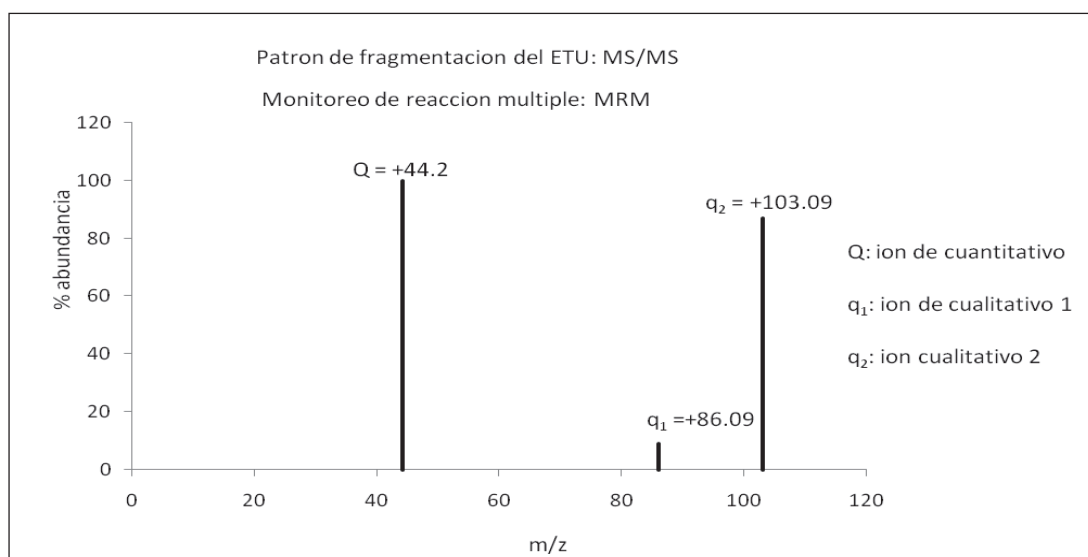
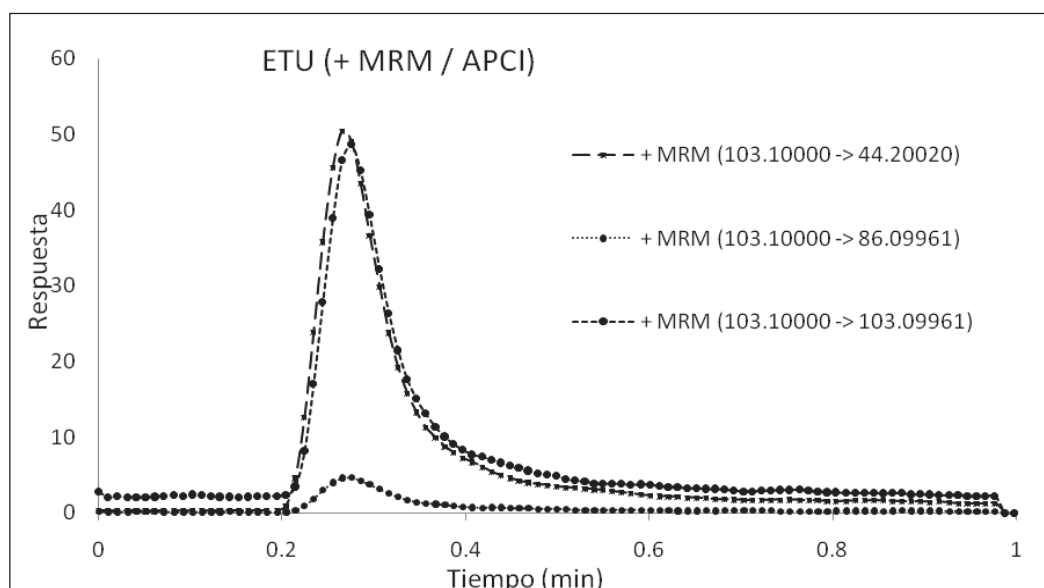


Figura 2. Iones utilizados para cualificación y evaluación de la transición de ETU

El análisis de ETU se hizo mediante APCI positivo, en el modo de reacciones múltiples (MRM), ya que mediante este modo se pueden realizar varias

transiciones para identificar una molécula. Este método ha sido reportado previamente para la determinación de ETU (Blasco et al., 2004). En la Fig. 2, se muestra un patrón de fragmentación de ETU. La identificación de esta molécula se llevó a cabo mediante la transición 103.1/103.1 y 103.3/86.1, mientras que la cuantificación, se llevo a cabo con la transición 103.1/44.2.

El tiempo de retención de la molécula de ETU mediante la metodología APCI +/- MRM, fue de 0.27 min. y el tiempo total de la corrida fue de un minuto (Fig. 3).



1

Figura 3. Tiempo de retención de ETU

## 5.2 Características físicas y químicas del suelo

El suelo tuvo un pH moderadamente ácido y un alto contenido de MO. La textura del suelo fue del tipo franco arcillosa (Cuadro 4), lo que significa que este suelo tiene una baja tasa de percolación y una alta capacidad intercambio

catiónico, por lo que los plaguicidas pueden quedar retenidos en estos tipos de suelos. Sin embargo, por el alto contenido de materia orgánica se espera que la actividad biológica sea media ó alta en el suelo, lo que señala que la degradación microbiana puede ser una importante vía de degradación de moléculas orgánicas en este suelo.

Cuadro 4. Características físicas y químicas del suelo

	pH	MO %	Arcilla %	Limo %	Arena %
Suelo	5.82	4.14	30.2	28.0	41.8

MO= materia orgánica

### 5.3 Monitoreo de ETU en suelo y agua

#### 5.3.1 Degradación de ETU en suelo

La contenido inicial de ETU ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) presente en el suelo activo (DSAE) decreció rápidamente en las primeras 12 h (Fig. 4), con una tasa de degradación de  $0.46 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  de ETU (Cuadro 5), así mismo, se observó un contenido por debajo del límite de detección en menos de 24 h. Esto es similar a lo reportado por Kaufman y Fletcher (1973). Ellos al aplicar  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  de ETU a un suelo arcilloso, encontraron que ETU fue totalmente convertido a EU en solo dos días.

En suelo estéril (DSEE), la tasa de degradación fue  $0.025 \text{ mg de ETU kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Cuadro 5), removiéndose aproximadamente un 15% del contenido inicial ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en las primeras 12 h. El contenido de ETU llegó a niveles por debajo del límite de detección en un tiempo aproximado a las 120 h (Fig.4).

Las condiciones bajo las que se realizó este ensayo sugieren que la degradación de ETU en el suelo puede darse por dos vías, la ruta biológica y la no

biológica, que incluye la degradación por hidrólisis y oxidación cuando la degradación por fotólisis y volatilización no están presentes. Lo anterior coincide con varios autores, los cuales mencionan que ETU en suelo puede ser degradado química y biológicamente (Kaufman y Fletcher 1973; Nash y Beall 1980; Miles y Doerge 1991).

Se observó también que ETU fue degradado principalmente por vía biológica, ya que la tasa de degradación es significativamente más alta en el suelo activo que en el suelo estéril ( $p=0.001$ ). Esto coincide con Miles y Doerge (1991), quienes al realizar un estudio con un suelo de características diferentes (suelo con 44% arcilla, 38% limo y 19% arena, pH de 6.2 y con un contenido de carbono de 1.5), reportan una tasa de degradación de ETU de  $0.484 \pm 0.255 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  y  $0.077 \pm 0.006 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en un suelo activo y estéril, respectivamente; degradándose el ETU a mayor velocidad en el suelo activo.

ETU en suelo tuvo una vida media de 1.51 y 28.09 h en el tratamiento DSAE y DSEE, respectivamente (Cuadro 5). Esto es diferente de lo reportado en otras investigaciones, en donde se menciona que ETU tiene una vida media de 1 a 7 días (Kaufman y Fletcher 1973; Rhodes 1977; Miles y Doerge 1991), lo cual se debe a las diferentes condiciones como la temperatura, la humedad, condiciones de oscuridad y las características físicas y químicas de los suelos en las que se realizaron los estudios.

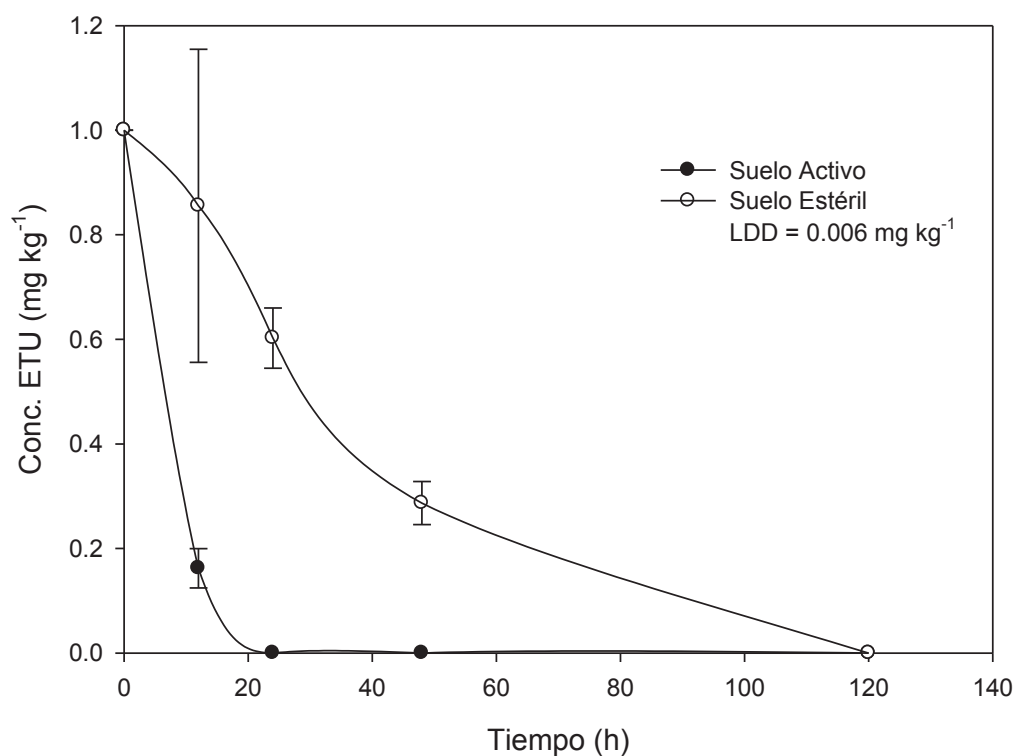


Figura 4. Degradación de ETU en suelo ( $n=3$ ) DS.

Cuadro 5. Cinética de velocidad de degradación de ETU en suelo y agua simulando condiciones de campo

	$k$ ( $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$r^2$
Suelo activo	0.46	1.51	0.82
Suelo estéril	0.025	28.05	0.97
	$k$ ( $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$ )		
Agua activa	0.006	115.52	0.91
Agua estéril	0.007	99.02	0.94

$k$ =Tasa velocidad de degradación;  $t_{1/2}$ = Vida media;  $r^2$ = Coeficiente de regresión

### 5.3.2 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb, en suelo

En el suelo activo (DSAM), se encontró ETU desde las primeras 2 h después de la aplicación de mancozeb, mientras que en el suelo estéril (DSEM), el contenido de ETU se mantuvo cerca del límite de detección (Fig. 5). El perfil de acumulación del metabolito se puede asumir como una función de dos reacciones, la reacción de degradación de mancozeb (formación de ETU) y la reacción de degradación de ETU.

[ETU] acumulado= reacción de formación de ETU vía degradación de Mancozeb -reacción de degradación de ETU

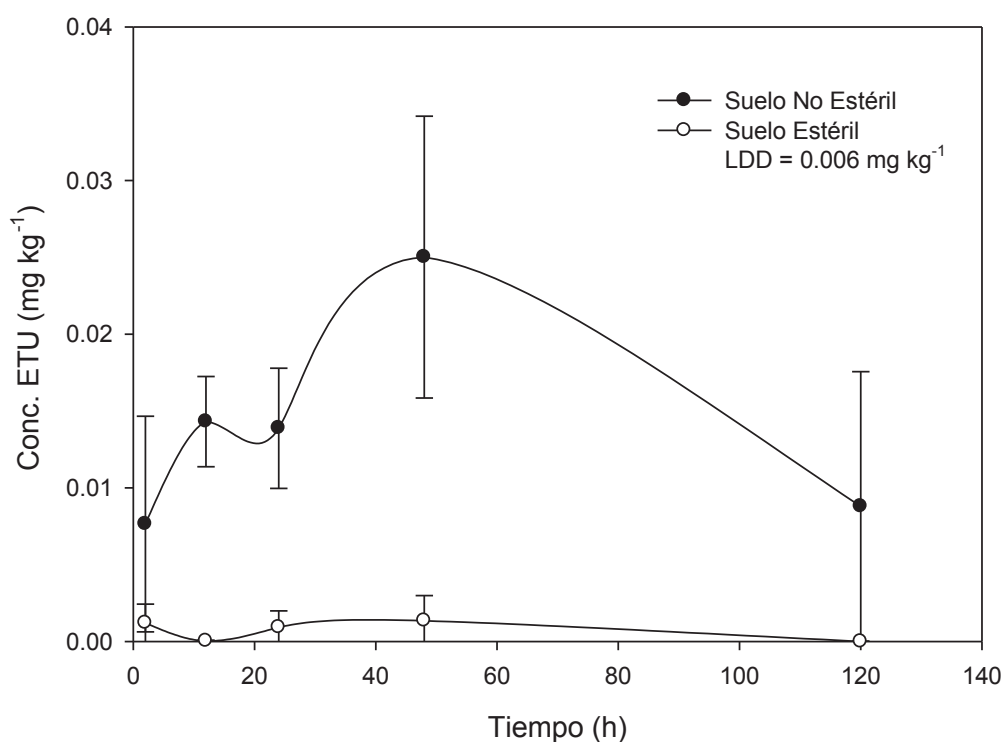


Figura 5. Formación y degradación de ETU en suelo ( $n=4$ ). Valores con medias  $\pm$  D.S. \*  $P < 0.05$ .

El contenido de ETU más alto se encontró a las 48 h ( $0.025 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en DSAM. Después de esta hora, se aprecia que la degradación sobrepasó la formación de ETU. Esto es diferente de lo reportado por Hanumantharaju y Awasthi (2003), ellos observaron que el contenido máximo de ETU se encontró a los 30 días de la aplicación de 20 y  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  de mancozeb, esto pudo deberse a las condiciones en las que se realizaron este estudio; principalmente al contenido de humedad (29% de su capacidad de campo), ya que en suelos secos el ETU es inmovilizado (Helling 1971; Helling y Thompson 1974; Nash y Beall 1980).

En DSEM, la formación de ETU fue baja, las concentraciones estuvieron por debajo del límite de detección, lo que significa que los microorganismos son los principales responsables de la degradación de mancozeb en suelo y, por consiguiente de la formación de ETU.

Los resultados indican que la degradación de mancozeb y ETU se llevan a cabo principalmente por vía microbológica, al encontrar diferencias significativas entre DSAM y DSEM ( $p=0.001$ ). Esto coincide con los resultados de otros trabajos que se realizaron bajo diferentes condiciones (Miles y Doerge 1991; Johannesen et al. 1996; Jacobsen y Bossi 1997; Xu 2000a). Esto, también es coherente con lo observado en la Fig.4, pues el tratamiento DSAT tuvo una degradación total de ETU en menos de 24 h, mientras que en DSET el metabolito siguió siendo detectables después de la misma hora.

Además, se observó en ambos tratamientos, que en la hora 120, ETU estuvo cerca del límite de detección; esto es distinto de lo reportado por Blazquez (1973), quien encontró  $0.68 \text{ mg kg}^{-1}$  y trazas de ETU en el día 13 y 27, respectivamente,



después de la aplicación de mancozeb (Dithane M-45), usando una dosis de 2.24 kg ha<sup>-1</sup>. También es distinto de lo encontrado por Rhodes (1977), ya que ETU fue detectado en la semana 52 después de haber aplicado la dosis de maneb de 2.24 kg ha<sup>-1</sup>.

### 5.3.3 Degradación de ETU en agua

ETU se degradó un 23.5 %, en las primeras 12 h, en el tratamiento de agua activa (DAAT) (Fig. 6), con una tasa de degradación del 0.006 mg L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; mientras que en el tratamiento con agua estéril (DAET), el porcentaje de degradación de ETU fue de 29.45 %, con una tasa de degradación del 0.007 mg L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Cuadro 5).

Así mismo, la vida media de ETU fue de 115.5 y 99.0 h en DAAT y DAET, respectivamente (Cuadro 5); es decir, en ambos tratamientos la mitad de la concentración inicial se degradó aproximadamente en cuatro días.

En la Fig. 6 se muestra que en la hora 194, el ETU se degradó un 76.95% en el tratamiento DAAT, y un 81.54 % en el tratamiento DAET, siendo las concentraciones finales de 0.548 y 0.439 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

El análisis estadístico realizado indicó que no hay diferencia significativa entre la degradación de ETU en agua activa y agua estéril ( $p=0.195$ ), lo que muestra que ETU en agua, puede ser degradado tanto por vía biológica como por vías no biológica (Fig.5), esto coincide con los resultados obtenidos por varios investigadores (Ross y Crosby 1973; Rhodes 1977; IUPAC 1977; Miles y Doerge 1991; Jacobsen y Bossi 1997).

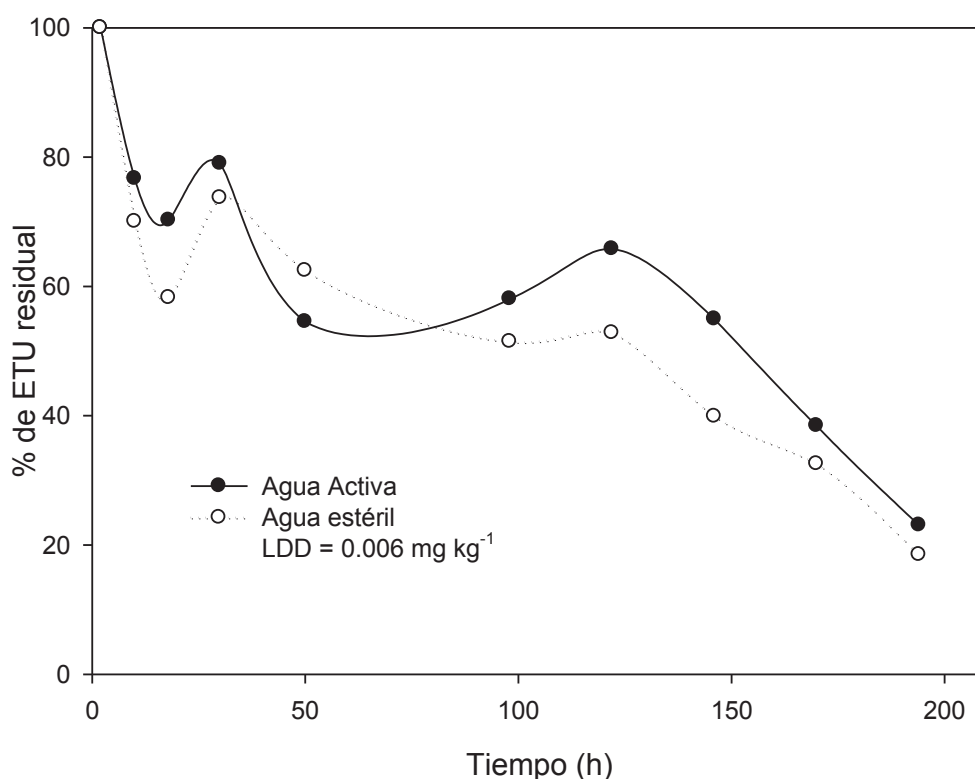


Figura 6. Degradación de ETU en agua ( $n=3$ ).

Lo anterior muestra que la degradación de ETU en agua, no se lleva a cabo principalmente por los microorganismos, sino que la vía no biológica cobra mayor importancia en la degradación de la molécula, siendo esta vía la hidrólisis; lo cual es sugerido por las condiciones bajo las que permanecieron los tratamientos de este ensayo, teniendo pérdidas despreciables por volatilización y fotólisis.

Es importante mencionar que hasta el momento esta vía de degradación ha sido reportada únicamente por Xu (2000b) como una posible vía de degradación, no como principal vía de degradación.

En otros estudios se considera que la fotólisis es la vía más rápida de degradación de ETU en agua y, por lo tanto la de mayor importancia (Ross y

Crosby 1973; Rhodes 1977; Miles y Doerge 1991; Jacobsen y Bossi 1997). Sin embargo, estos resultados muestran que en ausencia de algún tipo de luz, la hidrólisis es la segunda vía en importancia de la degradación de ETU.

### 5.3.4 Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb, en agua

La acumulación de ETU en agua, originada por mancozeb, con respecto al tiempo está dada por dos reacciones; la reacción de degradación de mancozeb (producción de ETU) y la reacción de degradación de ETU (Fig. 7).

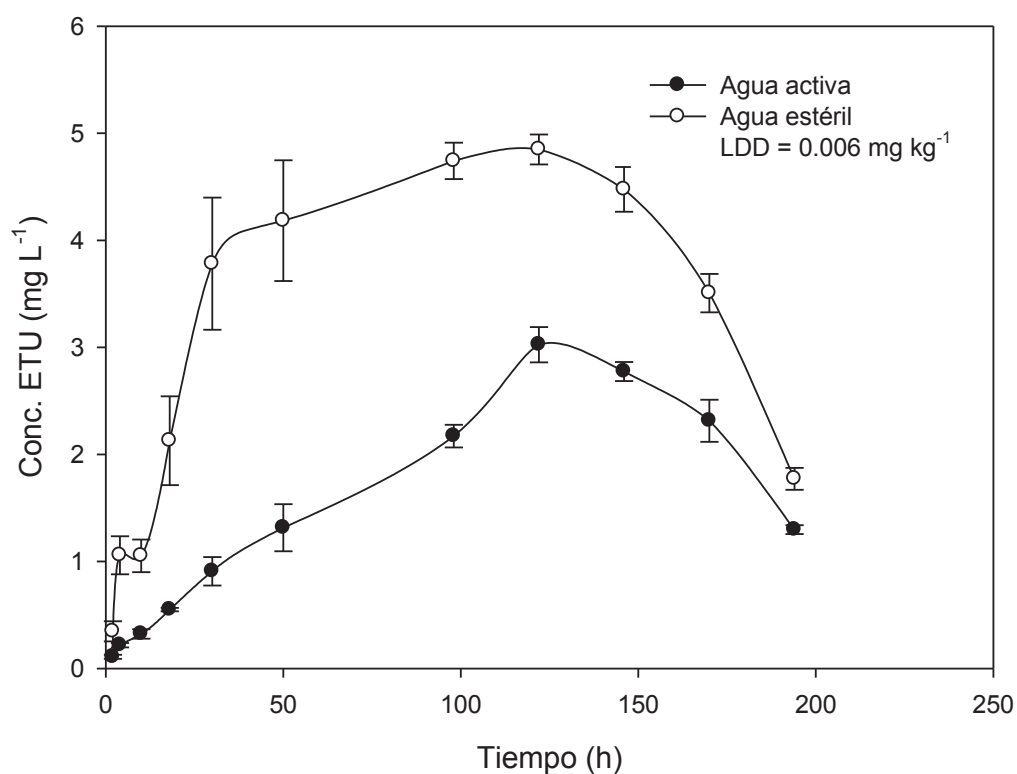


Figura 7. Formación y degradación de ETU en agua ( $n=4$ ). Valores con medias  $\pm$  D.S. \*  $P < 0.05$

[ETU] acumulado= reacción de formación de ETU via degradación de Mzb - reacción de degradación de ETU.

En agua, ETU fue detectado desde las primeras 2 h, encontrándose concentraciones de 0.10 y 0.35 mg L<sup>-1</sup> en agua activa (DAAM) y agua estéril (DAEM), respectivamente. En ambos tratamientos las concentraciones máximas de ETU fueron detectadas en la hora 122, con valores de 3.02 mg L<sup>-1</sup> en DAAM y 4.48 mg L<sup>-1</sup> en DAEM.

También, se observó que durante el ensayo la acumulación de ETU fue significativamente menor en DAAM que en DAEM ( $p=0.000$ ). Probablemente, el mancozeb fue degradado rápida y principalmente por una vía no biológica (hidrólisis) en ambos tratamientos, pero posiblemente en DAAM el ETU formado de mancozeb fue aprovechado como fuente de carbono por los microorganismos, por ser una molécula menos compleja, lo cual contribuyó a la formación de ETU en menores concentraciones, mientras que en el tratamiento DAEM la acumulación de ETU es mayor debido a la ausencia de microorganismos; ya que la tendencia de formación y degradación de ETU es la misma en ambos tratamiento (Fig. 7).

A partir de la hora 122 la reacción principal es la degradación de ETU. Esta reacción se dio principalmente por vía química y en menor grado por vía biológica (Fig. 7); esto coincide con los resultados observados en la degradación de ETU estándar (Fig. 6), lo que sugiere que la vía de degradación de mayor importancia del ETU en ausencia de luz, en medio acuoso, es la hidrólisis.

Los resultados muestran que concentraciones de ETU son encontradas después de siete días. Esto indica que sí la concentración de 20.8 mg kg<sup>-1</sup> de

mancozeb (basada en la dosis de campo), llegará totalmente al agua, el ETU se estaría acumulando debido a que, en campo, se hace una aspersión semanal.

Melgar et al. (2008), hallaron concentraciones de ETU de 10.6, 13.8 y 5.93 mg L<sup>-1</sup> en un dren primario, un dren secundario y en un arroyo, respectivamente; las concentraciones de ETU, reportadas en este estudio, no llegaron al agua por el movimiento del metabolito a través del suelo, ya que no hay acumulación de ETU en el suelo, pues el ETU producido de mancozeb se encuentra cerca a el límite de detección en el quinto día (Fig. 5), probablemente pudieron ser transportadas hacia el agua por otras rutas, como el escurrimiento de aguas usadas para el lavado de los recipientes contenedores de la solución de mancozeb, un depósito directo o derrame del fungicida en el agua, o debido al transporte de las partículas de ETU por el viento, ya que las aspersiones se hacen vía aérea.

### **5.3.5 Lixiviación y movimiento de ETU a partir de mancozeb**

El contenido de ETU estuvo bajo el límite de detección en las diferentes profundidades del suelo y en el lixiviado. Basado en los ensayos de degradación de ETU en suelo, se puede decir, que ETU estuvo presente desde las primeras horas después de haber aplicado el mancozeb en bajos contenidos. Sin embargo, su ausencia en el momento del análisis de debió principalmente a un efecto de dilución, ya que en el ensayo se aplicó 0.006289 g de mancozeb a 6.03 kg de suelo. Esto hizo que hubiera una tasa baja de formación de ETU, lo que impidió su acumulación a pesar de aplicar la dosis de mancozeb una vez por semana, durante tres semanas.

Lo anterior es diferente de lo reportado por Calumpang et al. (1993), quienes encontraron a ETU en una profundidad de 8 cm, en un suelo de textura franco arcillo limosa, 14 días después de haber aplicado una concentración de 1.59 mg kg<sup>-1</sup> de Dithane M-45 basada en la dosis recomendada en campo (5.5 kg ha<sup>-1</sup>).

En el caso de que haya habido bajos contenidos de ETU durante el ensayo, este se degradó principalmente por vía biológica, por el alto contenido de materia orgánica del suelo. Así mismo, la degradación de ETU pudo darse por otras vías tales como la fotólisis y la volatilización, pues este ensayo no fue realizado bajo condiciones de oscuridad. Otra probable vía de degradación de ETU pudo ser la hidrólisis, debido al agua que se aplicó diariamente, al simular temporada de lluvias, ya que se observó en este estudio que esta es una importante vía de degradación de ETU.

Melgar et al. (2008), realizaron un estudio en sedimentos, con profundidades de 0-10 cm, en drenes primarios y secundarios, de seis fincas de banano, en dónde se hacen aspersiones aéreas una vez por semana, usando la dosis de 2.5 kg ha<sup>-1</sup> de ingrediente activo de mancozeb, en la temporada de lluvias; ellos reportan que ETU estuvo por debajo del límite de detección en los sedimentos de los drenes, siendo 0.23 mg kg<sup>-1</sup>, el máximo contenido de ETU encontrado y, el cual es atribuido a una posible influencia de un aeródromo, en donde se preparan grandes volúmenes de mancozeb para las fumigaciones de las fincas.

Al tomar en cuenta los resultados de este estudio y lo reportado por Melgar et al. (2008), se puede decir, que la aplicación de mancozeb haciendo uso de la dosis de campo, es una ruta poco probable de la presencia de ETU en aguas subterráneas, debido a que no hay acumulación de este en suelo. Lo anterior

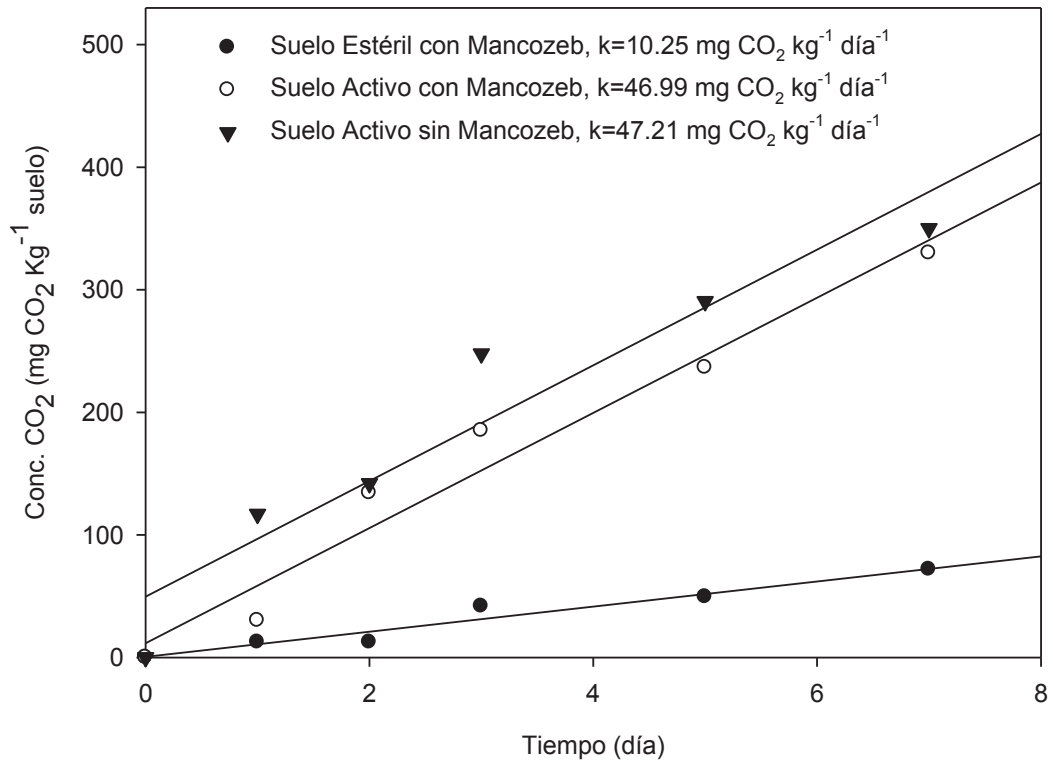
muestra que el ETU producido de mancozeb, puede ser considerado como un contaminante de bajo riesgo ambiental.

#### **5.4 Efecto de mancozeb y ETU a partir de mancozeb en la producción de CO<sub>2</sub>**

La respiración del suelo fue medida indirectamente por la producción de CO<sub>2</sub> en el suelo. La tasa de producción de CO<sub>2</sub> en suelo fue de 10.25, 46.99 y 47.21 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, en los tratamientos de suelo estéril con mancozeb (CME), suelo activo con mancozeb (CMA) y suelo activo sin mancozeb (SMA), respectivamente (Fig. 8).

Entre los tratamientos CMA y SMA no hay diferencias significativas ( $p=0.738$ ); mientras que el tratamiento CME es estadísticamente diferente de los tratamientos CMA y SMA ( $p=0.001$ ). Estos resultados indican que el ETU proveniente del mancozeb y el mancozeb no afectan significativamente la producción de CO<sub>2</sub>.

Los resultados de este estudio son diferentes de lo obtenido por Doneche et.al. (1983), en dónde reportan que la respiración de los microorganismos se ve inhibida al usar una concentración de 10 mg kg<sup>-1</sup> de mancozeb, esto pudo deberse a que en el estudio antes mencionado midieron la actividad deshidrogenasa, mecanismo que tiene más precisión para cuantificar la respiración.



1

Figura 8. Tasa de producción de CO<sub>2</sub> en el suelo ( $n=3$ ).



## 6. CONCLUSIONES

En un suelo de textura franco arcillosa y bajo las condiciones de temperatura y humedad de una zona tropical, es poco probable que el ETU, derivado de la aplicación de mancozeb, se acumule ya que este se degrada principalmente por la actividad microbiana, en un tiempo menor a siete días.

Bajo las condiciones de este estudio, ETU en agua se degrada en un tiempo mayor a 7 días, por lo que en caso de derrames directo de mancozeb u otra vía, excluyendo lixiviación a través del suelo, ETU representaría riesgo de contaminación y acumulación para los acuíferos.

En ausencia de luz y actividad biológica, la hidrólisis parece ser la principal vía de degradación de ETU en agua. Esta vía no ha sido reportada previamente como una vía importante de la degradación para ETU.

Al simular temporada de lluvia de una zona tropical en el suelo, no se observó movimiento vertical ni acumulación de ETU al usar a mancozeb como fuente, debido a que la dosis de campo sufrió un efecto de dilución, a pesar de aplicar la dosis de campo en intervalos de 7 días. Esta evidencia apunta que ETU es un contaminante de bajo riesgo para aguas subterráneas.

Bajo las condiciones que en que se realizó este experimento, el mancozeb y ETU a partir de mancozeb, no tienen efecto significativo en la producción de CO<sub>2</sub> en el suelo.

1

## 7 LITERATURA CITADA

- Bayoumi A E, Ordóñez C, Pérez Pertejo R, Balaña Fouce R, y Ordóñez R. 2002. Citotoxicidad del fungicida mancozeb en cultivos de CHO-K1. *Reviews of Toxicology* 19: 29-34.
- Blasco C, Pico Y, Mañes J, Font G. 2004. Determination of fungicide residuals in fruits and vegetables by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr.* 23: 227-235.
- Blázquez C. H. 1973. Residue determination of ethylenethiourea (2-Imidazolidinethione) from tomato foliage, soil and water. *J. Agric. Food Chem.* 21: 330-332.
- Barriuso E. 2000. Contaminaciones con plaguicidas utilizados en agricultura: el comportamiento de los pesticidas en el suelo como base para la interpretación y la previsión de los riesgos de contaminación. XVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Mar del Plata. Pp 80.
- Calumpang S M F, Medina M J B, Roxas N P, Magallona E D. 1993. Movement and degradation of mancozeb fungicide and its metabolites, ethylenethiourea and ethyleneurea in silty clay loam soil. *Journal Pest Management*, 39: 16-166.
- Comisión Europea (1995). Report for the active substance mancozeb. SANCO/4058/2001.
- Contreras M E M. 1983. El chamusco negro (Sigatoka) una nueva enfermedad de la hoja de los plátanos. Universidad Autónoma de Chapingo. México. *Revista de Geografía Agrícola* 4: 61-102.
- Cruickshank P A, Jarrow H C 1973. Ethylenethiourea degradation, *J. Agric. Food*

Chem., 21: 333-335.

Dierksmeier G. 2001. Plaguicidas: residuos, efectos y presencia en el medio.

Científico-Técnica. Ciudad de la Habana, Cuba. Pp 283.

Doneche B, Según G, Ribereau-gayon P. 1983. Mancozeb effect on soil microorganism and its degradation in soil. *Soil Science*, 135:6.

Edwards I R, Ferry D G, Temple W A. 1991. Fungicides & related compounds, In *Handbook of Pesticide Toxicology*. Hayes, W. J. and Laws, E. R., Eds. Academic Press, New York, NY. Pp 4-2.

Engst R R. Schnaak W. 1974. Residues of dithiocarbamate fungicides and their metabolites on plant foods. *Residue Rev*, 52:45-67.

United State Environmental Protection Agency. 2005. Mancozeb Facts. Prevention Pesticides and Toxic Substances. EPA 738-F-05-XX.

Frakes R A. 1988. Drinking water guideline for ethylenethiourea, a metabolite of ethylene bisdithiocarbamate 8: 207-218.

Fullerton R A. 1994. Sigatoka leaf diseases. In: *Compendium of tropical fruit diseases*. Ploetz R C, Zentmeyer G A, Nishijima W T, Rohrbach K G, Ohr H D (Eds.). Pp12-14. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA.

Fullerton R A, Stover R H. 1990. Sigatoka leaf spot diseases of bananas: Proceedings of an international workshop. INIBAP. San José, Costa Rica. 374p.

Gómez M A, González Rodríguez J A, Ortiz Vargas J L, Aguilar-Vega M E, Sandoval. 2004. Logros y perspectivas de la transformación genética del banano. XVI REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT 2004.

Hanumantharaju T H, Awasthi M D. 2003. Studies on the Fate of Fungicides in

- Different Soil Environments. *Journal of the Indian. Soil Sci. Soc.*, 51: 528-534.
- Hedenstedt A, Rannug U, Lamel C, Wachtmeister C A. 1979. Mutagenicity and metabolism studies on 12 thiram and dithiocarbamate compounds accelerators in the Swedish rubber industry. *Mutat Res*, 68:313-318.
- Heller S R, Herner A E. 1990. ARS pesticide properties database. USDA-ARS Systems Research Laboratory, Beltsville, MD.
- Helling C S, Thompson S M. 1974. Division S-3 - soil microbiology and biochemistry, azide and ethylenethiourea mobility in soils. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.*, 38: 80-85.
- IAO .1997. Data on pesticides in current use in Denmark. Available:  
<http://inet.uni-c.dk/~iaotb/pestdb.htm>
- Isemeyer H. 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung gen input on soil fauna and microorganisms in a Swedish der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Z. Pflanzen-arable soil. Biol. Fertil. Soils*, 9: 168-173. *ernaehr. Bodenk.*, 56: 26-38.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. 1977. Ethylenethiourea *Pure & Appl. Chem.* 49: 675-689.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. 1975. Ethylenethiourea *Pure & Appl. Chem.*, 49: 675-689.
- Jacobsen O S, Bossi R. 1997. Degradation of ethylenethiourea (ETU) in oxic and anoxic sandy aquifer., *FEMS Micro. Rev.*, 20: 539-544.
- Johannesen H, Nielsen A B, Helweg A, Fomsgaard I S. 1996. Degradation of [14C]ethylenethiourea in surface and subsurface soil. *The Science of the Total Environmental*, 191: 271-276.

- Kaufman D D, Fletcher C L. 1973. Ethylenethiourea degradation in soil. Proceedings of the Second International Congress on Plant Pathology, Minneapolis, Minnesota, Abstract No. 1018.
- Kidd H, James D R. 1991. The Agrochemicals Handbook, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK. 4-4.
- Lyman W R, Lacoste R J. 1974. New developments in the chemistry and fate of ethylenebis(dithiocarbamate) fungicides. Proceedings of the 3rd International IUPAC Congress on Pesticide Chemistry, Helsinki, Stuttgart, George Thieme Publishers, 67-74.
- Marshall W D. 1977. Thermal decomposition of ethylenebis(dithiocarbamate) fungicides to ethylenethiourea in aqueous media. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25: 357-362.
- Melgar C, Geissen V, Cram S, Sokolov M, Bastidas P, Ruiz Suárez L E, Que Ramos F J, Jarquín Sanchez A. 2008. Pollutants in drainage channels following long-term application of Mancozeb to banana plantations in Southeastern Mexico. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 25p.
- Mourichon X, Carlier J, Fouré E. 1997. Enfermedades de sigatoka. INIBAP. Hoja Divulgativa No 8. Montpellier 4 p.
- Miles C J, Doerge R. 1991. Fate of ethylenethiourea in Hawaiian soil and water. J. Agric. Food Chem., 39: 214-217.
- Mourichon X, Fullerton R A. 1990. Geographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *M. fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agents of sigatoka diseases and black leaf streak disease in bananas and plantains. Fruits, 45: 213-218.

- Nash R G, M.L. Beall Jr. 1980. Fate of maneb and zineb fungicides in microagroecosystem chambers. *J. Agric. Food Chem.*, 28: 332-330.
- Organization for Economic Cooperation and development. 2004a. OECD Guidelines for the testing of chemical. Aerobic and Anaerobic transformation in Soil. Test 307. 17 p.
- Organization for Economic Cooperation and development. 2004b. OECD Guidelines for the testing of chemical. Aerobic Mineralization in Surface Water- Simulation Biodegradation. Test 309. 21 p.
- Organization for Economic Cooperation and development. 2004c. OECD Guidelines for the testing of chemical. Leaching in Soil Columns. Test 312. 15 p.
- Orozco-Santos M. 1998. Manejo integrado de la Sigatoka negra del plátano. SAGAR, INIFAP, CIPAC. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. Folleto técnico No. 1. División Agrícola: 95p.
- Padgett E L, Barnes D B, Pruett S B.1992. Disparate effects of representative dithiocarbamates on selected immunological parameters in vivo and cell survival in vitro in female B6C3F1 mice. *J Toxicol Environ Health*, 37:559-571.
- R&H Company. 1987. Aerobic and anaerobic soil metabolism of mancozeb, DPR Vol. 176-041 #53694&53695, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, C A.
- Rhodes C R. 1977. Studies with manganese [<sup>14</sup>C]ethylenebis(dithiocarbamate) ([<sup>14</sup>C]mancozeb) fungicide and [<sup>14</sup>C]ethylenethiourea ([<sup>14</sup>C]ETU) in plants, soil and water, *J. Agric. Food Chem.*, 25: 528-533.
- Ross R D, Crosby D G. 1973 .Photolysis of ethylenethiourea. *J. Agric. Food Chem.*,

21: 335-337.

Rosales F, Belalcazar S, Pocasangre L. 2004. Producción y comercialización de banano orgánico en la región alta de Beni. Manual práctico para productores. Sapecho. Alto Beni, Bolivia. 32 p.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2006. Boletín núm. 155/06. Junio 2006. Línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2006/junio/B155.pdf>

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2002. NOM-021-RECNAT-2000, norma oficial mexicana. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis.

U. S. Environmental Protection Agency. 1987 (April). Pesticide fact sheet: Mancozeb. Registration Standard. Office of Pesticides and Toxic Substances. Office of Pesticide Programs. Washington, DC.

Vázquez C R, Romero C A, Figueroa V J. 2005. Paquete tecnológico del cultivo de plátano en Colima. Gobierno del estado de Colima, México. 72p.

Wauchope R D, Buttler T M, Hornsby A G, Augustijn-Beckers P W M, Burt J P. 1992. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. Pages 1-164 in Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 123.

Xu, S. 2000a. Environmental fate of mancozeb. California department of pesticide regulation. 10p.

Xu, S. 2000b. Environmental fate of ethylenethiourea. California department of pesticide regulation. 10p.



## 8. ANEXOS

Anexo I. Tubos para el ensayo de movimiento y lixiviación de ETU en suelo.



Anexo II. Ensayo de producción de CO<sub>2</sub>



**Anexo III. Artículo sometido a la Revista**  
**Agrociencia**

1 **Formación y degradación de etilentiourea (ETU) en suelo y**  
2 **agua bajo las condiciones de una zona tropical del sureste de**  
3 **México**

4  
5 Luz E. Ruiz Suárez<sup>1</sup>, Violette Geissen<sup>1</sup>, Aarón Jarquin<sup>1</sup>,  
6 Ricardo A. Castro<sup>2</sup>, Ricardo Bello-Mendoza<sup>2</sup>

7 <sup>1</sup> El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Villahermosa,  
8 Tabasco.

9 <sup>2</sup> El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Tapachula, Chiapas.

10

11 Correo electrónico: [leruiz@ecosur.mx](mailto:leruiz@ecosur.mx)

12

13 **Resumen:** El ETU es un metabolito de degradación del Mancozeb,  
14 el cual es un fungicida altamente usado en el sureste de  
15 México. El ETU es considerado un posible contaminante  
16 ambiental, por lo que este trabajo se realizó para determinar  
17 su posible acumulación en los suelos y acuíferos bajo  
18 condiciones tropicales. Se encontró que a la concentración  
19 inicial de 1 mg de estándar de ETU por kg de suelo activo,  
20 este metabolito tuvo una vida media de 1.5 h y que fue  
21 degradado totalmente en menos de 24 h. ETU formado a partir de  
22 mancozeb (20.83 mg kg<sup>-1</sup>) en suelo activo, estuvo por cercano  
23 al límite de detección (0.006 mg L<sup>-1</sup>) a las 120 h,  
24 degradándose principalmente por vía biológica. Por su parte,

1 a una concentración inicial de 2.38 mg ETU L<sup>-1</sup>, no se observó  
2 diferencia significativa en los valores de vida media medidos  
3 en agua activa (115.52 h) y agua estéril;(99.02 h). Lo  
4 anterior sugiere que la principal vía de degradación de ETU  
5 en agua fue la hidrólisis, la cual no ha sido reportada como  
6 vía principal de degradación en ausencia de luz. Por otro  
7 lado, se encontró una concentración de 1.29 mg ETU L<sup>-1</sup> 199  
8 horas después de haber agregado mancozeb (20.83 mg L<sup>-1</sup>) a un  
9 lote de agua activa. Los resultados obtenidos sugieren que,  
10 bajo las condiciones de una zona tropical, ETU presenta un  
11 bajo riesgo de acumulación en suelo mientras que para los  
12 cuerpos de agua este metabolito puede representar riesgos de  
13 acumulación.

14 **Palabras claves:** Agua, degradación, ETU, hidrólisis,  
15 mancozeb, suelo.

16

## 17 **Introducción**

18 El ETU es un metabolito de degradación del Mancozeb,  
19 fungicida clave en los programas de control de la Sigatoka  
20 negra en el cultivo de banano, el cual es altamente usado en  
21 el sureste de México, con aproximadamente 52 aplicaciones  
22 anuales usando una dosis semanal de 2.5 kg ha<sup>-1</sup>, vía aérea  
23 (Melgar *et al.*, 1998). El ETU es producido bajo condiciones  
24 de alta humedad y temperatura (IUPAC, 1977); es un agente

1 mutagénico, teratógeno, cancerígeno y antitiroideo  
2 (Hedenstedt *et al.*, 1979; Padgett *et al.*, 1992). También se  
3 considera como un compuesto relativamente estable y polar,  
4 dos características que hacen a este compuesto un  
5 contaminante potencial para cuerpos de agua (Jacobsen y  
6 Bossi, 1997). Debido a lo anterior y a las escasas  
7 investigaciones efectuadas en México sobre el comportamiento  
8 ambiental de ETU, se realizó la presente investigación con el  
9 objetivo de determinarr el riesgo de acumulación del ETU en  
10 suelo y agua bajo condiciones propias de una zona tropical  
11 del sureste de México.

12

### 13 **Materiales y métodos**

#### 14 **Origen y tratamiento del agua y suelo**

15 El agua fue colectada del Río Coatán en Tapachula,  
16 Chiapas y en el laboratorio fue filtrada usando papel Whatman  
17 # 41. Para los ensayos en lo que usó agua estéril, ésta se  
18 esterilizó en autoclave a una temperatura de 120°C a 1.5 kg  
19 cm<sup>-2</sup> durante 20 minutos.

20 El suelo se colectó en una finca de banano localizada en  
21 Tapachula, Chiapas. Antes de ser usado, se secó a temperatura  
22 ambiente bajo sombra y fue molido hasta obtener una partícula  
23 de 2 mm de diámetro. Las características físicas y químicas  
24 del suelo usado fueron: pH (H<sub>2</sub>O) de 5.82, materia orgánica de

1 4.14% y textura franco arcillosa (30.2% arcilla, 28.0% limo,  
2 41.8% arena). Para los ensayos en lo que usó suelo estéril,  
3 este fue sometido al proceso de tindalización, a una  
4 temperatura de 120°C a 1.5 kg cm<sup>-2</sup> durante una hora, incubando  
5 el suelo después de cada esterilización por 24 horas. El  
6 proceso se realizó por tres días consecutivos.

### 7 **Sustancias químicas usadas en los experimentos**

8 El fungicida utilizado para los ensayos fue una fórmula  
9 comercial (Raksha®) adquirida de United Phosphorus de México  
10 S.A. de C.V., con un contenido de 80% mancozeb y 20%  
11 ingrediente inerte.

12 El estándar de ETU que se usó para los ensayos fue 2-  
13 Imidazolidinethion, grado PESTANAL®, el cual fue adquirido de  
14 Sigma Aldrich de México.

### 15 **Diseño experimental**

#### 16 **Degradación de ETU en suelo**

17 El ensayo tuvo dos tratamientos: 1), suelo activo con  
18 estándar de ETU (DSAE) y 2), suelo estéril con estándar de  
19 ETU (DSEE). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La  
20 concentración de ETU que se aplicó a los tratamientos fue de  
21 1 mg kg<sup>-1</sup> de suelo seco. Este contenido es similar a los  
22 usados en otros estudios (Rhodes, 1977; Miles y Doerge,  
23 1991).

1        Para cada tratamiento se pesaron 150 g de suelo y se  
2        colocaron en vasos de precipitado de 250 mL. A cada vaso se  
3        les agregó el ETU disuelto en 10 mL de agua destilada y se  
4        mezcló durante 5 minutos. Para el tratamiento DSAE, el suelo  
5        se humedeció al 50% de su capacidad de campo, tres días antes  
6        de iniciar el ensayo, con el fin de activar los  
7        microorganismos. En el caso del tratamiento DSEE, el suelo se  
8        humedeció en el primer día del experimento. La humedad fue  
9        mantenida durante todo el ensayo ajustándola cada dos días  
10       por diferencia de peso. Además, se colocó una gasa en la boca  
11       del vaso para evitar pérdidas de humedad. Los vasos de  
12       precipitado se incubaron a temperatura de  $29\pm 1^{\circ}\text{C}$  y en  
13       oscuridad. Para la determinación de ETU se tomaron 10 g de  
14       suelo a las 12, 24, 48 y 120 horas. Las muestras obtenidas  
15       fueron analizadas inmediatamente.

#### 16        **Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en** 17        **suelo**

18        El ensayo tuvo dos tratamientos: 1) suelo activo con  
19        mancozeb (DSAM) y, 2) suelo estéril con mancozeb (DSEM). Cada  
20        tratamiento tuvo cuatro repeticiones.

21        La concentración que se aplicó a los tratamientos fue de  
22        20.83 mg de mancozeb  $\text{kg}^{-1}$  de suelo seco, tomando como base la  
23        dosis usada de campo ( $2.5 \text{ kg ha}^{-1}$ ) y considerando la

1 distribución del mancozeb en 1 cm profundidad de suelo en  
2 campo.

3 En cada tratamiento se pesaron 150 g de suelo, los cuales  
4 se colocaron en vasos de precipitado de 250 mL. El mancozeb  
5 se agregó y se mezcló con el suelo durante 5 minutos. Para el  
6 tratamiento DSAM, el suelo se humedeció al 50 % de su  
7 capacidad de campo, tres días antes de iniciar el ensayo, con  
8 el fin de activar los microorganismos. En el caso del  
9 tratamiento DSEM, el suelo se humedeció en el primer día del  
10 ensayo. La humedad fue mantenida durante el ensayo en ambos  
11 tratamientos, ajustándola cada dos días por diferencia de  
12 peso. Además, se colocó una gasa en la boca del vaso para  
13 evitar pérdidas de humedad. Los vasos de precipitado se  
14 incubaron a temperatura constante de  $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ , en condiciones  
15 de oscuridad. Para el análisis de ETU se tomaron 10 g de  
16 suelo a las 2, 12, 24, 48 y 120 horas. Las muestras obtenidas  
17 fueron analizadas inmediatamente.

#### 18 **Degradación de ETU en agua**

19 El ensayo tuvo dos tratamientos: 1) agua activa con  
20 estándar de ETU (DAAE) y, 2) agua estéril con estándar ETU  
21 (DAEE). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La  
22 concentración usada fue de 2.38 mg de estándar de ETU  $\text{L}^{-1}$ .  
23 Esta concentración se definió en base a un ensayo preliminar,



1 en el que se monitorearon las concentraciones de ETU después  
2 de aplicar mancozeb.

3 Se colocaron 100 mL de agua en frascos ámbar, los cuales  
4 se incubaron en oscuridad a 25°C. Las muestras para el  
5 análisis de ETU se tomaron a las 10, 18, 30, 50, 98, 122, 146  
6 170 y 194 horas. El análisis de ETU se llevó a cabo  
7 inmediatamente después del muestreo.

#### 8 **Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en agua**

9 Este experimento se desarrolló de acuerdo a la norma 309  
10 de la OECD (2004b). El ensayo tuvo dos tratamientos: 1) agua  
11 activa con mancozeb (DAAM) y, 2) agua estéril con mancozeb  
12 (DAEM). Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. La  
13 concentración usada fue 20.38 mg de mancozeb L<sup>-1</sup> de agua. Esta  
14 concentración se seleccionó en base al supuesto de que en  
15 campo pudiera darse el peor escenario, es decir, que todo el  
16 mancozeb aplicado llegara directamente al compartimento agua.

17 Se colocaron 100 mL de agua en frascos ámbar, los cuales  
18 se incubaron en oscuridad a 25°C. Las muestras para el  
19 análisis de ETU se tomaron a las 2, 10, 18, 30, 50, 98, 122,  
20 146 170 y 194 horas. El análisis se hizo inmediatamente  
21 después del muestreo.

#### 22 **Extracción de ETU del suelo**

23 Se pesó 10±0.05 g de la muestra de suelo y se colocó en  
24 un vaso de precipitado de 80 mL, se adicionó 20 mL de una

1 solución metanol-agua (50:50 v/v) y se licuó a alta velocidad  
2 por 2 min. Después se filtró al vacío con un embudo Buchner  
3 sobre papel filtro (Whatman # 41) adherido con agua-metanol.  
4 El embudo se colocó en un matraz Kitasato de 100 mL. Con 5 mL  
5 de la mezcla metanol-agua se lavó el vaso en donde fue  
6 licuado el suelo y se usó 5 mL más de agua-metanol para lavar  
7 el papel filtro. El filtrado se aforó a 50 mL con agua  
8 destilada y después fue mezclado en un Vortex durante 1  
9 minuto; posteriormente se tomaron 8 mL de la muestra, los  
10 cuales se colocaron en un vial. A estos, se agregó 2 mL de  
11 Hexano y se agitó durante 1 minuto con un Vortex. A  
12 continuación, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm  
13 durante 10 minutos y se tomó 1.5 mL de la muestra, teniendo  
14 cuidado de tomar de la parte intermedia del vial. El extracto  
15 final fue analizado inmediatamente.

#### 16 **Extracción de ETU del agua**

17 Antes de tomar las muestras, las botellas fueron agitadas  
18 en un Vortex durante 30 segundos para homogeneizar su  
19 contenido. A continuación se tomó 1 mL de la muestra y se  
20 colocó en un vial, posteriormente se le agregó 0.5 mL de  
21 Hexano, se agitó durante 1 minuto en un Vortex y finalmente  
22 la muestra fue analizada.

#### 23 **Análisis de ETU**

1 Para el análisis de ETU se utilizó un equipo de  
2 cromatografía líquida acoplado a espectrometría de  
3 masas/masas (LC/MS/MS) de triple cuadrupolo (QQQ), marca  
4 Agilent, modelo 6410B. El análisis se hizo mediante  
5 ionización química de presión atmosférica en modo positivo  
6 (APCI), en monitoreo de reacciones múltiples (MRM). Se usó  
7 una columna ZORBAC C18 (250 X 4.6 mm y 5 µm de tamaño de  
8 partícula). El solvente de arrastre fue agua. El tiempo de  
9 retención y de la corrida total fue de 0.27 y 1 min,  
10 respectivamente. La identificación de esta molécula se llevó  
11 a cabo mediante la transición 103.1/103.1 y 103.3/86.1,  
12 mientras que la cuantificación se llevó a cabo con la  
13 transición 103.1/44.2.

14 El porcentaje de extracción del método de análisis de ETU, en  
15 suelo fue de 80% y en agua de 100%. El coeficiente de  
16 regresión de la curva de calibración en suelo y agua fueron  
17 0.9994 y 0.9995, respectivamente. El método tuvo una  
18 reproducibilidad de 82%. Los Límites de Detección y  
19 Cuantificación fueron 0.006 mg L<sup>-1</sup> y 0.018 mg L<sup>-1</sup>,  
20 respectivamente.

#### 21 **Cinética de degradación de ETU**

22 Para determinar la velocidad de degradación de ETU, los  
23 datos experimentales fueron ajustados a una ecuación de  
24 primer orden (1).

1 
$$k(t) = \frac{-\ln C_A}{C_{A0}}$$

2 (1)

3 donde:

4  $k$ = Constante de velocidad de reacción ( $\text{h}^{-1}$ )

5  $C_A$ = Concentración de ETU en un tiempo cualquiera ( $\text{mg L}^{-1}$ )

6  $C_{A0}$ = Concentración inicial de ETU ( $\text{mg L}^{-1}$ )

7  $t$ = tiempo (h)

### 8 **Vida media ( $t_{1/2}$ ) de ETU**

9 El tiempo de vida media de ETU se determinó usando la  
10 ecuación (2).

11 
$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k}$$

12 (2)

13 donde:

14  $k$ = constante de velocidad de reacción ( $\text{h}^{-1}$ )

15  $t_{1/2}$ = Tiempo de vida media (h)

### 16 **Análisis de datos**

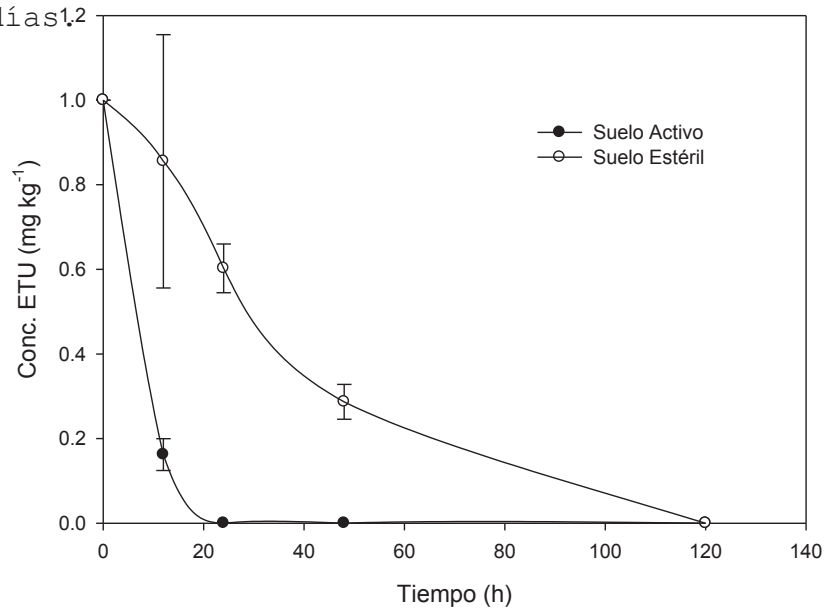
17 Los datos fueron analizados mediante la prueba de Mann  
18 Whitney con un nivel de confiabilidad del 95% ( $p < 0.005$ ) para  
19 ver diferencias significativas entre la degradación de ETU en  
20 suelo activo y estéril, la degradación de ETU en agua activa  
21 y estéril.

22

### 23 **Resultados y discusión**

## 1 Degradación de ETU en suelo

2 El contenido inicial de ETU ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en el suelo activo  
3 (DSAE) decreció rápidamente en las primeras 12 h (Fig. 1),  
4 con una tasa de degradación de  $0.46 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  de ETU (Cuadro  
5 1), lo que llevó a que la concentración descendiera por  
6 debajo del límite de detección en menos de 24 h. Este  
7 comportamiento es similar al reportado por Kaufman y Fletcher  
8 (1973) quienes, al aplicar  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  de ETU a un suelo  
9 arcilloso, encontraron que ETU fue totalmente convertido a EU  
10 en solo dos días.



20 **Figura 2. Degradación de ETU en suelo (n=3) DS \***

21 **P < 0.05.**

22 En suelo estéril (DSEE), la tasa de degradación fue  $0.025$   
23  $\text{mg de ETU kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Cuadro 1), removiéndose aproximadamente un  
24 15% del contenido inicial ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en las primeras 12 h. El

1 contenido de ETU llegó a niveles por debajo del límite de  
 2 detección a las 120 h (Fig.1).

3 Los resultados obtenidos y las condiciones bajo las que  
 4 se realizó este ensayo sugieren que la degradación del ETU en  
 5 el suelo puede ocurrir por dos vías, la biológica y la no  
 6 biológica, esta última debida a hidrólisis u oxidación cuando  
 7 fotólisis y volatilización no son significativos. Lo anterior  
 8 coincide con varios autores, los cuales mencionan que ETU en  
 9 suelo puede ser degradado química y biológicamente en menos  
 10 de 7 días (Kaufman y Fletcher, 1973; Miles y Doerge, 1991).

11 **Cuadro 1. Tasa de degradación y vida media de ETU en suelo y agua**  
 12 **simulando condiciones de campo.**

	k (mg kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (h)	r <sup>2</sup>
Suelo activo	0.46	1.51	0.82
Suelo estéril	0.025	28.05	0.97
	k (mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		
Agua activa	0.006	115.52	0.91
Agua estéril	0.007	99.02	0.94

13 † k=Tasa de degradación; t<sub>1/2</sub>= Vida media; r<sup>2</sup>= Coeficiente de  
 14 regresión

15 Se observó que ETU fue degradado principalmente por vía  
 16 biológica, ya que la tasa de degradación fue  
 17 significativamente más alta en el suelo activo que en el

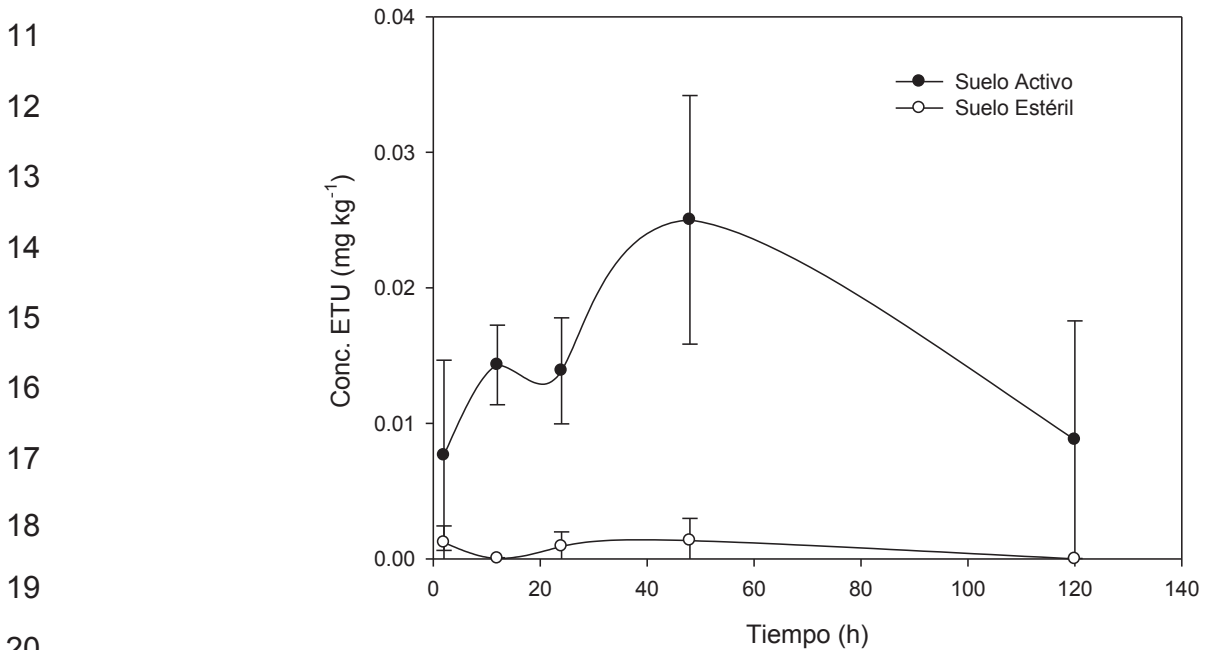
1 suelo estéril ( $p=0.001$ ). Esto coincide con Miles y Doerge  
2 (1991), quienes al realizar un estudio con un suelo de  
3 características diferentes (suelo con 44% arcilla, 38% limo y  
4 19% arena, pH de 6.2 y con un contenido de carbono de 1.5),  
5 reportaron una tasa de degradación de ETU más alta en suelo  
6 activo ( $0.484 \pm 0.255 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) que en suelo estéril  
7 ( $0.077 \pm 0.006 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ).

8 ETU mostró una vida media de 1.51 y 28.09 h en el suelo  
9 activo y estéril, respectivamente (Cuadro 1). Esto es  
10 diferente de lo reportado en otras investigaciones, en donde  
11 se menciona que ETU tiene una vida media de 1 a 7 días  
12 (Kaufman y Fletcher, 1973; Rhodes, 1977; Miles y Doerge,  
13 1991), lo cual puede deberse a las diferentes condiciones de  
14 temperatura, humedad, e iluminación así como a las  
15 características físicas y químicas de los suelos en las que  
16 se realizaron los estudios.

#### 17 **Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en suelo**

18 En el suelo activo (DSAM) se encontró ETU desde las  
19 primeras 2 h después de la aplicación de mancozeb, mientras  
20 que en el suelo estéril (DSEM) el contenido de ETU se mantuvo  
21 cerca del límite de detección (Fig. 2). El perfil de  
22 acumulación del metabolito se puede asumir como una función  
23 de dos reacciones, la reacción de degradación de mancozeb  
24 (formación de ETU) y la reacción de degradación de ETU.

1 El contenido de ETU más alto se encontró a las 48 h  
2 ( $0.025 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en DSAM, después de esta hora, se aprecia que  
3 la degradación sobrepasó la formación de ETU. Hanumantharaju  
4 y Awasthi (2003), observaron que el contenido máximo de ETU  
5 se encontró 30 días después de la aplicación de 20 y 10 mg  
6  $\text{kg}^{-1}$  de mancozeb. Esta diferencia puede deberse a las  
7 condiciones en las que realizaron este estudio,  
8 principalmente al contenido de humedad (29% de su capacidad  
9 de campo), ya que en suelos secos el ETU es inmovilizado  
10 (Helling y Thompson, 1974).



22 **Figura 3. Formación y degradación de ETU en suelo**  
23 **(n=4) DS \* P < 0.05.**

24 En DSEM la formación de ETU fue baja, el contenido de ETU  
25 estuvo cercano al límite de detección, lo que significa que



1 los microorganismos son los principales responsables de la  
2 degradación de mancozeb en suelo y, por consiguiente, de la  
3 formación de ETU.

4 Los resultados indican que la degradación de mancozeb y  
5 ETU se lleva a cabo principalmente por vía microbiana, ya  
6 que se encontraron diferencias significativas ( $p=0.001$ ) entre  
7 los tratamientos DSAM y DSEM. Esto coincide con los  
8 resultados de otros trabajos que se realizaron bajo  
9 diferentes condiciones (Miles y Doerge, 1991; Johannesen *et*  
10 *al.*, 1996; Jacobsen y Bossi, 1997; Xu, 2000a). También es  
11 consistente con lo observado en la Fig. 1, pues el  
12 tratamiento DSAT tuvo una degradación total de ETU en menos  
13 de 24 h, mientras que en DSET el metabolito siguió siendo  
14 detectable después del mismo tiempo.

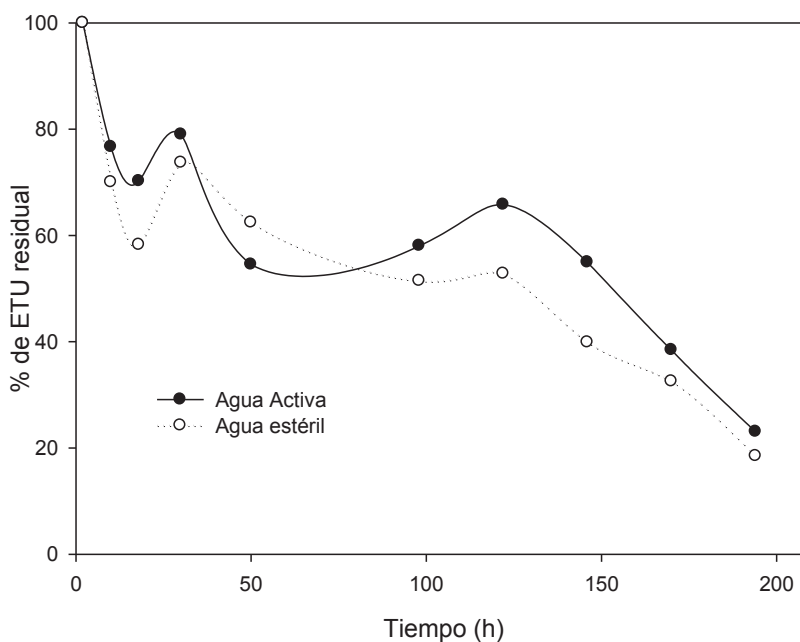
15 Además, se observó que en ambos tratamientos, en la hora  
16 120 (día 5), ETU estuvo cerca del límite de detección; esto es  
17 distinto a lo reportado por Blazquez (1973), quien encontró  
18  $0.68 \text{ mg kg}^{-1}$  y trazas de ETU en el día 13 y 27,  
19 respectivamente, después de la aplicación de mancozeb  
20 (Dithane M-45), usando una dosis de  $2.24 \text{ kg ha}^{-1}$ . También es  
21 distinto a lo encontrado por Rhodes (1977), quienes  
22 detectaron ETU en la semana 52 después de haber aplicado la  
23 dosis de maneb de  $2.24 \text{ kg ha}^{-1}$ .

#### 24 **Degradación de ETU en agua**

1 En el tratamiento con agua activa (DAAT), ETU se degradó  
2 un 23.5% en las primeras 12 h (Fig. 3), con la tasa de  
3 degradación de  $0.006 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , mientras que en el  
4 tratamiento con agua estéril (DAET), el porcentaje de  
5 degradación de ETU fue de 29.45%, con la tasa de degradación  
6 de  $0.007 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Cuadro 1).

7 Así mismo, la vida media de ETU fue de 115.5 y 99.0 h en  
8 DAAT y DAET, respectivamente (Cuadro 1); es decir, en ambos  
9 tratamientos la mitad de la concentración inicial se degradó  
10 aproximadamente en cuatro días.

11 En la Fig.3 se muestra que ETU se degradó un 76.95% en la  
12 hora 194, para el tratamiento DAAT y un 81.54% en el  
13 tratamiento DAET, siendo las concentraciones finales de 0.548  
14 y  $0.439 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.



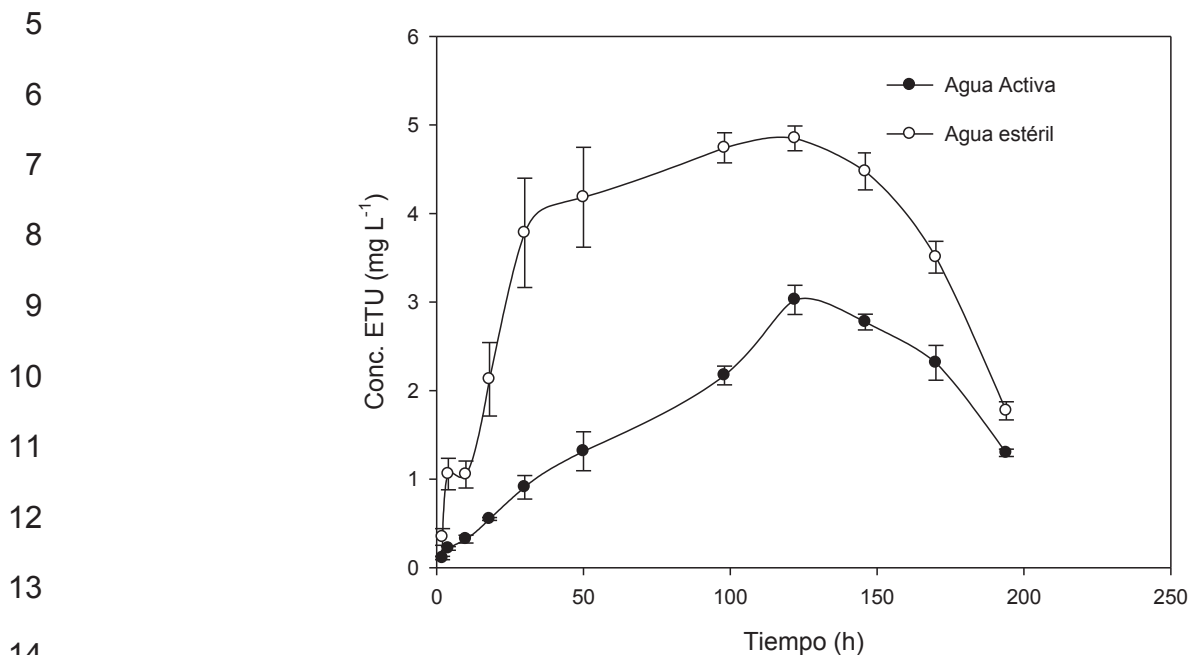
1 **Figura 3 Degradación de ETU en agua (n=3) \* P < 0.05.**

2 El ETU en agua puede ser degradado tanto por vía  
3 biológica como por vías no biológica, lo cual es reportado  
4 por varios investigadores (Ross y Crosby, 1973; Rhodes, 1977;  
5 IUPAC, 1977; Miles y Doerge, 1991; Jacobsen y Bossi, 1997).  
6 Los resultados indican que la degradación de ETU en agua no  
7 se lleva a cabo principalmente por los microorganismos, ya  
8 que no hay diferencia significativa ( $p=0.195$ ) en la  
9 degradación de ETU entre DAAT y DAET (Fig. 3), sino que la  
10 vía no biológica cobra mayor importancia en la degradación de  
11 la molécula, siendo la hidrólisis el mecanismo de degradación  
12 más probable dado que las pérdidas por volatilización y  
13 fotólisis fueron despreciables.

14 Es importante señalar que hasta el momento esta vía de  
15 degradación ha sido reportada únicamente por Xu (2000b) como  
16 una posible vía de degradación no como la principal. En otros  
17 estudios se ha considerado que la fotólisis es la vía más  
18 rápida de degradación de ETU en agua y, por lo tanto, la de  
19 mayor importancia (Ross y Crosby, 1973; Rhodes, 1977; Miles y  
20 Doerge, 1991; Jacobsen y Bossi, 1997). Sin embargo, los  
21 resultados aquí obtenidos muestran que en ausencia de algún  
22 tipo de luz, la hidrólisis es la vía de degradación de ETU  
23 más importante.

24 **Formación y degradación de ETU a partir de mancozeb en agua**

1 La acumulación de ETU en agua, originada por mancozeb,  
2 con respecto al tiempo está dada por dos reacciones, la  
3 reacción de degradación de mancozeb (producción de ETU) y la  
4 reacción de degradación de ETU (Fig. 4).



15 **Figura 4 Formación y degradación de ETU en agua (n=4)**

16 \* P < 0.05.

17 ETU fue detectado desde las primeras 2 h, encontrándose  
18 concentraciones de 0.10 y 0.35 mg L<sup>-1</sup> en agua activa (DAAM) y  
19 agua estéril (DAEM), respectivamente. En ambos tratamientos  
20 las concentraciones máximas de ETU fueron detectadas en la  
21 hora 122, con valores de 3.02 mg L<sup>-1</sup> en DAAM y 4.48 mg L<sup>-1</sup> en  
22 DAEM.

23 Se observa también que en el tratamiento DAAM la  
24 acumulación de ETU fue significativamente menor que en DAEM

1 ( $p=0.001$ ). Probablemente, el mancozeb fue degradado rápida y  
2 principalmente por una vía no biológica (hidrólisis) en ambos  
3 tratamientos, pero posiblemente en DAAM, el ETU producido de  
4 mancozeb fue aprovechado como fuente de carbono por los  
5 microorganismos, por ser una molécula menos compleja, lo cual  
6 contribuyó a encontrar concentraciones menores de ETU,  
7 mientras que en el tratamiento DAEM la acumulación de ETU es  
8 mayor debido a la ausencia de microorganismos; ya que la  
9 tendencia de formación y degradación de ETU es la misma en  
10 ambos tratamiento (Fig. 5).

11 A partir de la hora 122 la reacción de degradación de ETU  
12 supera a la de formación. Esta reacción se dio principalmente  
13 por vía química y en menor grado por vía biológica (Fig. 5);  
14 esto coincide con los resultados observados en la degradación  
15 de ETU estándar (Fig. 3), lo que sugiere que la vía de  
16 degradación de mayor importancia del ETU en ausencia de luz,  
17 en medio acuoso, es la hidrólisis.

18 Los resultados muestran que ETU fue encontrado en agua  
19 después de siete días. Esto indica que si la concentración de  
20  $20.8 \text{ mg kg}^{-1}$  de mancozeb (basada en la dosis de campo) llegara  
21 totalmente al agua, el ETU se podría acumular debido a que en  
22 campo se realiza una aspersion semanal. Melgar *et al.* (2008)  
23 hallaron concentraciones de ETU dentro y cerca de una  
24 plantación de banano de  $10.6$ ,  $13.8$  y  $5.93 \text{ mg L}^{-1}$  en un dren

1   primario, un dren secundario y en un arroyo, respectivamente.  
2   Parece poco probable que esta alta concentración de ETU haya  
3   ocurrido por el movimiento del metabolito a través del suelo,  
4   ya que según lo encontrado en este estudio, el ETU se degrada  
5   rápidamente en el suelo. Por lo tanto, ETU muy probablemente  
6   llegue a los cuerpos de agua por otras rutas, como puede ser  
7   el vertido de aguas usadas para el lavado de los recipientes  
8   contenedores de la solución de mancozeb, la deposición  
9   directa o derrame del fungicida en el agua, o debido al  
10  transporte de las partículas de ETU por el viento, ya que las  
11  aspersiones se hacen vía aérea.

## 12   **Conclusiones**

13       Este estudio muestra que bajo condiciones de una zona  
14  tropical, es poco probable que el ETU, formado a partir de  
15  mancozeb, se acumule en suelo ya que se degrada,  
16  principalmente por vía microbiana, en un tiempo menor a siete  
17  días. En agua, el metabolito se degrada en un tiempo mayor a  
18  7 días y principalmente por hidrólisis por lo que podría  
19  representar un riesgo de contaminación para los cuerpos de  
20  agua.

## 21   **Referencias**

22  Blazquez   C.   H.   1973.   Residue   determination   of  
23       ethylenethiourea   (2-Imidazolidinethione)   from   tomato  
24       foliage, soil and water. J. Agric. Food Chem. 21: 330-332.

1 Hanumantharaju T H, Awasthi M D. 2003. Studies on the Fate of  
2 Fungicides in Different Soil Environments. Journal of the  
3 Indian. Soil Sci. Soc., 51: 528-534.

4 Hedenstedt A, Rannug U, Lamel C, Wachtmeister C A.  
5 1979. Mutagenicity and metabolism studies on 12 thiram and  
6 dithiocarbamate compounds accelerators in the Swedish  
7 rubber industry. Mutat Res, 68:313-318.

8 Helling C S, Thompson S M. 1974. Division S-3 - soil  
9 microbiology and biochemistry, azide and ethylenethiourea  
10 mobility in soils. Soil. Sci. Soc. Amer. Proc., 38: 80-85.

11 International Union of Pure and Applied Chemistry. 1977.  
12 Ethylenethiourea Pure & Appl. Chem. 49: 675-689.

13 Jacobsen O S, Bossi R. 1997. Degradation of ethylenethiourea  
14 (ETU) in oxic and anoxic sandy aquifer., FEMS Micro. Rev.,  
15 20: 539-544.

16 Johannesen H, Nielsen A B, Helweg A, Fomsgaard I S. 1996.  
17 Degradation of [14C]ethylenethiourea in surface and  
18 subsurface soil. The Science of the Total Environmental,  
19 191: 271-276.

20 Kaufman D D, Fletcher C L. 1973. Ethylenethiourea degradation  
21 in soil. Proceedings of the Second International Congress  
22 on Plant Pathology, Minneapolis, Minnesota, Abstract No.  
23 1018.

24 Melgar C, Geissen V, Cram S, Sokolov M, Bastidas P, Ruiz

1 Suárez L E, Qué Ramos F J, Jarquín Sánchez A. 2008.  
2 Pollutants in drainage channels following long-term  
3 application of Mancozeb to banana plantations in  
4 Southeastern Mexico. Journal of Plant Nutrition and Soil  
5 Science. 25p.

6 Miles C J, Doerge R. 1991. Fate of ethylenethiourea in  
7 Hawaiian soil and water. J. Agric. Food Chem., 39: 214-  
8 217.

9 Padgett E L, Barnes D B, Pruett S B.1992. Disparate effects  
10 of representative dithiocarbamates on selected  
11 immunological parameters in vivo and cell survival in  
12 vitro in female B6C3F1 mice. J Toxicol Environ Health,  
13 37:559-571.

14 Rhodes C R. 1977. Studies with manganese  
15 [14C]ethylenebis(dithiocarbamate) ([14C]mancozeb)  
16 fungicide and [14C]ethylenethiourea ([14C]ETU) in plants,  
17 soil and water, J. Agric. Food Chem., 25: 528-533.

18 Ross R D, Crosby D G. 1973. Photolysis of ethylenethiourea. J.  
19 Agric. Food Chem., 21: 335-337.

20 Xu, S. 2000b. Environmental fate of ethylenethiourea.  
21 California departament of pesticide regulation. 10p.

22