

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluable y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU).
Resolución N° 1178/11. Calificación "B".

***Evaluación de estrategias de disminución del impacto provocado por la
utilización de plaguicidas y plásticos en sistemas productivos hortícolas***

Trabajo de tesis para optar por el título de Doctor en Ciencia y Tecnología de la Universidad
Nacional de General Sarmiento

Autora: **Prof. Giselle Anahí Berenstein**

Director: Dr. Javier M. Montserrat

Codirector: Mg. Enrique A. Hughes

Fecha: Marzo de 2018

APORTES ORIGINALES

Una de las desventajas principales del uso de los plaguicidas es el efecto negativo sobre la salud humana. Específicamente el estudio de la exposición ocupacional asociada a la manipulación de los plaguicidas es sumamente importante. En este trabajo de tesis doctoral se estudió la influencia del tipo de formulación sobre la Exposición Manual Potencial durante las etapas de mezcla y carga (Sección 4.1). Si bien existen investigaciones que abordan la influencia del tipo de formulación en la absorción dérmica, no se han encontrado trabajos de investigación en los que se estudie de manera cuantitativa los factores que modulan el riesgo de exposición asociado a la manipulación de los plaguicidas. En esta investigación se realizaron mediciones en condiciones reales de trabajo y en condiciones controladas en el laboratorio para entender dicho fenómeno. Es interesante destacar que el color, la ruptura del sello de aluminio de la botella y el tipo de formulación (sólida o líquida) fueron factores importantes que influyeron en la contaminación de las manos.

Además se estudió la Exposición Dérmica Potencial de los trabajadores y la deriva ocasionada por aplicaciones mecanizadas de plaguicidas en huertos de durazneros. Si bien existe abundante bibliografía sobre el tema, los resultados que se muestran en la Sección 4.2 de esta tesis, permiten tener más información que podría servir para el desarrollo de modelos de predicción más específicos, con estimadores, sobre el riesgo ecotoxicológico que las aplicaciones mecanizadas de plaguicidas implican.

En cuanto al impacto del uso de plásticos en la horticultura, no se han encontrado trabajos de investigación, en nuestro país, en los que se estudien los factores que modulan la migración de los ésteres ftálicos desde las cubiertas plásticas, usadas en horticultura, hacia el ambiente. En países como China, dado que la mayoría de las cubiertas plásticas son de cloruro de polivinilo (PVC) la presencia de los ftalatos en el mulching utilizado en agricultura y los suelos es un tema muy abordado. Sin embargo, en dichas investigaciones se profundiza en la cuantificación de los ftalatos en cada matriz y no se estudian de forma cuantitativa las variables o causas que podrían influir en el proceso de migración de los mismos desde los plásticos hacia el ambiente. En tal sentido, en este trabajo de tesis se hicieron ensayos para determinar la influencia de la temperatura, estructura química de los ftalatos, espesor y el grado de solarización de las películas plásticas en la migración de estos contaminantes (Sección 4.3).

La información obtenida en esta investigación es una aproximación para entender el impacto de los plaguicidas y el uso de los plásticos, tanto sobre los trabajadores como en el ambiente.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

PUBLICACIONES:

Parte del trabajo de esta tesis doctoral ha sido publicado en los siguientes artículos:

- Berenstein, G., Nasello, S., Beiguel, E., Flores, P., Di Schiena, J., Basack, S., Hughes, E.A, Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2017). Human and soil exposure during mechanical chlorpyrifos, myclobutanil and copper oxychloride application in a peach orchard in Argentina. *Science of the Total Environment*, 586, 1254–1262.
- Ramos, L., Berenstein, G., Hughes, E. A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2015). Polyethylene film incorporation into the horticultural soil of small periurban production units in Argentina. *Science of the Total Environment*, 523, 74–81.
- Berenstein, G., Hughes, E., March, H., Rojic, G., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2014). Pesticide potential dermal exposure during the manipulation of concentrated mixtures at small horticultural and floricultural production units in Argentina: The formulation effect. *Science of the total Environment* 472, 509-516.
- Flores, A. P., Berenstein, G. A., Hughes, E. A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2011). Pesticide risk assessment in flower greenhouses in Argentina: The importance of manipulating concentrated products. *Journal of Hazardous Materials*, 189, 222–228.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a todos los que hicieron que esta tesis fuese posible, brindándome su cariño, conocimientos y apoyo constante día a día.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) por otorgarme una beca doctoral para poder llevar a cabo esta tesis.

A la Universidad Nacional de General Sarmiento por brindarme el espacio para realizar mi investigación.

Al Dr. Javier Montserrat y el Mg. Enrique Hughes por abrirme las puertas del laboratorio para enseñarme tanto. Estoy infinitamente agradecida por la ayuda, dedicación, entusiasmo y paciencia que me tuvieron en todos estos años. Realmente disfruté mucho aprender con ustedes.

A Henry, gracias por enseñarme a pensar en voz alta. Gracias por contagiarme esa fascinación por los cromatógrafos. Fue muy lindo compartir días de enojo y alegría tratando de resolver los caprichos de estos equipos. Aprendí mucho, ¡gracias!

A Hugo March y Guillermo Rojic de Agrofina por su colaboración en el preparado de las formulaciones en polvo y granuladas.

Al Instituto Municipal de Desarrollo Económico Local (IMDEL) de Moreno por el contacto con los horticultores de la zona.

A Mariel Mitidieri y la gente de la Estación Experimental Agropecuaria INTA San Pedro por el contacto con los productores locales de duraznos. Gracias por la buena voluntad y disposición para trabajar en conjunto.

A Sole, mi compañera incondicional de ruta en el laboratorio 204C, gracias por las horas compartidas en el labo aprendiendo juntas a hacer esto que

se llama “investigar”. Gracias por tu ayuda con los experimentos y gracias por aguantar mis caras de felicidad y mis caras de enojo cuando los ensayos no salían. Gracias por estar siempre.

A Belén por tu ayuda con los RMN y el resumen. Gracias por las charlas en el 204 C y por alentarme siempre. ¡Gracias por tu amistad!

A Daiana y Carmen, gracias por la ayuda con las derivatizaciones. Gracias Daiana por tu amistad y consejos.

A Ana Vullo y Julia Casetti por su paciencia infinita para ayudarme con el análisis estadístico de mis datos.

A la Dra. Silvana Basack por su aliento constante y su ayuda ante cualquier duda que pudiese tener.

A mis compañeros, investigadores docentes y técnicas del área de química de la UNGS, gracias por las experiencias compartidas. Gracias por los mates, dudas intercambiadas y por toda la ayuda en las salidas a campo.

A toda mi familia por estar y brindarme tanto cariño siempre. Gracias Mamá, Papá, Abue, Naly, José, Fede, Benja y Fabri, ¡los quiero!

A mi Mamá por brindarme su apoyo incondicional para seguir estudiando, por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A Mati por alentarme a seguir un doctorado, por estar ahí para escuchar mis resultados, alegrías y frustraciones. Gracias por tenerme tanta paciencia con todo. Gracias por transmitirme tanta calma. Realmente esto hubiese sido más difícil sin vos.

ABREVIATURAS

EMP	Exposición Manual Potencial
EDP	Exposición Dérmica Potencial
MOS	Margen de Seguridad
RIIs	Indicadores de Riesgo para residentes directos e indirectos
PAEs	Ésteres ftálicos (en inglés: Phtalic acid esters)
DEHP	bis-2-etilhexil-ftalato
DMP	dimetilftalato
DBP	dibutilftalato
UV-Vis	Ultravioleta-visible
GC	Cromatografía gaseosa
GC – FID	Cromatografía gaseosa con un detector de ionización de llama
GC – ECD	Cromatografía gaseosa con un detector de captura de electrones
GC – MS	Cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas

RESUMEN

La actividad agropecuaria, y en particular la hortícola, se encuentra entre las actividades económicas más importantes de la Argentina. Específicamente la horticultura puede desarrollarse en pequeñas unidades productivas ubicadas en zonas periurbanas, fuertemente dependientes del trabajo manual y con una intensa utilización de productos fitosanitarios y cubiertas plásticas. En relación con este último punto, este trabajo de tesis doctoral tiene como objetivo estudiar el impacto que estas dos tecnologías, los plaguicidas y los plásticos, tienen sobre el ambiente. Para ello se realizaron ensayos de campo y a escala de laboratorio con la intención de entender la dinámica de la distribución de los plaguicidas y otros contaminantes emergentes, como por ejemplo los ésteres ftálicos sobre el ambiente. De esta forma, la tesis se dividió fundamentalmente en dos partes.

En la primera se estudiaron los factores que modulan la Exposición Manual Potencial (EMP) en la instancia de preparación, en mochila, de los caldos de aplicación de productos fitosanitarios. Para ello se hicieron ensayos a escala de laboratorio con sucedáneos o sustitutos de plaguicida de distinta formulación (líquida incolora /con color, polvo y granulado) y se estudió, en condiciones reales de campo, la EMP. Se calculó el Margen de Seguridad (MOS) para los ensayos en campo. También se realizó un estudio del impacto de la utilización de productos fitosanitarios sobre los trabajadores durante aplicaciones con pulverizadoras mecanizadas. Para dichos ensayos se determinaron experimentalmente la Exposición Dérmica Potencial (EDP) y el MOS. Además, para las aplicaciones mecanizadas, se calcularon estimadores de riesgo ambiental para residentes permanentes y ocasionales que pudiesen estar en las zonas aledañas a los campos rociados.

En la segunda parte, se estudió el impacto de la utilización de coberturas plásticas (por ejemplo: film de polietileno para construcción de invernaderos y mulching) en la horticultura. Se sabe que éstos podrían actuar como sumideros y/o potenciales fuentes de transferencia de plaguicidas, así como también de aditivos plásticos, como los ésteres ftálicos. En particular, se estudiaron las variables que influyen en el proceso de migración de los PAEs desde los plásticos hacia el suelo y atmósfera. Para ello, se hicieron ensayos en microcosmos donde se estudiaron como variables críticas la temperatura, el espesor y el grado de solarización de las películas plásticas. Además se recolectaron muestras de distintos tipos de plásticos en uso, en desuso (acumulados en el campo) y nuevos, con el fin de determinar su contenido de PAEs.

Los resultados de la primer parte de esta tesis indicaron que la exposición manual en condiciones de campo, usando formulaciones líquidas fue entre 22 y 62 veces mayor que la de las

sólidas. El mecanismo de exposición se estudió para las formulaciones líquidas en condiciones de laboratorio, encontrando que la ruptura del sello de aluminio de la botella de plaguicida y el color de la formulación son factores importantes.

También se midió el impacto de los plaguicidas sobre el suelo y los residentes luego de la aplicación mecanizada de clorpirifós, oxiclورو de cobre y miclobutanil en un pequeño huerto de durazneros. Los valores de EDP para los trabajadores luego de realizar las aplicaciones fueron menores que los valores reportados de EDP para aplicaciones manuales. Además no se encontró un patrón específico de distribución de los plaguicidas sobre el cuerpo de los aplicadores. Si bien se demostró que la mayor exposición de los trabajadores ocurre durante las etapas de mezcla/carga, los efectos fuera de campo en las personas que viven en zonas aledañas a los terrenos rociados, se deben a la deriva de los plaguicidas. En esta investigación se encontró una deriva promedio del $4,9 \pm 1,7$ % respecto al total aplicado, hasta los 80 m del borde la parcela tratada. De acuerdo a los Indicadores de Riesgo (RIs) calculados, se necesitan al menos, zonas de amortiguación de 48 m de distancia desde la parcela rociada para que los residentes estén en condiciones seguras luego de la aplicación de clorpirifós con oxiclورو de cobre en las condiciones ensayadas. En el caso del miclobutanil todos los RIs calculados indicaron condiciones seguras.

En cuanto a los factores que modulan la migración de los ésteres ftálicos, se determinó que la temperatura y el espesor de las películas plásticas son los más importantes. Además, dicho fenómeno parece depender de la estructura química del éster ftálico (PAE). En cuanto a este último aspecto, el bis-2-etilhexilftalato (DEHP), el plastificante más utilizado, es el que tiene menos tendencia a migrar desde la superficie del mulching o film de polietileno hacia la atmósfera y los suelos. El dimetilftalato (DMP) y el dibutilftalato (DBP) migran más rápido en las mismas condiciones. Además, se encontraron PAEs en algunas muestras de plásticos vírgenes, en uso y abandonadas en los predios productivos de la zona de Moreno. Específicamente, se encontraron DBP, DEHP, diisobutilftalato (DIBP) y bis (2-etilhexil) adipato (DEHA).

En conclusión, en este trabajo de investigación se demostró que tanto los plaguicidas como los ésteres ftálicos presentes en las películas plásticas utilizadas en la agricultura pueden tener un efecto significativo sobre los propios trabajadores y sobre el suelo productivo. El estudio de los mecanismos de exposición, migración y deriva constituye una herramienta útil al momento de pensar estrategias para disminuir el impacto de este tipo de sustancias en el ambiente.

Palabras clave: Plaguicidas, exposición dérmica potencial, mulching, ésteres ftálicos.

INDICE

APORTES ORIGINALES	2
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	3
AGRADECIMIENTOS	4
ABREVIATURAS	6
RESUMEN	7
INDICE	9
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1. Uso de plaguicidas en el sector hortícola en el periurbano bonaerense	16
1.2. Los productos fitosanitarios	18
1.2.1. Definición	18
1.2.2. Propiedades físico-químicas de los plaguicidas.....	19
1.2.3. Clasificación de los plaguicidas	20
1.2.3.1. Según su peligrosidad.....	20
1.2.3.2. Según su blanco biológico.....	21
1.2.3.3. Según su familia química y modo de acción	21
1.2.3.4. Insecticidas organodorados.....	22
1.2.3.5. Insecticidas organofosforados.....	24
1.2.3.6. Insecticidas tipo carbamatos.....	25
1.2.3.7. Insecticidas tipo piretroides.....	25
1.2.3.8. Herbicidas	26
1.2.3.9. Fungicidas.....	28
1.2.4. Presentación de los plaguicidas.....	29
1.2.4.1. Formulaciones líquidas.....	30
1.2.4.2. Formulaciones sólidas	31
1.2.5. Plaguicidas utilizados en los ensayos	32
1.2.5.1. Procimidone	32
1.2.5.2. Clorpirifós.....	33
1.2.5.3. Miclobutanil	34
1.2.5.4. Oxicloruro de Cobre	35
1.2.6. Indicadores de exposición y seguridad.....	36

1.2.6.1.	Exposición dérmica potencial.....	36
1.2.6.2.	Exposición manual potencial.....	39
1.2.6.3.	Estimación de indicadores de riesgo.....	39
1.2.6.4.	Margen de Seguridad	40
1.2.6.5.	Factores que afectan a la EDP o el MOS.....	41
1.2.6.6.	Deriva.....	42
1.2.6.7.	Indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos	43
1.2.7.	Marco legal argentino sobre el uso de plaguicidas.....	44
1.3.	Las cubiertas plásticas en la agricultura	47
1.3.1.	Usos y propiedades del mulching en la agricultura: una tecnología en expansión	47
1.3.2.	Destino ambiental del mulching y sus aditivos.....	49
1.4.	Los ésteres ftálicos.....	52
1.4.1.	Propiedades físico-químicas de los ésteres ftálicos.....	53
1.4.2.	El mulching y los ésteres ftálicos	55
2.	OBJETIVOS	58
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	60
3.1.	Reactivos y materiales de uso general en el laboratorio.....	60
3.2.	Equipos e instrumentos utilizados	61
3.3.	Sitios de muestreo.....	62
3.4.	EXPOSICIÓN MANUAL POTENCIAL DURANTE LA MANIPULACIÓN DE DISTINTOS FORMULADOS EN HUERTAS EN ARGENTINA.....	63
3.4.1.	Reactivos y materiales	63
3.4.2.	Plaguicida utilizado.....	63
3.4.3.	Sitios de realización de ensayos en campo.....	63
3.4.4.	Metodología para determinar la exposición manual potencial	64
3.4.4.1.	Dispositivos utilizados para realizar las mediciones.....	64
3.4.4.2.	Sucedáneos de plaguicida utilizados en ensayos en laboratorio	65
3.4.4.3.	EMP en la etapa de mezcla y carga en campo	66
3.4.4.4.	EMP en la etapa de mezcla y carga en condiciones de laboratorio.....	66
3.4.5.	Preparación de sucedáneos de plaguicida.....	68
3.4.5.1.	Formulaciones sólidas	68
3.4.5.2.	Formulaciones líquidas.....	69

3.4.6.	Hisopado de botellas de plaguicidas encontradas en las huertas	69
3.4.7.	Análisis en el laboratorio.....	70
3.4.7.1.	Muestras con plaguicidas reales de los ensayos a campo.....	70
3.4.7.2.	Muestras de los ensayos realizados a escala de laboratorio con Azul Brillante	71
3.4.7.3.	Muestras de los ensayos realizados a escala de laboratorio con fenolftaleína	71
3.4.8.	Metodología: Estimación de riesgo EMP y MOS.....	71
3.4.9.	Método cromatográfico para el análisis de los guantes de campo e hisopados.....	72
3.4.10.	Parámetros de validación del método cromatográfico.....	73
3.4.10.1.	Estabilidad de los plaguicidas en los paños de algodón.....	73
3.4.10.2.	Rango de respuesta lineal.....	73
3.4.10.3.	Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)	74
3.4.10.4.	Recuperación.....	74
3.4.10.5.	Resolución.....	75
3.4.11.	Parámetros de validación del método espectrofotométrico.....	75
3.4.11.1.	Rango de respuesta lineal.....	75
3.4.11.2.	Límite de detección y límite de cuantificación.....	77
3.4.11.3.	Recuperación.....	77
3.5.	EXPOSICIÓN DÉRMICA POTENCIAL DURANTE APLICACIONES MECANIZADAS DE PLAGUICIDAS... ..	78
3.5.1.	Reactivos y materiales	78
3.5.2.	Plaguicidas utilizados en los ensayos a campo.....	78
3.5.3.	Sitios de realización de ensayos a campo	79
3.5.4.	Exposición dérmica potencial.....	81
3.5.4.1.	Traje muestreador	81
3.5.5.	Mediciones de deriva y plaguicida en suelos blanco	82
3.5.6.	Análisis en el laboratorio.....	84
3.5.7.	Estimación de la EDP	85
3.5.8.	Estimación del Margen de Seguridad.....	86
3.5.9.	Cantidad de plaguicida en los suelos donde se realizó la aplicación	86
3.5.10.	Cálculos de deriva	86
3.5.11.	Estimación de los indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos.....	87
3.5.12.	Método cromatográfico.....	87

3.5.13.	Parámetros de validación del método cromatográfico.....	88
3.5.13.1.	Rango lineal.....	88
3.5.13.2.	Límite de detección y límite de cuantificación.....	90
3.5.13.3.	Recuperación.....	90
3.5.13.4.	Resolución.....	90
3.5.13.5.	Precisión intermedia	91
3.6.	ÉSTERES FTÁLICOS.....	92
3.6.1.	Protocolo de limpieza de reactivos y materiales previo a su uso.....	92
3.6.2.	Sitios de realización de ensayos a campo	92
3.6.3.	Metodología para el muestreo de películas plásticas y suelo en los ensayos a campo .	93
3.6.3.1.	Muestreo de películas plásticas vírgenes	93
3.6.3.2.	Muestreo películas plásticas en uso y abandonadas en los predios productivos..	93
3.6.3.3.	Muestreo de suelos en contacto directo con las películas plásticas	95
3.6.4.	Análisis en el laboratorio de las muestras de suelo y cubiertas plásticas	96
3.6.4.1.	Extracción de PAEs de muestras de suelo y cubiertas plásticas.....	96
3.6.4.2.	Blancos de extracción.....	96
3.6.5.	Determinación de PAEs por la técnica de derivatización con cloruro de 2-cloroetilamonio.....	97
3.6.5.1.	Método de derivatización de PAEs con cloruro de 2-cloroetilamonio	98
3.6.5.2.	Blancos de derivatización	98
3.6.6.	Metodología para determinar PAEs en las películas plásticas por GC-MS.....	98
3.6.7.	Estudio de la migración de ésteres ftálicos en películas plásticas agrícolas.....	99
3.6.7.1.	Esteres ftálicos utilizados en los ensayos de migración	99
3.6.7.2.	Dispositivo experimental utilizado en los ensayos de migración.....	99
3.6.7.3.	Ensayos de migración con film de PVC.....	102
3.6.7.4.	Extracción de los PAEs de cada matriz del microcosmos	102
3.6.8.	Métodos cromatográficos.....	103
3.6.8.1.	Determinación de PAEs por GC-ECD.....	103
3.6.8.2.	Determinación de PAEs por GC-MS	103
3.6.8.3.	Determinación de PAEs por GC-FID	104
3.6.9.	Parámetros de validación de los métodos cromatográficos.....	105
3.6.9.1.	Determinación de PAEs por GC-ECD.....	105

3.6.9.2.	Determinación de PAEs por GC-FID	110
3.6.9.3.	Determinación de PAEs por GC-MS	115
3.7.	Análisis estadístico	116
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	119
4.1.	EXPOSICIÓN MANUAL POTENCIAL DURANTE LA MANIPULACIÓN DE DISTINTOS FORMULADOS EN HUERTAS EN ARGENTINA.....	119
4.1.1.	Exposición Manual Potencial de horticultores y floricultores.....	119
4.1.2.	Determinaciones de EMP para ensayos a escala de laboratorio.....	123
4.1.2.1.	EMP para formulaciones sólidas.....	123
4.1.2.2.	EMP para formulaciones líquidas: la influencia del sello de aluminio.....	124
4.1.2.3.	EMP para formulaciones líquidas: la influencia del tamaño de la botella.....	126
4.1.2.4.	EMP para formulaciones líquidas: la influencia del dispositivo de medición	126
4.1.2.5.	EMP para formulaciones líquidas: la influencia del color.....	126
4.1.2.6.	Precisión y exactitud de los dispositivos de medición	127
4.1.2.7.	Diferencias entre los ensayos realizados en campo y laboratorio	128
4.1.3.	Conclusiones Preliminares	130
4.2.	EXPOSICIÓN DÉRMICA POTENCIAL DURANTE APLICACIONES MECANIZADAS DE PLAGUICIDAS... ..	132
4.2.1.	EDP y MOS.....	132
4.2.2.	Resultados de deriva y plaguicida en suelos	136
4.2.3.	Indicadores de riesgo.....	139
4.2.4.	Conclusiones Preliminares	141
4.3.	ÉSTERES FTÁLICOS.....	142
4.3.1.	Concentración de PAEs en distintos tipos de cubiertas plásticas por GC-ECD.....	142
4.3.2.	Concentración de PAEs en suelos por GC-ECD.....	144
4.3.3.	Determinación de PAEs en las películas plásticas por GC-MS.....	145
4.3.4.	Estudio de la migración de ésteres ftálicos en películas plásticas agrícolas en diferentes condiciones de: temperatura, espesor y grado de solarización del film.....	149
4.3.4.1.	Efecto de la temperatura en la migración	150
4.3.4.2.	Efecto del espesor y de la solarización de la película plástica en la migración....	164
4.3.4.3.	Influencia del analito en el proceso de migración.....	167
4.3.5.	Estudio de la migración de DEHP en films de PVC.....	168

4.3.6.	Conclusiones Preliminares	171
5.	CONCLUSIONES GENERALES Y PROYECCIONES A FUTURO	175
5.1.	La influencia del formulado en la EMP	175
5.2.	EDP e indicadores de riesgo para aplicaciones con pulverizadoras	176
5.3.	Las cubiertas plásticas y los ésteres ftálicos.....	177
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	180
7.	ANEXOS	196
7.1.	Espectros de RMN - 500 MHz de la <i>N</i> -(2-cloroetil) ftalimida.....	196
7.2.	Resultados cromatográficos obtenidos por GC-MS.....	197
7.3.	Cinéticas de migración.....	201
7.3.1.	DMP	201
7.3.2.	DBP	202
7.3.3.	DEHP	203
7.4.	Tratamiento estadístico de los resultados.....	205
7.4.1.	Influencia del tipo de actividad y la formulación en la EMP	205
7.4.2.	EMP para ensayos realizados a escala de laboratorio.....	205
7.4.2.1.	Influencia del sello de aluminio en el % EMP.....	205
7.4.2.2.	Influencia del tamaño de la botella en el % EMP	207
7.4.2.3.	Influencia del dispositivo de medición el % EMP	208
7.4.2.4.	Influencia del color en el % EMP.....	208
7.4.3.	Efecto de la temperatura en la migración de los PAEs.....	210
7.4.3.1.	DMP	210
7.4.3.2.	DBP	211
7.4.3.3.	DEHP	212
7.4.4.	Efecto del espesor y la solarización del PE interno en la migración de los PAEs.....	213
7.4.4.1.	DMP	213
7.4.4.2.	DBP	215
7.4.5.	Migración de los PAEs en el tiempo para cada ensayo	216
7.4.5.1.	DMP	216
7.4.5.2.	DBP	220
7.4.5.3.	DEHP	224

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Uso de plaguicidas en el sector hortícola en el periurbano bonaerense

La agricultura argentina abarca desde cultivos extensivos y tecnológicamente desarrollados (como la soja, el trigo y el maíz) hasta la producción de hortalizas y frutas en invernaderos y huertos con baja tecnología y fuerte dependencia de mano de obra (Cabrini y Calcaterra, 2016). La horticultura periurbana localizada en el segundo cordón del Gran Buenos Aires (GBA) cumple un rol fundamental en el abastecimiento de frutas y verduras de la ciudad de Buenos Aires y su cordón metropolitano. Esta localización de cinturones frutihortícolas se repite en otras grandes ciudades de Argentina, como La Plata, Santa Fe y Mendoza. En general la actividad hortícola es desarrollada por pequeños productores en huertas usualmente inferiores a cinco hectáreas, con bajo grado de tecnificación y recursos humanos con un alto componente inmigratorio. La intensidad de la producción, impulsada por la demanda metropolitana, promueve la utilización de grandes cantidades de productos fitosanitarios (plaguicidas), en particular herbicidas, insecticidas y fungicidas. Esto provoca que la exposición de los aplicadores en general sea considerable, dependiendo de factores como la experiencia del aplicador (Hughes et al., 2006) y la geometría del cultivo (Hughes et al., 2008). Es así que uno de los efectos negativos del uso de plaguicidas es su potencial impacto adverso sobre la salud humana. Con respecto a este punto, es sabido que los propios aplicadores hortícolas se encuentran entre la población de riesgo (Matthews, 2008; Tomenson y Matthews, 2009). La mayoría de las intoxicaciones por uso de plaguicidas ocurren en países en desarrollo debido a la falta de normas de seguridad, uso mínimo de protección personal, etiquetado deficiente y falta de información (Lesmes-Fabián et al., 2012).

En un estudio hecho sobre 6300 casos con aplicadores manuales en 24 países diferentes, se encontró que 1,2 % de los trabajadores tuvieron incidentes serios (con hospitalización) relacionados con agroquímicos, mientras que el 5,2 % del total de los usuarios tuvieron algún incidente que requirió intervención médica (Tomenson y Matthews, 2009). En otro estudio donde se analizó la actitud y el comportamiento de 8500 trabajadores en relación con el uso de plaguicidas en 26 diferentes países, se pudo establecer que el 50 % de los trabajadores no usaban guantes de protección durante la etapa de mezcla y carga (Matthews, 2008), tal vez como consecuencia de factores de stress climático como la humedad y la temperatura (Park, Hannaford-Turner y Lee, 2009). En este mismo sentido en un estudio realizado en Filipinas, se señala que al menos el 31,8 % de los

horticultores encuestados experimentaron salpicaduras de producto formulado sobre sus manos (Lu, 2009).

Centrándonos en la Argentina, el riesgo de exposición a plaguicidas es particularmente importante tanto en pequeñas producciones hortícolas (Ramos et al., 2010) como florícolas (Flores et al., 2011) en los alrededores de Buenos Aires. A pesar de las mejoras en el proceso de registro argentino de productos fitosanitarios, no se han logrado avances en el desarrollo de escenarios de riesgo humano y ambiental que impliquen el uso de plaguicidas bajo diferentes condiciones. Esta cuestión es particularmente relevante en las pequeñas unidades de producción en las que el riesgo a la exposición a plaguicidas es vagamente percibido por los trabajadores (Damalas y Abdollahzadeh, 2016). Por tal motivo, resulta de especial interés conocer las dinámicas de trabajo en cuanto a la identificación de las plagas, la posterior elección y uso de un producto fitosanitario adecuado. En las encuestas realizadas a los pequeños y medianos productores hortícolas, en el Censo Hortícola Florícola de Buenos Aires del 2005 (CHFBA - Dirección Provincial de Estadística, 2005) se determinó que la mayoría de los huerteros reconoce las enfermedades de los cultivos por experiencia y luego elige un producto fitosanitario gracias al asesoramiento técnico del proveedor local de plaguicidas (Flores, 2013). En cuanto a la dosificación de los mismos, los resultados del censo informan que siguen las indicaciones de los marbetes o bien consultan con el proveedor de insumos (CHFBA 2005). Una vez adquirido el producto, éstos suelen almacenarse en condiciones precarias, al alcance de cualquier persona junto a otras herramientas.

En las salidas a campo realizadas a la zona de Cuartel V del Municipio de Moreno, Provincia de Buenos Aires, se observó que los huerteros suelen almacenar los productos fitosanitarios dentro de cubiertas usadas de auto, tapadas con una chapa rudimentaria a la interperie. En cuanto al uso de los mismos, se observó que la mayoría de los trabajadores no emplearon elementos de protección personal (guantes, máscara, trajes, etc.) en la instancia de preparación y mezcla del caldo. En la aplicación se registró solamente el uso de antiparras pero no de trajes de protección, guantes o semimáscaras. La falta de hábito en el uso de accesorios de protección personal en la etapa de mezcla y aplicación así como también la forma de almacenamiento de los plaguicidas incrementa la probabilidad del contacto de los mismos con la piel de los trabajadores. En este sentido las recomendaciones de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA, 2007) aconsejan no solo el uso de los equipos de protección sino la adecuación de los mismos en función de las condiciones ambientales de trabajo locales (Flores, 2013).

1.2. Los productos fitosanitarios

1.2.1. Definición

La preocupación del hombre por atacar plagas y enfermedades que afectan a distintos cultivos es un hecho que se da desde tiempos remotos. El uso de los productos fitosanitarios está asociado al aumento del rendimiento productivo por medio de la reducción de las plagas (Aparicio et al., 2015). Los primeros productos eran minerales obtenidos de la naturaleza, como el azufre, arsénico y compuestos de cobre o bien eran compuestos de origen vegetal como la nicotina y el piretro (ArgenBio, ASA, CASAFE, 2013). También existen productos fitosanitarios de origen biológico constituidos por microorganismos o productos sintetizados por los mismos que tienen la capacidad de atacar a las plagas. Sin embargo, los productos fitosanitarios más utilizados actualmente son aquellos obtenidos por síntesis química. Una posible explicación de este hecho reside en la eficiencia de los mismos en un tiempo más rápido que los tratamientos, por ejemplo, por métodos biológicos.

En cuanto a la definición se suelen usar como sinónimos a los plaguicidas y a los agroquímicos, sin embargo la palabra fitosanitario es preferida pues implica en su definición un sentido de cuidado y protección de la sanidad de la planta (ArgenBio, ASA, CASAFE, 2013).

En el artículo 2° del Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas (FAO, 2006) se define a los plaguicidas como:

Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. (p.7)

1.2.2. Propiedades físico-químicas de los plaguicidas

Conocer las propiedades físico-químicas intrínsecas de cada plaguicida permite tener una primer aproximación del destino potencial de cada molécula en el ambiente (Aparicio et al., 2015). Las principales propiedades a tener en cuenta son:

- **Estructura química:** La ventaja de clasificar a los plaguicidas según su estructura química reside en la posible identificación de las sustancias que pueden tener efectos similares en las plagas y el ambiente (Bedmar, 2011). En la Sección 1.2.3.3 de la Introducción se hará una descripción más detallada de esta propiedad.
- **Solubilidad en agua:** Este parámetro se tiene en cuenta para evaluar la potencial de disipación, por lixiviación, del plaguicida disuelto en agua.
- **K_{ow} :** El coeficiente de partición octanol / agua refiere a la relación entre las concentraciones de una sustancia en octanol y en agua. Representa el balance entre la afinidad de un compuesto por la fase acuosa y la fase lipídica. Valores altos de K_{ow} indican un comportamiento hidrófobo mientras que valores pequeños indican un comportamiento hidrófilo.
- **K_{oc} :** El coeficiente de partición entre la materia orgánica (carbono) del suelo y el agua, permite evaluar la capacidad de retención de una sustancia en las partículas del suelo o sedimentos en contacto con agua. El K_{oc} es especialmente útil para plaguicidas no ionizables, que se adsorben directamente sobre la materia orgánica del suelo. Valores altos implican mayor adsorción.
- **Volatilización:** representa la tendencia de una sustancia a pasar al estado gaseoso. Esta propiedad se mide a través de la constante de Henry (H) que permite relacionar la distribución de una sustancia entre una fase acuosa y una gaseosa. Un valor alto de H, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse.
- **Presión de vapor:** Es la presión a la cual una sustancia pura y su vapor pueden existir en equilibrio. Este parámetro da una idea de la potencial disipación de un compuesto hacia la atmósfera, pues a mayor presión de vapor mayor volatilidad.

➤ **Persistencia:** En el caso de los plaguicidas, se define como la capacidad de los mismos de conservar sus características físicas, químicas y funcionales en el suelo, aire o agua durante un período limitado de tiempo, luego de ser aplicados (Aparicio et al., 2015). Se mide a través del tiempo de vida media ($t_{1/2}$), que representa el tiempo que tarda en alcanzar la mitad de la concentración inicial. Depende de procesos tales como fotodegradación, hidrólisis, degradación microbiana y oxidoreducción. Los plaguicidas con mayor $t_{1/2}$ son altamente persistentes en el ambiente y con mayor potencial de lixiviación o de erosión hídrica (Aparicio et al., 2015). La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) define a la persistencia como el tiempo de residencia de un agente químico específico en un compartimento definido del ambiente.

➤ **Constante de disociación (pKa):** Es una medida cuantitativa del potencial de una sustancia con actividad ácido/base de disociarse en compuestos iónicos al encontrarse en una solución. De acuerdo al pH del suelo y el pKa del plaguicida se puede predecir si éste presentará mayor o menor capacidad de adsorción al suelo.

1.2.3. Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas pueden clasificarse según su peligrosidad, blanco biológico, familia química y modo de acción.

1.2.3.1. Según su peligrosidad

Si bien la producción y uso de los productos fitosanitarios tiene como fin la protección de los cultivos, en la práctica cotidiana el uso abusivo o incorrecto es la principal causa del riesgo sanitario de las personas que tienen contacto directo o indirecto con dichas sustancias (Flores, 2013). No es menor mencionar que los productos fitosanitarios tienen diferente grado de selectividad sobre los organismos que se quieren destruir y también pueden afectar de manera diferencial a otras especies, consideradas organismos no blancos, incluido el hombre (Pina, 2012).

En Argentina, el Servicio Nacional de Sanidad y calidad Agroalimentaria (SENASA) es el organismo responsable de autorizar el registro para el uso de productos para el control de plagas en agricultura (ArgenBio, ASA, CASAFE, 2013). El SENASA a través de la resolución 302/2012 adoptó la

clasificación toxicológica para productos fitosanitarios propuestos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2010) de acuerdo a la toxicidad aguda de los mismos en base a estudios con animales. En la Tabla I-1 se muestra dicha clasificación con el correspondiente etiquetado de plaguicidas.

Clase Toxicológica	Frase de Advertencia del producto	Clasificación del peligro	LD ₅₀ de ratas ^a (mg.kg ⁻¹ de peso vivo)		Banda de Color ^b
			Oral	Dermal	
IA	Extremadamente peligroso	MUY TÓXICO	< 5	< 50	
IB	Altamente peligroso	TÓXICO	5 a 50	50 a 200	
II	Moderadamente peligroso	NOCIVO	50 a 2000	200 a 2000	
III	Ligeramente Peligroso	CUIDADO	> 2000	> 2000	
IV	Productos que normalmente no ofrecen peligro	CUIDADO	5000 o mayor		

Fuente: Tomado de: WHO, 2010.

^a LD₅₀ refiere a la dosis letal media del ingrediente activo que produce la muerte del 50 % de los animales experimentales. ^b Refiere a la banda de color de la etiqueta o marbete del envase del formulado comercial.

Tabla I-1. Clasificación toxicológica y etiquetado de plaguicidas de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud.

1.2.3.2. Según su blanco biológico

Según el blanco biológico que controlen pueden ser acaricidas, fungicidas, insecticidas y herbicidas, de acuerdo a si atacan ácaros, hongos, insectos o malezas respectivamente. También pueden ser rodenticidas, nematocidas, molusquicidas, ovicidas, piscicidas y bactericidas según actúen sobre ratones, nematodos, moluscos, huevos de insectos y ácaros, peces y bacterias respectivamente. Las tendencias en el consumo de plaguicidas reflejan la evolución de los mercados de acuerdo al tipo de cultivo (Pórfido, 2013). En Argentina, los plaguicidas que más se venden son los herbicidas (75 %, por ejemplo: glifosato, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y atrazina), seguidos por los insecticidas (11 %, por ejemplo cipermetrina y clorpirifós etil) y luego por los fungicidas (4 %, por ejemplo mancozeb, zineb y productos cúpricos) (Capello y Fortunato, 2013; Pórfido, 2013).

1.2.3.3. Según su familia química y modo de acción

En la Tabla I-2 se resume una de las clasificaciones más utilizadas que combina el grupo químico del plaguicida con el modo o mecanismo de acción en las plagas.

Nombre Genérico	Clase	Plaga	Modo de acción	Ejemplos
Insecticidas	Organofosforados	Insectos	Alteración de la excitabilidad del sistema nervioso	Clorpirifós; Metilazinfós; Diazinon
	Carbamatos			Carbaril; Propoxfur
	Piretroides			Deltametrina; β -ciflutrina
	Organoclorados			1,1,1-tricloro-2,2-bis-etano (DDT*); Lindano*; Endosulfán*; Dieldrin*
Herbicidas	Inhibidores de síntesis de biomoléculas	Malezas	Inhiben la síntesis de aminoácidos esenciales para la vida vegetal	Glifosato; Glufosinato; Atrazina; Linurón; 2,4-D; Dicamba
	Otras clases		Interfieren en otros procesos críticos para el desarrollo de la planta-maleza	Paraquat
Fungicidas	Imidazoles	Hongos, mohos	Desorganización de estructuras o funciones celulares esenciales para la supervivencia	Carbendazim
	Dicarboximidas			Procimidone
	Pirimidinas			Dimetirimol
	Piperazinas			Metalaxil; Vinclozolina; Triadimefon
	Triazoles			Miclobutanil
	Carbamatos			Tiofanato

El asterisco indica productos actualmente prohibidos o de uso restringido por ser peligrosos aún en dosis bajas.
Fuente: Adaptado de Wolansky, 2011.

Tabla I-2. Principales plaguicidas usados, plagas que combaten y su modo de acción.

A continuación se describirán brevemente algunas de las características de las distintas clases de plaguicidas detallados en la Tabla I-2.

1.2.3.4. Insecticidas organoclorados

Los insecticidas organoclorados son una familia de compuestos en cuya estructura química sólo hay enlaces C-C, C-H y C-Cl habitualmente con un esqueleto carbonado cíclico (Figura I-1). Comprenden a los derivados clorados del etilo, entre cuyos compuestos se tiene al DDT; a los derivados clorados de los ciclodienos, entre los que se incluyen clordano, aldrina, dieldrina, heptacloro, endrina y toxafeno; y los compuestos relacionados con el hexaclorociclohexano (HCH) como el lindano (Fernicola, 1985). El auge de estos compuestos se dio entre los años 1940 y 1965 para el control de insectos en la agricultura y las campañas contra la malaria. Las evidencias sobre los

efectos teratogénicos, carcinogénicos, inmunológicos, endócrinos y de bioacumulación de los plaguicidas organoclorados, llevaron a su prohibición en el mundo. Sin embargo, en algunos países se siguen aplicando sin ningún control (Narváez Valderrama, Palacio Baena y Molina Pérez, 2012).

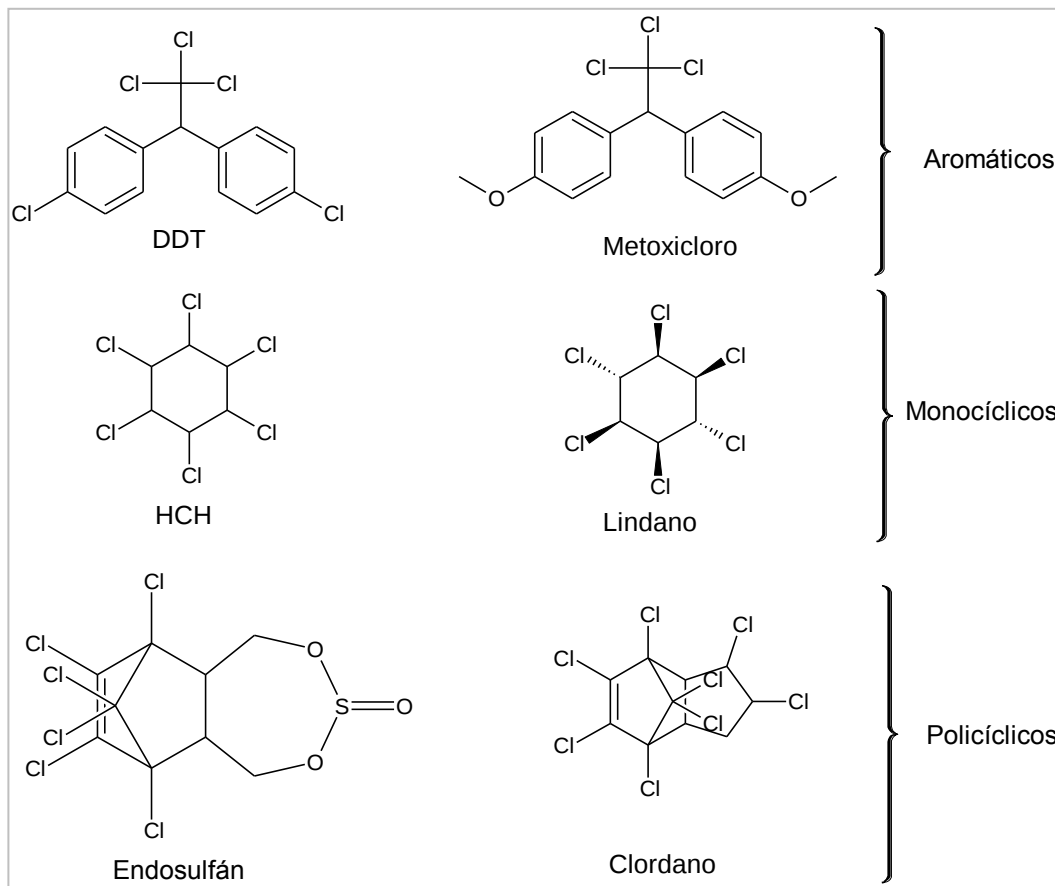


Figura I-1. Algunos ejemplos de insecticidas organoclorados

Estos compuestos tienen una toxicidad en mamíferos relativamente baja. Son no polares e hidrofóbicos (se acumulan en tejidos grasos) y tienen coeficientes de partición octanol / agua (K_{ow}) altos. Tienen baja presión de vapor, el enlace C-Cl en la naturaleza es muy poco reactivo, por lo que los compuestos clorados son muy resistentes, es decir persisten mucho en el ambiente. Actúan por inhibición de la enzima citocromoxidasa que interviene en la respiración celular.

1.2.3.5. Insecticidas organofosforados

Son ésteres neutros derivados del ácido fosfórico. De acuerdo a su estructura química existen cinco familias (Figura I-2), la diferencia fundamental está en la sustitución de los radicales en la fórmula básica de los organofosforados, dando lugar a compuestos con diferentes propiedades físico-químicas, distintos modos de acción y comportamientos en el ambiente (Badii y Varela, 2008).

Estos compuestos presentan una mayor degradabilidad que los insecticidas organoclorados y por lo general no se acumulan en el ambiente. Son compuestos fácilmente hidrolizables, no polares y por ende poco solubles en agua. Poseen una alta toxicidad para mamíferos (por ejemplo, paration LD_{50} ratas = 5 mg.kg⁻¹, oral). Son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa.

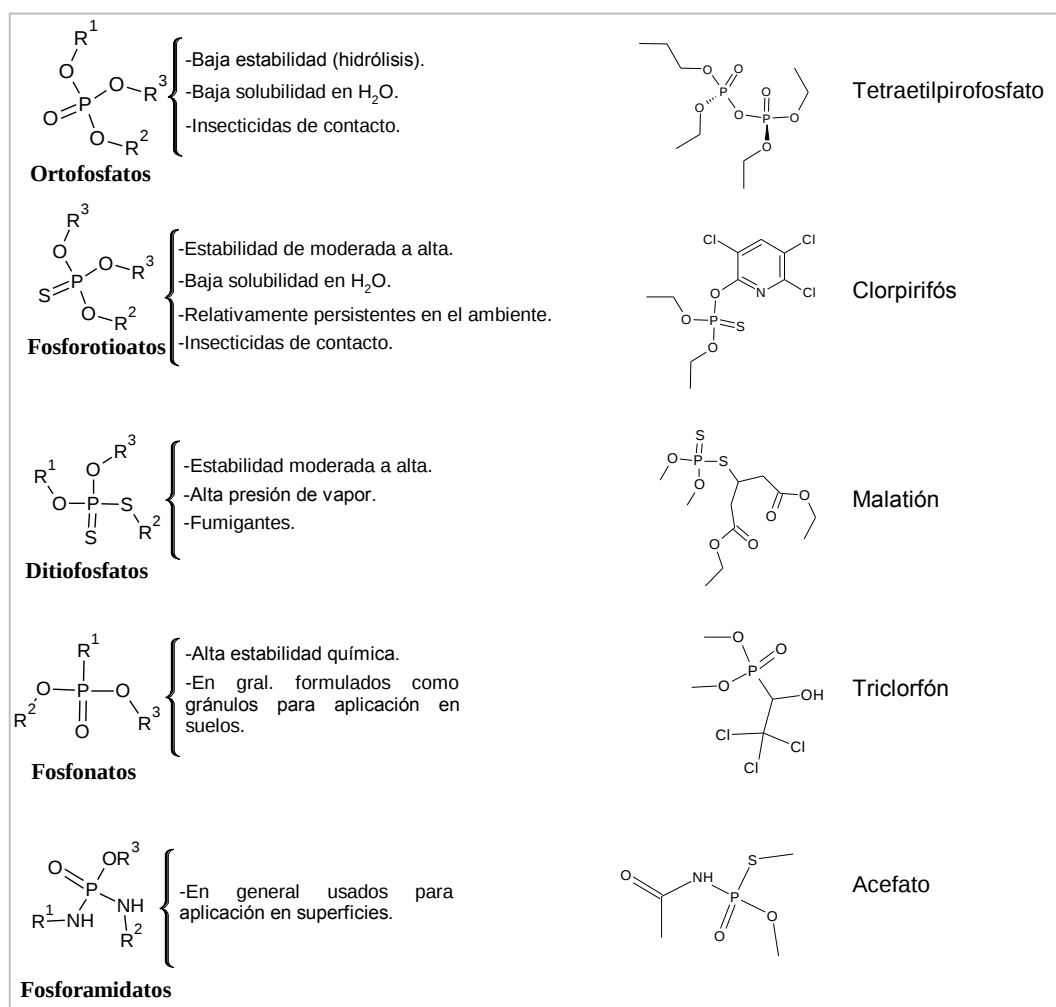


Figura I-2. Familia de los compuestos organofosforados con algunas propiedades físico-químicas y ejemplos.

1.2.3.6. Insecticidas tipo carbamatos

Los carbamatos son actualmente los plaguicidas de mayor aplicación en la actividad agrícola, esto se debe a que estas sustancias son rápidamente hidrolizadas en el ambiente, por ende tienen una menor persistencia (Valderrama et al., 2012).

Son ésteres derivados del ácido carbámico ($\text{NH}_2\text{CO}_2\text{H}$). Entre los sustituyentes R^1 es un anillo (aromático o alifático), R^2 y R^3 son cadenas lineales cortas (Figura I-3). En general son insecticidas de contacto que funcionan como inhibidores reversibles de la acetilcolinesterasa. Suelen tener baja toxicidad para mamíferos (excepto el Aldicarb). Se los usa en aplicaciones en árboles, papas y granos.

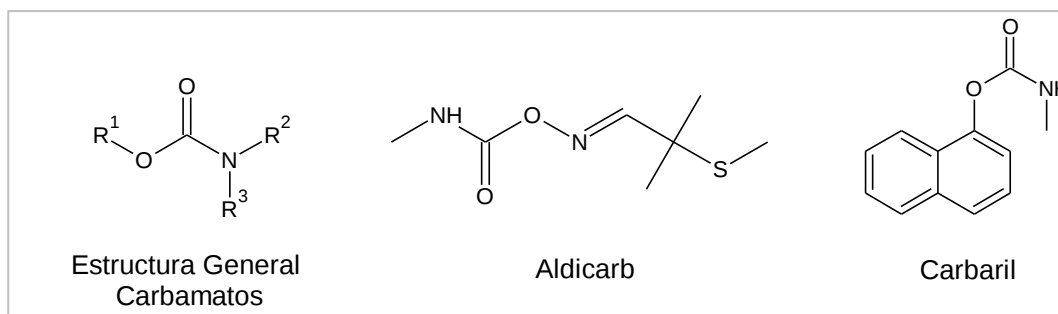


Figura I-3. Estructura general de los carbamatos y ejemplos.

1.2.3.7. Insecticidas tipo piretroides

Son derivados sintéticos de las piretrinas, que son compuestos naturales presentes en las flores del género *Chrysanthemum* con actividad insecticida. Se degradan fácilmente en el ambiente por lo que se suelen encontrar más frecuentemente los productos de degradación que los compuestos puros. Los piretroides funcionan como inhibidores de las bombas de sodio de las neuronas (sistema nervioso) de los insectos. Son relativamente poco tóxicos para los mamíferos ($\text{LD}_{50} = 1500 \text{ mg.kg}^{-1}$, ratas, oral). En la Figura I-4 se muestra la estructura química general con algunos ejemplos. Los piretroides son de tipo I si carecen del grupo α -ciano en su molécula y de tipo II si lo poseen.

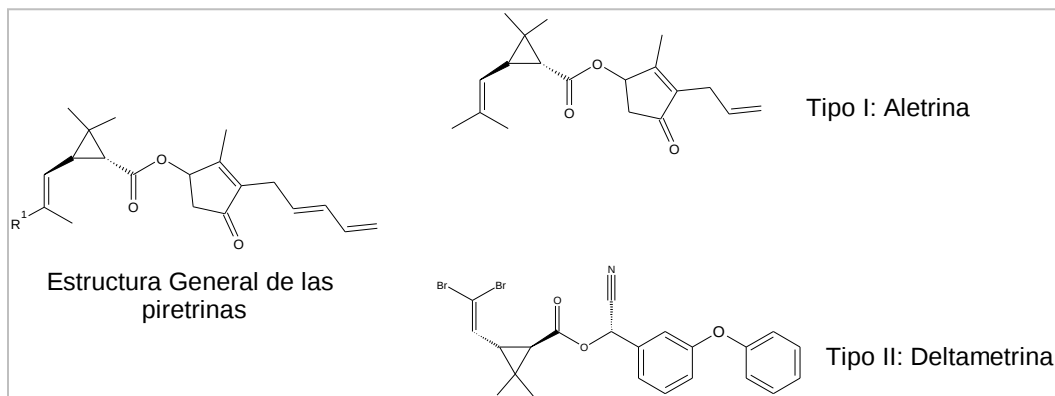


Figura I-4. Estructura general de las piretrinas y ejemplos.

1.2.3.8. Herbicidas

Tal como se mencionó antes, los herbicidas son aquellos plaguicidas destinados al control de malezas indeseadas en los cultivos de interés. Las sales inorgánicas, como sulfato de cobre, fueron los primeros plaguicidas usados para el control de malezas de hoja ancha en cereales hacia fines del siglo XIX, pero el primer herbicida orgánico DNOC (dinitro-ortocresol) se introdujo recién en 1932 (Caseley, 1994). El uso extensivo de herbicidas de dosis relativamente bajas ($1-2 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$) comenzó en 1945 con el lanzamiento de los herbicidas reguladores de crecimiento 2,4-D y ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético (MCPA) (Caseley, 1994).

Hay varios criterios para clasificar los herbicidas, incluyendo cómo se usan, el tipo de hoja de la maleza blanco, sus propiedades químicas y el modo de acción. A continuación se describen algunas categorías:

➤ **Según el modo de acción en la planta:** Los herbicidas de contacto son aquellos que actúan directamente sobre la parte de la planta donde fueron aplicados, por ejemplo el paraquat. Mientras que aquellos que son absorbidos por las plantas y se trasladan por el floema hacia un determinado sitio de acción de las mismas se denominan herbicidas sistémicos, por ejemplo el glifosato.

➤ **Según el grado de selectividad en el cultivo:** Un herbicida total es aquel producto fitosanitario que se aplica con la finalidad de controlar la totalidad de las malezas existentes, sin discriminación. Este tipo de herbicidas es generalmente utilizado para limpieza de terrenos. Como ejemplos se pueden citar al glifosato y el arsenito sódico. Por el contrario, aquellos que sólo afectan a

un tipo determinado de malezas son llamados selectivos (por ejemplo el bentazón que ataca ciperáceas y dicotiledóneas).

➤ **Según el momento de aplicación:** Los herbicidas de preemergencia se aplican antes del nacimiento de hierbas indeseadas, no siempre coincide con la emergencia del cultivo, aunque éste ya esté sembrado (por ejemplo, atrazina y fluoroxipir). Los herbicidas de posemergencia se aplican después de la aparición de las malezas (por ejemplo, linurón).

➤ **Según su naturaleza química:** Pueden ser compuestos benzimidazólicos (benomil), clorofenoxílicos (2,4D; MCPA), dipiridínicos (paraquat), imidazolinonas (imazaquín), compuestos sulfoniluréicos (metsulfurón), carbamatos (clorprofam), triazinas (atrazina) y dinitroanilinas (trifluralina), entre otros.

En la Figura I-5 se muestran a modo de ejemplo algunas estructuras químicas de los herbicidas antes mencionados.

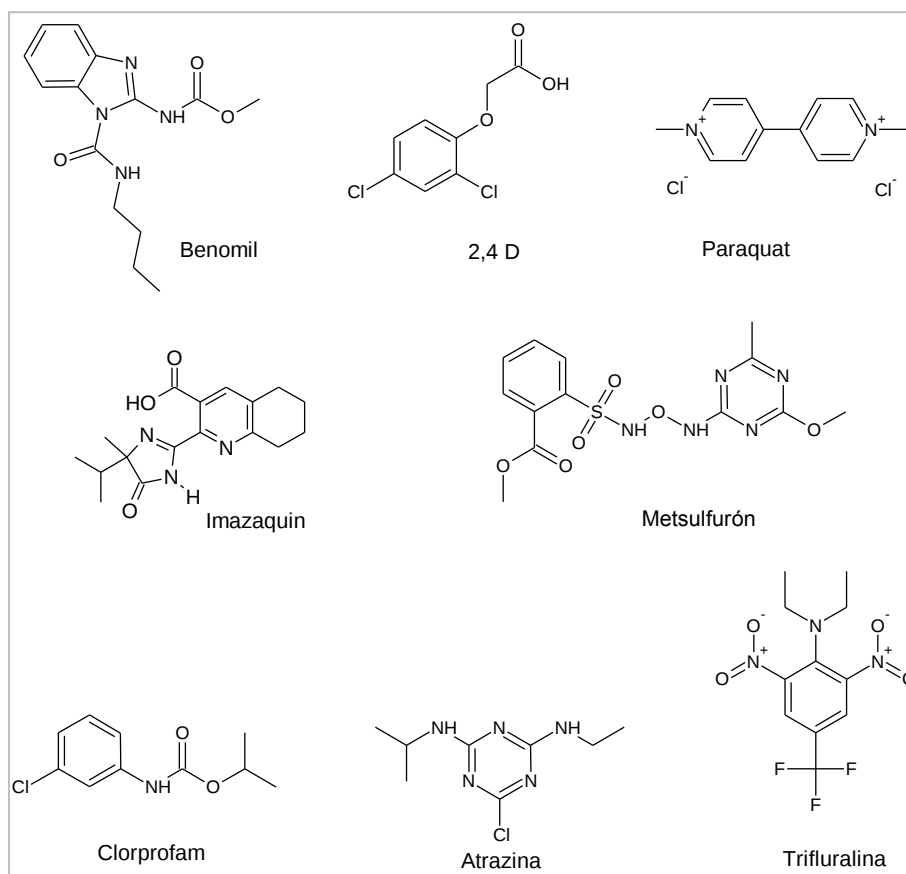


Figura I-5. Estructuras químicas de algunos herbicidas.

1.2.3.9. Fungicidas

Los fungicidas inhiben o eliminan el crecimiento de los hongos o mohos en las plantas. Según Melgarejo-García (2011), el término además incluye a todos aquellos compuestos que pueden proporcionar resistencia a la planta huésped o que convierten el medio ambiente en un lugar inadecuado para el desarrollo y crecimiento del organismo infeccioso.

Su clasificación es amplia dependiendo del grupo químico, modo de acción y campo de aplicación, entre otros.

➤ **Según el grupo químico:** Existen fungicidas inorgánicos azufrados, cúpricos, iodados y con estaño. Tal como se detalla en la Tabla I-2, en la familia de los compuestos orgánicos hay benzimidazólicos (metiltiofanato), dicarboximidas (como el iprodione o procimidone), pirimidinas (dimetirimol), piperazinas (triforine), triazoles (miclobutanil), clorofenilos (clorotalonil) y carbamatos (tiofanato, mancozeb) entre otros. En la Figura I-6 se muestran algunas estructuras químicas de los compuestos antes mencionados.

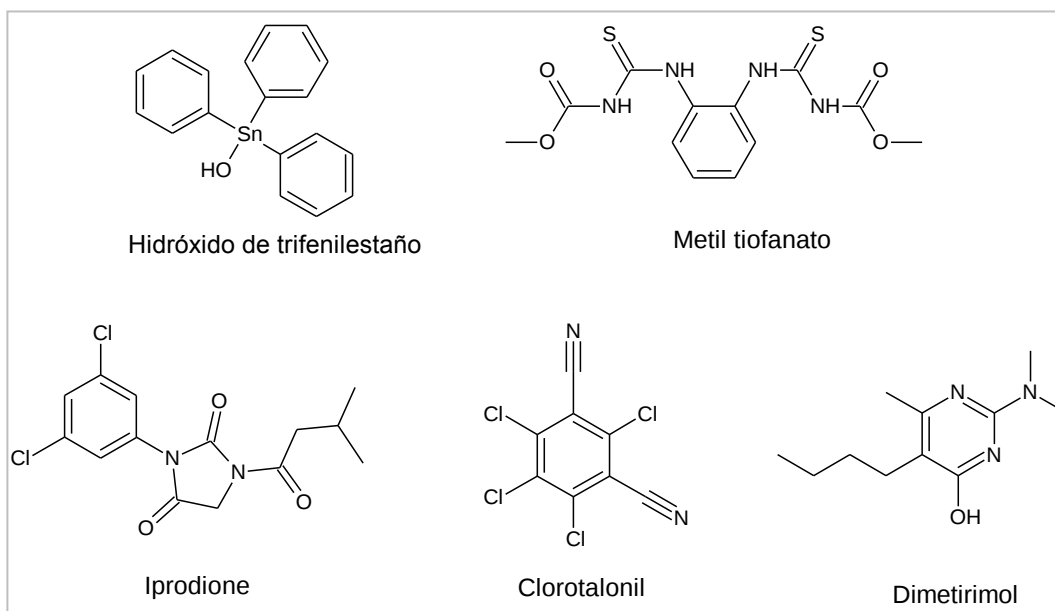


Figura I-6. Estructuras químicas de algunos fungicidas

➤ **Según el modo de acción en la planta:** Los fungicidas de contacto se aplican antes de que lleguen las esporas de los hongos. Actúan solamente en la superficie de la planta donde el fungicida ha sido depositado, evitando la germinación de las esporas (como en el caso del: oxiclورو de cobre,

iprodione, mancozeb). Los fungicidas sistémicos se aplican para el tratamiento de la planta ya enferma por hongos. Son absorbidos a través del follaje o de las raíces y se movilizan por toda la planta (por ejemplo procimidone).

Hay fungicidas que controlan las enfermedades de la planta sin atacar al patógeno de manera directa, sino que por ejemplo estimulan la producción de defensas de la planta (cobre o sales de mercurio), alteran los niveles de carbohidratos de las mismas (por ejemplo los aceites minerales) o bien producen una alteración física como el cierre de estomas, para impedir el desarrollo de las enfermedades (por ejemplo el mancozeb). Los mecanismos de acción de los fungicidas incluyen entre otros daño celular, inhibición del metabolismo energético y de la biosíntesis en los patógenos (Melgarejo - García, 2011).

➤ **Según el campo de aplicación:** Hay fungicidas que se aplican en las semillas antes de sembrarlas, otros se usan para desinfectar el suelo y hay fungicidas de aplicación directa sobre las plantas.

1.2.4. Presentación de los plaguicidas

La presentación refiere a los distintos tipos de formulaciones que se usan para los plaguicidas. El tipo de formulación puede modular el efecto toxicológico sobre organismos que no son su blanco terapéutico y afectar entonces el destino que estas sustancias tienen en el ambiente (Cox y Sorgan, 2006). En particular, para la exposición humana, la influencia del tipo de formulación sobre la absorción dérmica ha sido estudiada (Aust et al., 2007). Se estableció que insecticidas con el mismo principio activo, pero diferentes formulaciones, tienen distintas actividades biocidas (Moreno et al., 2008). Pero pese a que se ha reconocido que el tipo de formulación del plaguicida puede afectar la exposición de los trabajadores (Damalas y Eleftherohorinos, 2011) hay pocas investigaciones en las que se estudien qué factores modulan el riesgo de exposición asociado con estas operaciones.

Una formulación es una mezcla homogénea y estable del ingrediente activo (i.a.) con un vehículo e ingredientes inertes denominados coadyuvantes (Herzfeld y Sargent, 2008). El i.a. es el que tiene la acción biológica sobre el organismo de destino y por ello es fundamental que llegue al blanco de forma efectiva. Muchas veces sucede que los i.a. son poco solubles en agua, químicamente inestables, difíciles de manipular y almacenar o aplicar (Herzfeld y Sargent, 2008). En tal sentido es necesario el desarrollo de formulaciones que permitan preparar caldos de aplicación homogéneos,

estables y que a su vez garanticen una distribución uniforme del i.a. en el organismo blanco. Además una formulación debe ser pensada para reducir la contaminación que puede darse en la manipulación.

Los vehículos de la formulación pueden ser líquidos (por ejemplo: agua o solventes orgánicos) o sólidos (como ser polvos o arcillas). Los ingredientes inertes no poseen una acción biocida *per se* y comprenden una serie de funciones diferentes. Entre ellos se pueden mencionar a los humectantes, espesantes, tensioactivos que permiten un mejor contacto de la gota pulverizada con el blanco, adherentes y agentes de aviso como los colorantes.

Una misma sustancia activa se puede comercializar bajo diferentes “aspectos o formatos”, con propiedades diferentes entre sí, es decir en distintas formulaciones (Cid, 2014). A continuación se describen los principales tipos de formulaciones, la información fue adaptada de Hertzfeld y Sargent (2008).

1.2.4.1. Formulaciones líquidas

➤ **Concentrados Emulsionables (CE)**: Contienen el ingrediente activo disuelto en un solvente orgánico y un agente (emulsionante) que permite que la formulación se mezcle con el agua. Requieren poca agitación y no son abrasivos. Al ser productos muy concentrados, un mínimo error en la dosificación puede causar que los caldos de aplicación tengan más o menos principio activo que el deseado. Se absorben fácilmente por la piel, el solvente orgánico puede deteriorar piezas de plástico o caucho y son inflamables.

➤ **Suspensiones Concentradas (SC)**: El i.a. es un sólido insoluble en agua que se encuentra suspendido. Estas formulaciones tienen además otros ingredientes activos que permiten la dispersión del i.a. en el agua. Tienen las mismas características de transporte, almacenamiento y manipulación de los CE. Pueden ocasionar obstrucciones y son abrasivos.

➤ **Concentrados solubles (SL)**: El i.a se disuelve directamente en el solvente, ya sea éste agua o algún solvente orgánico. Puede tratarse de soluciones concentradas o “soluciones para uso directo”. El glifosato, el plaguicida más vendido en nuestro país, se comercializa en este tipo de formulación.

➤ **Microencapsulados (M-ME)**: Las partículas de i.a. se encuentran dentro de una microcápsula porosa y este conjunto está diluído en agua. El i.a. se va liberando gradualmente de la microcápsula.

La ventaja principal es que son más seguros para los aplicadores. Son poco volátiles y no hay demasiada deriva después de la aplicación.

➤ **Emulsiones Invertidas (EO):** El i.a. es soluble en agua y se lo dispersa en un solvente orgánico, como por ejemplo kerosene. Dado que al pulverizarse las gotas son muy gruesas, el riesgo de deriva es menor que con otro tipo de formulación.

1.2.4.2. Formulaciones sólidas

➤ **Polvos espolvóreos (DP):** Son formulaciones constituídas por una concentración del i.a. menor al 10 % y un vehículo de tipo sólido, como por ejemplo talco. Se usan sin el agregado de una fase dispersante. La desventaja principal reside en que están muy sujetos a la deriva por el viento, por lo que pueden contribuir con la exposición por vía inhalatoria.

➤ **Gránulos (G):** Son muy parecidos a los polvos pero tienen mayor tamaño y peso de gránulo. No ocasionan casi deriva. Se pueden usar sin necesidad de mezclarlos con un solvente (agua por ejemplo).

➤ **Polvos mojables (WP):** Son formulaciones que se presentan como polvos muy finos, insolubles en agua. Son fáciles de transportar, almacenar y manipular. Sin embargo, requieren de una agitación constante y enérgica para permanecer homogéneamente suspendidos en la fase acuosa. Son muy abrasivos para los equipos pulverizadores en general y para las pastillas. Otra desventaja es que el operador corre riesgo de intoxicación por inhalación del polvo durante la etapa de preparación.

➤ **Gránulos dispersables (WG):** Tienen las mismas características de los polvos mojables, excepto que son más fáciles de pesar y mezclar. Al ser gránulos, existe menor riesgo de intoxicación por inhalación.

➤ **Polvos solubles (SP):** Son polvos que en contacto con el agua forman una solución homogénea. Salvo la particularidad del riesgo por inhalación, tienen todas las ventajas de los polvos mojables.

1.2.5. Plaguicidas utilizados en los ensayos

1.2.5.1. Procimidone

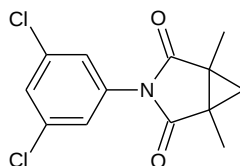


Figura I-7. Estructura química del procimidone.

Se usa como principio activo para fungicidas. Su nombre IUPAC es *N*-(3,5-diclorofenil)-1,2-dimetilciclopropano-1,2-dicarboximida (Figura I-7). Pertenece al grupo de las dicarboximidas. La marca comercial utilizada en los ensayos a campo es SUMILEX[®] (SC, 50% m/v, S. Ando). Este producto es de clase IV (producto que normalmente no es peligroso) y en consecuencia tiene banda verde en su presentación.

Actúa de forma preventiva inhibiendo la germinación de esporas y bloqueando el micelio; de forma curativa frenando la propagación del hongo (CASAFE, 2007). Actúa principalmente sobre *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Se lo aplica en berenjena, pepino, tomate, frutilla, zapallo y lechuga entre otros cultivos.

La degradación del procimidone por acción microbiana se estudió en suelos hortícolas del partido de Moreno (Buenos Aires), encontrándose un tiempo de vida media de 3,6 días (Querejeta et al., 2014). En agua se han informado tiempos de vida media de hasta 25 días (Wightwick et al., 2011). En la Tabla I-3 se detallan algunas propiedades físico-químicas del procimidone.

Propiedades físico-químicas	
Estado	Sólido blanco cristalino
Solubilidad en agua (20°C)	2,46 mg.L ⁻¹ (poco soluble)
K _{ow} a pH=7 y 20°C	2,00 x 10 ³
P _{eb}	478°C
Presión de Vapor (25°C)	0,023 mPa (poco volátil)
Constante de Henry (25°C)	2,65 x 10 ⁻³ Pa. m ³ . mol ⁻¹ (no volátil)
K _{oc}	378
Persistencia en suelo	No persistente

Fuente: Adaptado de Pesticides Properties Data Base (PPDB):
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/537.htm>

Tabla I-3. Propiedades físico-químicas del procimidone.

1.2.5.2. Clorpirifós

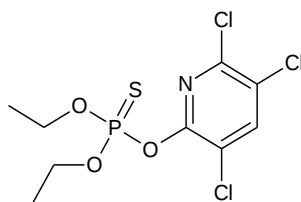


Figura I-8. Estructura química del clorpirifós.

Es un insecticida organofosforado, su nombre IUPAC es *O,O*-dietil-*O*-(3,5,6-tricloro-2-piridil) fosforotioato (Figura I-8). La marca comercial utilizada en los ensayos a campo es Clorfox[®] (EC, 48 % m/v; Gleba). Este producto es de clase II (moderadamente peligroso) y en consecuencia tiene banda amarilla en su presentación. Actúa por contacto, ingestión e inhalación en insectos chupadores y masticadores, inhibiendo la acetilcolinesterasa. En durazneros se lo utiliza para combatir *Grapholitha molesta* y *Quadrapidiotus perniciosus* (CASAPE, 2007). Se lo aplica en cultivos de algodón, ciruelos, manzanos, limoneros, maíz y sorgo, entre otros.

En cuanto su destino ambiental, dado que su K_{oc} es elevado tiene una fuerte tendencia a ser adsorbido por la materia orgánica del suelo. La degradación en dicha matriz ocurre por exposición a la luz UV, hidrólisis química y por acción microbiana (Aparicio et al., 2015). El principal producto de degradación es el 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP). El tiempo de vida media en suelo se ha establecido entre 60 y 120 días, pero puede permanecer hasta un año dependiendo del tipo de suelo y clima (Piola, 2011). Con el aumento del pH del suelo, la persistencia del clorpirifós disminuye debido a la predominancia de la hidrólisis alcalina abiótica (Baskaran S., Kookana R. y Naidu, R., 1999). En ambientes acuáticos, la degradación es más rápida, se han informado tiempos de vida media entre 35 y 78 días a pH= 7 y 25°C (Piola, 2011). En la Tabla I-4 se detallan algunas propiedades físico-químicas del clorpirifós.

Propiedades físico-químicas	
Estado	Sólido ocre cristalino
Solubilidad en agua (20°C)	1,05 mg.L ⁻¹ (poco soluble)
K _{ow} a pH=7 y 20°C	5,01 x 10 ⁴
P _{eb}	Se descompone antes.
Presión de Vapor (25°C)	1,43 mPa (poco volátil)
Constante de Henry (25°C)	0,478 Pa. m ³ . mol ⁻¹ (volátil moderado)
K _{oc}	5509
Persistencia en suelo	Alta

Fuente: Adaptado de Pesticides Properties Data Base (PPDB):
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/154.htm>

Tabla I-4. Propiedades físico-químicas del clorpirifós.

1.2.5.3. Miclobutanil

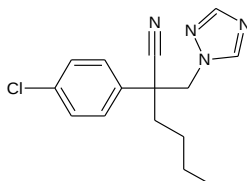


Figura I-9. Estructura química del miclobutanil.

Se trata de un fungicida, su nombre IUPAC es butil-(4-clorofenil)-1H-1,2,4 triazol-1-propanonitrilo (Figura I-9). Pertenece al grupo de los triazoles. La marca comercial utilizada en los ensayos a campo es Systhane E® (EC, 25% m/v, Dow Agrosiences). Este producto es de clase III (producto poco peligroso) y en consecuencia tiene banda azul en su presentación.

Tiene acción preventiva y curativa sobre las enfermedades fungosas y las controla en sus primeras etapas de desarrollo. Es un fungicida que actúa de forma sistémica y de contacto, indicado para el control de oidio en viñas, frutales de pepita y carozo, melón y otros cultivos (CASAFE, 2007) a través de un mecanismo que implica la demetilación de los esteroides.

Este fungicida tiene un gran potencial de lixiviación y tiene una persistencia alta en el suelo. Bajo ciertas condiciones, también puede ser persistente en los sistemas acuáticos. Se informaron tiempos de vida media en suelo de 560 días (PPDB, 2017) y en agua de hasta 15 días a pH = 7 y 20 °C (Wightwick et al., 2011). En la Tabla I-5 se detallan algunas propiedades físico-químicas del miclobutanil.

Propiedades físico-químicas	
Estado	Sólido blanco cristalino
Solubilidad en agua (20°C)	132 mg.L ⁻¹ (solubilidad moderada)
K _{ow} a pH=7 y 20°C	7,76 x 10 ²
P _{eb}	391°C
pka	2,3
Presión de Vapor (25°C)	0,198 mPa (poco volátil)
Constante de Henry (25°C)	4,33 x 10 ⁻⁴ Pa. m ³ . mol ⁻¹ (no volátil)
K _{oc}	1000
Persistencia en Suelo	Alta

Fuente: Adaptado de Pesticides Properties Data Base (PPDB):
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/478.htm>

Tabla I-5. Propiedades físico-químicas del miclobutanil.

1.2.5.4. Oxidloruro de Cobre

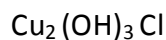


Figura I-10. Fórmula química del oxidloruro de cobre.

Es un principio activo inorgánico utilizado como fungicida (Figura I-10). La marca comercial utilizada en los ensayos a campo es Coura® (WP, 84% m/m, Tort Valls S.A). Este producto es de clase III (producto poco peligroso) y en consecuencia tiene banda azul en su presentación.

Es un fungicida de contacto y acción preventiva. Su forma de acción implica la reacción del ion cúprico con las enzimas celulares del patógeno, en forma inespecífica, provocando su desnaturalización (CASAFE, 2007). Se utiliza en ciruelos, citrus, frutilla, durazneros y tomates entre otros.

Es poco soluble en agua y no volátil. Dado que el cobre es un mineral, persiste indefinidamente en el suelo. Es moderadamente tóxico para cualquier organismo vivo.

En la Tabla I-6 se detallan algunas propiedades físico-químicas del oxidloruro de cobre.

Propiedades físico-químicas	
Estado	Polvo verde claro
Solubilidad en agua (20°C)	1,19 mg.L ⁻¹ (poco soluble)
K_{ow} a pH=7 y 20°C	2,75
P_{eb}	Se descompone antes.
Presión de Vapor (25°C)	0,00001 mPa (no volátil)
Constante de Henry (25°C)	Sin datos
K_{oc}	Sin datos
Persistencia	Muy alta

Fuente: Adaptado de Pesticides Properties Data Base (PPDB):
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/177.htm>

Tabla I-6. Propiedades físico-químicas del oxiclورو de cobre.

1.2.6. Indicadores de exposición y seguridad

1.2.6.1. Exposición dérmica potencial

En líneas generales, la exposición humana se describe como la cantidad de una determinada sustancia que entra en contacto con el límite exterior del cuerpo de una persona (USEPA, 2007). Esta definición es limitada porque el interés real en una evaluación de riesgo es la cantidad de principio activo que llega al cuerpo (exposición potencial o real) y puede distribuirse a uno o más órganos para ejercer un efecto tóxico (dosis absorbida) (USEPA, 2007). Los mecanismos más habituales de exposición a sustancias peligrosas son la inhalación, la ingesta y la exposición dérmica (IPCS, 2014).

Hay diversas causas por las que los seres humanos pueden estar expuestos a la acción de los plaguicidas. La exposición accidental es no intencional, inesperada y excluye a aquellas situaciones relacionadas con la práctica del trabajo. Por otro lado, las exposiciones alimentarias ocurren por la ingesta de alimentos contaminados con plaguicidas. Finalmente las exposiciones ocupacionales se dan mientras el sujeto se encuentra trabajando, en este caso el plaguicida forma parte del proceso o rutina de trabajo.

Tal como se mencionó en secciones anteriores, es de vital importancia conocer el destino de los plaguicidas en el ambiente (matrices aire, agua y suelo) no solo por el potencial efecto sobre la biota en general, sino que en particular pueden contribuir a los procesos de exposición humana a plaguicidas.

En esta tesis se determinó la exposición ocupacional de los trabajadores durante las etapas de mezcla, carga y aplicación de diferentes productos fitosanitarios. Para ello, se midió la exposición dérmica potencial (EDP) definida como la cantidad de plaguicida que entra en contacto con la ropa protectora, la ropa de trabajo y la piel expuesta del trabajador (OECD, 1997). Es importante diferenciar la exposición potencial de la real, pues en ésta última se hace referencia a la sustancia que entró en contacto efectivo con la piel del trabajador porque estaba descubierta o bien porque la sustancia penetró la matriz de la ropa o guantes (Flores, 2013). Para que la exposición dérmica ocurra un individuo debe estar en contacto, a través de la piel, con una sustancia química por ejemplo un plaguicida. La exposición dérmica puede ser producto de salpicaduras, derrames o deriva durante las instancias de preparación, mezcla y aplicación de un plaguicida. Además puede darse por el contacto con residuos presentes en los equipos de aplicación, zonas tratadas o ropa (IPCS, 2014).

La magnitud de la exposición dérmica depende de varios factores, entre ellos: la concentración del producto; el tipo de formulación; la duración y frecuencia del contacto del plaguicida con la piel; el uso o no de distintos tipos de ropa y guantes de protección personal; las características de la piel; el modo de aplicación (manual o mecanizada); la experiencia del aplicador; el tipo de cultivo y factores climáticos como la humedad, la temperatura y las condiciones del viento durante la aplicación (Riley, McKone y Hubal, 2004; USEPA, 2007).

Existen numerosas técnicas de muestreo para medir la exposición dérmica potencial y real. A continuación se describen tres metodologías según Fenske (1993) e IPCS (2014):

➤ **Técnicas de remoción:** Implican el lavado y limpieza de la piel. En el caso de las manos suelen usarse mezclas de agua con detergente o alcohol; para otras partes del cuerpo suelen usarse toallas húmedas para hisopar los sectores de interés. Dado que estas técnicas sólo miden lo que se puede eliminar de la piel, son necesarios estudios adicionales para determinar la eficiencia de la remoción. Por lo general suelen obtenerse datos muy variables dependiendo del método de lavado.

➤ **Técnicas por detección de trazadores coloreados o fluorescentes:** Al caldo de aplicación se le agregan trazadores que tienen propiedades fluorescentes (por ejemplo fluoresceína y riboflavinas) o tienen color (algún colorante inocuo). La exposición se mide por la extracción y posterior detección de estos compuestos por ejemplo con luminoscopios o espectrofotometría. Los métodos de detección por fluorescencia a la luz ultravioleta presentan la ventaja de que pueden ser aplicados directamente en el lugar de trabajo sobre cualquier objeto o superficie (Aragon, 2005).

➤ **Técnicas de sustitución dérmica:** Sirven para determinar la exposición dérmica potencial. En líneas generales se coloca un absorbente sobre la piel y se procede a cuantificar el contaminante sobre el mismo. Entre otros, se puede mencionar el método de parches y la dosimetría de cuerpo entero. La validez de estas técnicas se basa en la capacidad del medio de muestreo para capturar y retener productos químicos de manera similar a la piel (Fenske, 1993). En el primer método, se distribuyen en algunas partes del cuerpo parches de papel o tela de algodón, por dentro y fuera de la ropa de trabajo. El número de parches utilizados representa aproximadamente un 8 % del área total del cuerpo. Luego de la aplicación se procede a retirarlos y a cuantificarlos (OECD, 1997). La cantidad de plaguicida hallada en cada parche se multiplica por áreas estandarizadas de las distintas partes del cuerpo. La principal desventaja de esta técnica reside en la suposición de que la exposición en cada parche puede extrapolarse homogéneamente al resto de la sección circundante, por ende se suelen obtener resultados que pueden sobreestimar o subestimar la EDP. A continuación se describirá la técnica de dosimetría de cuerpo entero, que es la que se utilizó en este trabajo de tesis.

1.2.6.1.1. Dosimetría de cuerpo entero

En esta técnica, se utilizan trajes muestreadores (overoles de algodón) para estimar la exposición potencial de todo el cuerpo a un contaminante (OECD, 1997). Los mismos se complementan con una capucha para cubrir la cabeza, guantes de algodón para determinar la exposición potencial de las manos (EMP) y botas de goma para los pies. Es importante señalar que los trajes deben ser del talla adecuado para cada aplicador, deben cubrir los brazos hasta las muñecas y las piernas hasta los tobillos (OECD, 1997).

Con respecto al material de los trajes, éste debe ser absorbente. Se han reportado en bibliografía varios tipos, por ejemplo: algodón 100 % (Popendorf y Selim, 1995), mezclas de algodón y poliéster (OECD, 1997), Tyvek® (Links et al., 2007) o Sontara® (González et al., 1999) entre otros. Cabe destacar que el tipo de material puede condicionar las mediciones analíticas, por lo que es de vital importancia validar los parámetros de recuperación de cada plaguicida sobre la matriz estudiada (IPCS, 2014).

Una vez que el operador terminó el proceso de mezcla, carga o aplicación de un plaguicida en la que se quiere realizar la medición de EDP, se proceden a retirar el traje y los guantes evitando la contaminación cruzada entre las diferentes partes del traje (IPCS, 2014). Para el correcto análisis en el laboratorio, de acuerdo al protocolo de WHO (1982) los trajes deben cortarse en la siguientes

secciones: piernas (desde la rodilla a la cadera), antepiernas (desde la rodilla hasta el tobillo), brazos desde el codo hasta la muñeca y desde el codo al hombro, pecho, espalda y capucha (Figura M-14, Sección 3.5.6 de Materiales y Métodos).

A diferencia del método de parches, la dosimetría de cuerpo entero no presupone una distribución uniforme del contaminante. Por ende, no es necesario hacer una extrapolación de la cantidad de plaguicida encontrada en el parche a una determinada parte del cuerpo, ya que de por sí todo lo que se encuentra en cada sección del traje refleja la cantidad de plaguicida a la que el operador estuvo expuesto (OECD, 1997). Una ventaja adicional del uso de esta técnica reside en la posibilidad de establecer con mayor confianza tendencias de contaminación en diferentes partes del cuerpo durante una tarea específica asociada a la manipulación de un determinado plaguicida (IPCS, 2014). Una desventaja de esta técnica es el uso de volúmenes significativos de solvente para extraer cada una de las secciones del traje.

1.2.6.2. Exposición manual potencial

En la mayoría de la bibliografía consultada las manos son las más contaminadas durante el proceso de mezcla, carga y aplicación de los plaguicidas, siendo el 70 % - 90 % de la EDP total (Atabila et al., 2017; Flores et al., 2011; Kim et al., 2014; Machera et al., 2003; Moon et al., 2013; Ramos et al., 2010; Vitali et al., 2009). Por tal motivo, es relevante evaluar la exposición de las mismas no sólo en la instancia de aplicación, sino que también en la etapa de preparación de los caldos en la que el trabajador manipula el formulado concentrado del i.a. Para ello, antes de comenzar con cada instancia, se coloca al operador un par de guantes absorbentes de algodón. Una vez finalizada la rutina de preparación o aplicación, se procede a retirar los guantes y se los cambia por un par nuevo para la próxima tarea. Los datos de EMP por etapa permiten establecer los riesgos diferenciados asociados a cada etapa en particular.

1.2.6.3. Estimación de indicadores de riesgo

La EDP es la determinación experimental primaria a partir de la cual es posible determinar el riesgo asociado a una determinada actividad, ya sea la mezcla, preparación o aplicación de un plaguicida. Los componentes esenciales para realizar una evaluación de riesgo cuantitativa son: una

estimación o medición experimental de la exposición al mismo y los datos toxicológicos de dicho plaguicida sobre los humanos (OECD, 1997).

1.2.6.4. Margen de Seguridad

El riesgo puede evaluarse relacionando la EDP con parámetros cuantitativos toxicológicos que establecen la exposición máxima que un trabajador puede sufrir. En este trabajo de tesis se utilizó como indicador de riesgo ocupacional el Margen de Seguridad (MOS) propuesto por Machado- Neto (2001). El autor definió al MOS como el cociente entre la exposición aceptable y la cantidad de plaguicida realmente absorbida, para calcularlo propuso la siguiente expresión en la que se combinan datos del producto fitosanitario empleado (índices de riesgo como AOEL, NOAEL), características de la aplicación y un factor de absorción dérmica:

$$\text{MOS} = (\text{AE}) / (\text{ED} \times \text{AF})$$

donde:

- AE: es el nivel aceptable de exposición aguda (expresado en $\text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$). Los valores de AE se calculan sobre la base de los criterios toxicológicos apropiados según la siguiente expresión:

$$\text{AE} = \text{AOEL (o NOAEL)} \times \text{peso corporal medio (70 kg)}$$

- AOEL (del inglés Acceptable Operator Exposure Level): es la máxima cantidad de ingrediente activo a la que un operador puede estar expuesto sin que se observen efectos adversos para la salud. Se expresa en $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (Linders, 2001). El AOEL se obtiene al dividir el NOAEL por un factor de seguridad.
- NOAEL (del inglés No Observed Adverse Effect Level): es la dosis más alta, en animales, a la que no es observable el efecto tóxico. Se expresa en $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
- ED: puede ser exposición dérmica o manual potencial (en mg de principio activo).
- AF: 0,11 para EDP y 0,10 para EMP. Estos valores son aceptados como la cantidad relativa del plaguicida manipulado que podría ser absorbida por el operador, considerando 10 % de absorción dérmica y 1 % adicional por inhalación en el caso de EDP (Flores et al., 2011). Para EMP no se considera el 1 % por inhalación.

Según Machado-Neto (2001), si el $\text{MOS} \geq 1$ las condiciones de trabajo se consideran “seguras”, por el contrario si el $\text{MOS} < 1$, las condiciones no son seguras.

1.2.6.5. Factores que afectan a la EDP o el MOS

La EDP y el MOS dependen de varios factores. Uno de ellos es el tamaño y la geometría del cultivo en el que se realiza la aplicación. Atabila et al. (2017) estudiaron la EDP para aplicaciones de clorpirifós en cultivos de arroz y encontraron que a mayor altura del cultivo mayor fue la contaminación de las piernas, puesto que las plantas más altas tienen más probabilidad de roce durante una aplicación. Cao et al. (2015) informaron que las piernas fueron los sectores más contaminados durante la aplicación de imidacloprid en cultivos de maíz, siendo ésta entre un 76 % y 88 % de la EDP total. En este caso, posiblemente la altura de las plantas de maíz (entre 75 cm y 110 cm) sea un factor clave en la sectorización de la contaminación. Hughes et al. (2008) estudiaron el patrón de contaminación del cuerpo durante las aplicaciones con mochila de deltametrina en cultivos bajos como el brócoli, y en cultivos altos (2 m) como el maíz. En el primer caso las partes más contaminadas fueron las zonas bajas de las piernas, mientras que en el segundo caso además hubo contaminación en el torso y brazos. Gao et al. (2013) también informaron que el hecho de rociar cultivos más altos está relacionado con valores significativamente mayores de exposición. Atabila et al. (2017) mencionaron que factores incidentales como lanzas flojas y pérdidas ocasionales de la mochila, influyen en la EDP.

La experiencia del aplicador y el tipo de marcha del mismo al realizar la aplicación podrían llegar a ser otras variables críticas en la contaminación. Hughes et al. (2006) informaron que cuando los aplicadores más experimentados aplicaron el fungicida captan en cultivos de maíz marchando hacia atrás, los valores de EDP fueron casi diez veces menores que los obtenidos para el mismo tipo de cultivo pero con aplicadores novatos, quienes decidieron realizar la aplicación caminando hacia adelante. Nuyttens et al. (2009) encontraron valores de EDP de 460 mL.h^{-1} para aplicaciones en pimientos con mochila, lanza y marcha hacia adelante, mientras que la EDP fue de $69,5 \text{ mL.h}^{-1}$ en las mismas condiciones pero con caminata hacia atrás.

Los factores que afectan a la EDP consecuentemente afectan al MOS, por lo que estudiar las diferentes variables que contribuyen a la exposición dérmica permite pensar y desarrollar nuevas estrategias para disminuir los índices de exposición a los plaguicidas. En este trabajo de tesis se estudiará la influencia del tipo de formulado comercial como variable crítica en la contaminación de las manos durante la instancia de mezcla y carga de los productos fitosanitarios.

1.2.6.6. Deriva

Luego de una aplicación de plaguicidas, también es importante realizar una evaluación de riesgo en aquellas personas que tuvieron una exposición accidental a los mismos, por ejemplo a través de la deriva.

La deriva es reconocida como una de las fuentes difusas, más importantes, de contaminación ambiental ocasionada por la aplicación de plaguicidas (de Jong, de Snoo y van De Zande, 2008; Maski y Durairaj, 2010). Se define como la cantidad de producto fitosanitario que sale o se dispersa del campo tratado por el efecto del viento durante el proceso de aplicación del mismo (ISO, 2005). Dependiendo del modo de aplicación la deriva puede ser en forma de gotas de distintos tamaños, partículas secas o vapor y puede causar algún tipo de efecto sobre los organismos vivos (por ejemplo residentes, transeúntes, flora y fauna) en regiones adyacentes a la zona de tratamiento (Gil y Sinfort, 2005; Tsai et al., 2005). Al igual que la EDP, la deriva depende tanto de factores técnicos como ambientales (Hofman y Solseng, 2001) entre ellos: el tipo de formulación; la volatilidad y viscosidad de formulado a aplicar (De Schampheleire et al., 2009; Stainier et al., 2006); el tipo y técnica de aplicación (velocidad, presión, caudal, etc.) (Derksen et al., 2007; Nuyttens et al., 2011); condiciones climáticas al momento de rociar (velocidad y dirección del viento, temperatura, humedad relativa) (Endalew et al., 2010; Gil et al., 2007; Wang y Rautmann, 2008) y de la experiencia del aplicador. La geometría de los cultivos (altura, follaje, etc) también es una variable citada en bibliografía (Belcher, Jerram y Hunt, 2003; Da Silva et al., 2006; Farooq y Salyani, 2004; Yi, 2008).

Dada la infinidad de variables que influyen en la deriva, su medición es una tarea compleja. A pesar de estas dificultades, la determinación de la deriva experimental es una tarea importante para establecer zonas “buffer” adyacentes a las áreas de producción, que pueden disminuir los efectos de plaguicidas fuera de campo. En el caso particular de la Comunidad Europea, la Directiva Europea para un Uso Sostenible de Plaguicidas (128/2009 /CE) exige, de manera obligatoria, que todos los estados miembros establezcan zonas de amortiguación con vegetación permanente, junto a las áreas donde se utilizan plaguicidas (CE, 2009). Naturalmente, las dimensiones de la zona buffer estarán en relación con la técnica de aplicación de plaguicidas y su deriva correspondiente (Gil, 2015).

1.2.6.7. Indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos

Teniendo en cuenta estos antecedentes, en este trabajo también se estimó el riesgo para residentes fijos y ocasionales, causados por el uso de plaguicidas en pequeñas producciones de durazno en la zona de San Pedro, Provincia de Buenos Aires. Para ello, se hizo una evaluación de riesgo a la exposición de plaguicidas para residentes directos e indirectos aplicando los indicadores propuestos por Cunha et al. (2012).

Estos autores definen como residentes indirectos a las personas adultas ubicadas, ocasionalmente, dentro o adyacentes al área (distancia aproximada de 8 m en dirección del viento) donde se realizó la aplicación de los plaguicidas. Consideran residentes directos a quienes viven en campos cercanos donde se realizan las aplicaciones y por ende, pueden estar expuestos a varias aplicaciones por año. Se asume que los residentes directos se ubican aproximadamente a 50 m de los campos rociados (Garreyn, 2007; Kruijne, 2011).

Para calcular los indicadores de riesgo proponen las siguientes expresiones en función de la distancia al borde de la zona donde se realizó la aplicación.

$$RI_{\text{residente indirecto}}(x) = \frac{([plag.] \cdot V_{apl}/A_{apl}) \cdot 0,3261 \text{ m}^2 \cdot 1,01 \cdot N \cdot (\% D(x) / 100)}{MC \cdot AOEL}$$

$$RI_{\text{residente directo}}(x) = \frac{([plag.] \cdot V_{apl}/A_{apl}) \cdot 0,3261 \text{ m}^2 \cdot 1,01 \cdot 0,246 \cdot FA \cdot (\% D(x) / 100)}{MC \cdot AOEL}$$

donde:

- A_{apl} : área de la parcela donde fueron aplicados los plaguicidas (m^2).
- MC: peso corporal (70 kg).
- AOEL: nivel aceptable de exposición del operador ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).
- FA: frecuencia de aplicación (refiere al número de aplicaciones por año).
- N: número de aplicaciones (en este caso $N = 1$).
- [plag.]: concentración de plaguicidas ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).
- V_{apl} : volumen de plaguicida aplicado (L).

- % D (x): porcentaje de deriva respecto al plaguicida total aplicado en función de la distancia de borde de la huerta (x).
- 0,3261 m²: superficie del cuerpo del residente expuesto. Se considera: 100 % de absorción del plaguicida para manos y cabeza; un 10 % para el tronco, piernas y brazos.
- 1,01: factor de inhalación (Ramos et al., 2010).
- 0,246: 90/365 (equivalente a 90 días de residencia en la casa por año; Cunha et al., 2012).

Estos autores consideran que si el RI < 1 la exposición es segura.

1.2.7. Marco legal argentino sobre el uso de plaguicidas

La legislación existente es exhaustiva, por lo que a continuación se realizará una descripción breve y de carácter informativo de algunos aspectos del marco regulatorio sobre el uso de plaguicidas en nuestro país.

En la reforma de la Constitución Nacional del año 1994 (Artículo N° 41) se sentaron las bases a cumplir por la política ambiental, otorgando la categoría de derecho humano al hecho de gozar de un ambiente sano y equilibrado (Ríos y Pellizari, 2016). En dicha reforma además se deslindaron las competencias en materia ambiental entre la nación y las provincias en cuanto al dominio y poder de policía sobre los recursos naturales (Aparicio et al., 2015).

El SENASA dependiente del Ministerio de Agroindustria de la Nación, es el organismo responsable de ejecutar y supervisar el cumplimiento de las políticas nacionales en materia de sanidad, calidad animal y vegetal e inocuidad de alimentos. También es de su competencia el control del tráfico federal, de las importaciones y exportaciones de los productos, subproductos y derivados de origen animal y vegetal, productos agroalimentarios, fármaco-veterinarios y agroquímicos, fertilizantes y enmiendas. Respecto a las normas que establecen el régimen general para el uso de los agroquímicos y productos fitosanitarios, se puede citar a la Resolución 350/99 referida al "Manual de Procedimientos, Criterios y Alcances para el Registro de Productos Fitosanitarios en la República Argentina". En la misma se amplían los usos detallados en la Resolución 440/98 y se adoptan los criterios establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) publicados en el "Manual sobre la elaboración y uso de las especificaciones de plaguicidas de la

FAO y la Organización Mundial de la Salud 1999” (Flores, 2013). En líneas generales, en dicho manual se establecen nuevos criterios de clasificación de sustancias, según sean activas de grado técnico nuevo (sin antecedentes en el país) o activas de grado técnico equivalente. Además se establecen los casos y protocolos para realizar evaluaciones de riesgo de productos fitosanitarios, así como también se proponen pautas para el registro e inscripción de sustancias de grado técnica nuevas, entre ellas: ámbitos de aplicación, etiquetado y envasado, datos toxicológicos como resultado de ensayos en mamíferos, aves y organismos acuáticos e información médica obligatoria (diagnósticos, síntomas de intoxicación, estudios de neurotoxicidad, etc.) (Flores, 2013).

En cuanto a la normativa vigente sobre principios activos prohibidos o restringidos se puede mencionar, entre otras, a las Resoluciones 521/11 y 934/10 del SENASA (Ríos y Pellizari, 2016). Con respecto al lavado de envases de productos fitosanitarios, en la Norma 12069/06 se recomienda y detalla la implementación del triple lavado. En cuanto a la disposición final de los mismos si bien no existe una normativa específica sobre la gestión de los envases, se aplican las leyes para residuos peligrosos o especiales (Ríos y Pellizari, 2016).

Por otro lado, el Código Alimentario Argentino fue puesto en vigencia por la Ley 18.284, reglamentada por el Decreto 2126/71 y se trata de un reglamento técnico en permanente actualización en el que se establecen normas higiénico-sanitarias, bromatológicas y de calidad que deben cumplir los alimentos, siendo los productos fitosanitarios considerados contaminantes indeseables (Aparicio et al. 2015).

La Argentina se adhirió a los siguientes convenios internacionales en materia de gestión de productos químicos y desechos peligrosos (de actividad agropecuaria o no) y su consecuente generación de daños a la salud y al ambiente (Ríos y Pellizari, 2016):

- Convenio de Basilea (aprobado en 1991 mediante la Ley 23922): Refiere a los controles de movimientos transfronterizos de desechos peligrosos.
- Convenio de Rotterdam (Ley 25278/00): Trata sobre la responsabilidad comercial compartida, de ciertos plaguicidas y productos químicos, entre los países miembros.
- Convenio de Estocolmo (aprobado en 2004 mediante la Ley 26011): Propone eliminar la producción y uso de contaminantes orgánicos persistentes producidos para uso agrícola (aldrín,

clordano, DDT, dieldrin, endrin, heptacloro, mirex, toxafeno, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados, dioxinas y furanos).

➤ Convenio sobre la seguridad y salud en la agricultura de la Organización Internacional del Trabajo (OIT) (aprobado en 2003 mediante la Ley 25739/01): Establece la necesidad de implementar medidas de prevención y protección en seguridad y salud. Además exige el derecho de los trabajadores a ser informados y capacitados en materia de uso de plaguicidas.

Entre las recomendaciones promocionadas por el SENASA también se encuentran los manuales de buenas prácticas agrícolas cuya adhesión es voluntaria (Flores, 2013). En dichos manuales se aconseja sobre la correcta señalización de los productos fitosanitarios, la organización de los sitios de almacenamiento y el uso de elementos de protección personal para todos los operarios. Dichas recomendaciones se hacen a fin de evitar impactos negativos en el ambiente (Barbado y Sato, 2008).

1.3. Las cubiertas plásticas en la agricultura

En este trabajo también se estudió el impacto sobre el ambiente de otra tecnología muy utilizada en los sistemas productivos frutihortícolas: las cubiertas plásticas. Por tal motivo, es necesario conocer los distintos tipos de usos, posibles vías de ingreso de los plásticos al suelo y el destino ambiental de estos materiales una vez que ya fueron utilizados.

Se define a la plasticultura como la aplicación de materiales plásticos en agricultura, esta técnica permite tener disponibilidad de frutos y legumbres de manera más rápida que las producciones tradicionales (Inocenti, 2014). Los principales usos agrícolas del plástico son para: invernaderos, túneles, mulching, mangueras de riego por goteo, cubiertas flotantes, mallas, media sombra, rompe vientos o antigranizo y bolsas para ensilaje, entre otros (INFOAGRO, 2010).

1.3.1. Usos y propiedades del mulching en la agricultura: una tecnología en expansión

El rápido crecimiento de la población mundial plantea un desafío importante en relación con el desarrollo más eficiente y sustentable de la producción agrícola, sobre todo teniendo en cuenta la limitación de suelo cultivable (Steinmetz et al., 2016). En la búsqueda por satisfacer esta demanda creciente de alimentos (Godfray et al., 2010), el uso de cubiertas plásticas en suelo tipo mulching o acolchado, se convirtió en una técnica globalmente extendida, en particular por su impacto económico inmediato tanto sobre la producción como sobre la calidad de los productos (Lament, 1993; Liu, He y Yan, 2014; Wang et al., 2016).

Tal como se mencionó antes, la técnica de recubrimiento de lomo o mulching es una práctica agrícola aplicada a nivel mundial por sus beneficios económicos, tales como mayores rendimientos, cosechas más tempranas, mejor calidad de las frutas y verduras así como también una mayor eficiencia en el uso del agua (Steinmetz et al., 2016).

Chalker-Scott (2007) define como mulching a cualquier material que se apoya sobre la superficie del suelo y lo diferencia de las enmiendas, que son agregados que se incorporan al perfil del mismo. Scarascia-Mugnozza, Sica y Giovanni Russo (2011) la definen como una técnica de cubrimiento de los suelos, previamente cultivados, con una capa de algún material que protege a las semillas y las plantas jóvenes. Actualmente el plástico es el material predilecto para esta técnica y reemplaza al papel y la paja usados en el pasado (Scarascia-Mugnozza et al., 2011).

Se utiliza fundamentalmente para proteger a los plantines de hortalizas y frutales modificando los microclimas de los cultivos, a través del aislamiento térmico, evitando la evaporación de agua y por lo tanto manteniendo o aumentando levemente la temperatura y la humedad del suelo (Fan et al., 2016; Tarara, 2000; Wu et al., 2017). Otros aspectos beneficiosos de su uso incluyen la prevención de la erosión del suelo, la reducción del crecimiento de malezas y de la presencia de insectos dañinos, que se traduce a su vez en un menor uso de herbicidas, insecticidas y fertilizantes (Chalker-Scott, 2007; Espí et al., 2006; Kara y Atar, 2013; McKenzie, Aponte y Duncan, 2001; Scarascia-Mugnozza et al., 2011).

Estas ventajas permiten que la horticultura sea más viable en países o regiones donde habitualmente no lo es por tener climas muy fríos o calurosos, escasez de agua y suelos muy áridos, entre otros factores (Fan et al., 2016; Scarascia-Mugnozza et al., 2011). Aproximadamente, con un área de 427.000 ha, el recubrimiento con mulching representa la mayor proporción de superficie agrícola cubierta en Europa, siendo cuatro veces mayor a la ocupada en el mismo continente con invernaderos (Scarascia-Mugnozza et al., 2011). Se espera que la superficie mundial recubierta con mulching crezca anualmente un 5,7 % para el año 2019 (Transparency Market Research, 2013). Un caso notable es el de China, que experimentó un incremento sostenido del 30 % anual del área cubierta con esta técnica desde 1991 a 2004 (Espí et al., 2006), alcanzando un total superior a 20 millones de ha (Liu et al., 2014). En nuestro país, dicha superficie se estima que es de aproximadamente 5000 ha, fundamentalmente dedicadas a la producción de tomate, pimiento, frutilla, melón y arándano (INFOAGRO, 2010). Otro dato que sirve para dimensionar las cantidades de plástico utilizadas son las que indican que del total de los plásticos usados en la Argentina por año (1,7 millones de toneladas) aproximadamente el 4 % corresponde a la fabricación de películas agrícolas (Informes de cadena de valor, 2016).

El polietileno (PE) es el material más utilizado para la fabricación de mulching (Sivan, 2011; Steinmetz et al., 2016). Los principales tipos de PE utilizados son: polietileno de baja (PEBD) y alta densidad (PEAD) y polietileno lineal de baja densidad (PELBD), con espesores en el entorno de los 50 μm (Lament, 1993; Steinmetz et al., 2016). El PEAD suele utilizarse cuando se quiere reducir el peso, el costo y tener una película mecánicamente resistente (Lamont, 2005) mientras que el PELBD se utiliza cuando se quiere maximizar la flexibilidad y la resistencia puntual (Steinmetz et al., 2016). En muchos países, como Estados Unidos, está prohibido el uso del PVC para la elaboración del mulching por su toxicidad y potencial carcinogénesis (USEPA, 2012). Sin embargo, el mulching usado en China es mayormente de PVC (Liu et al., 2014). El etilvinil acetato (EVA) y el etilenbutil acrilato (EBA) son

copolímeros que se agregan al PE para aumentar el rendimiento del mulching (Espí et al., 2006) y poder utilizarlo por períodos de tiempo de tres años o más en cultivos de frutillas o espárragos (Steinmetz et al., 2016). Más del 80 % del plástico vendido en el mundo para fines agrícolas es de PEBD aditivado con EVA para la construcción de invernaderos, mientras que el PEBD usado para mulching negro es el segundo plástico más vendido para agricultura (Ramos et al., 2015). Los trabajos de investigación sobre plásticos destinados a la agricultura se enfocan en gran medida en el análisis de la viabilidad o eficacia del uso de películas biodegradables (Brodhagen et al., 2015), sin embargo éstos no han sido todavía aceptados por los productores como una alternativa funcional al PE (Steinmetz et al., 2016).

Existen distintos tipos de mulching como por ejemplo: negro, blanco y transparente, cada uno de ellos tiene diferentes propiedades que permiten la transmisión o reflexión de longitudes de onda específicas provenientes de la radiación solar (Chalker-Scott, 2007; Gordon et al., 2008; Ham, Kluitenberg y Lamont, 1993). La selección del color depende fuertemente del tipo de cultivo y las condiciones climáticas en las que se está tratando de cultivar (Díaz-Pérez, 2010; Hussain y Hamid, 2003; Lament, 1993; Tarara, 2000;). El mulching negro tiene la capacidad de absorber radiación solar y reemitirla como energía térmica (Fan et al., 2016; Lamont, 2005), por tal motivo se suele usar en zonas con climas moderados para aumentar hasta 6 °C la temperatura de los suelos. En regiones muy calurosas, se usa mulching blanco para mantener la temperatura (Gordon et al., 2008; Ham et al., 1993; Tarara, 2000). Por el contrario, los films transparentes se usan en zonas frías puesto que no absorben la radiación solar y pueden transmitir hasta un 85 % de la misma hacia los cultivos (Ham et al., 1993; Tarara, 2000).

1.3.2. Destino ambiental del mulching y sus aditivos

Si bien la mayoría de la bibliografía consultada sobre plásticos agrícolas, hace énfasis en los beneficios a corto plazo del uso del mulching, también es relevante estudiar el impacto ambiental a largo plazo del uso de los plásticos en la agricultura (Steinmetz et al., 2016) ya que una vez que cumplieron su ciclo de vida útil, algunos plásticos no se retiran de los campos. Los de menor espesor son más difíciles de sacar, por lo que a veces son dejados intencionalmente para que se degraden mecánicamente por acción del clima o el arado (Moreno, 2014).

Por definición un polímero es biodegradable si puede desintegrarse, fragmentarse y posteriormente ser utilizado como fuente de carbono por microorganismos (Krzan, 2006; Restrepo-

Florez, 2014; Sivan, 2011). El PE no cumple con estas características, por lo que no es biodegradable (Koutny, 2006; Sivan, 2011). Se sabe que el proceso de degradación del PE es sumamente lento en condiciones naturales (Krueger, 2015; Restrepo-Florez, 2014). El mismo ocurre a través de un paso de fotooxidación por exposición solar en el que el PE sufre una fragmentación física y una degradación química en la que se forman grupos carbonilos que pueden ser atacados por los microorganismos (Hussain y Hamid, 2003; Sivan, 2011). Al respecto, algunas investigaciones informaron únicamente un 0,4 % de disminución del peso total de PE y polipropileno luego de un período de exposición solar de 800 días (Albertsson, 1980; Arkatkar et al., 2009). Ohtake et al. (1998) estimaron un período de aproximadamente 300 años para la degradación de una película de 60 μm de espesor de PEBD.

La degradación de los films de PVC es más difícil, puesto que no se registró degradación en experimentos realizados en períodos cortos (Santana, Gonçalves, Agnelli y Martins-Franchetti, 2012) ni para períodos de exposición entre 10 a 35 años en el suelo (Otake et al., 1995).

El problema principal de la disposición final de los plásticos y su reciclado reside en la contaminación de los mismos con suelo y agroquímicos (González-Sánchez, 2014; Scarascia-Mugnozza et al., 2011). En algunos países se los usa para rellenos sanitarios, pero esta medida también depende del grado de contaminación de los mismos (Steinmetz et al., 2016). Una alternativa propuesta es la incineración de los plásticos y posterior aprovechamiento de la energía obtenida en dicho proceso (Garthe, Lawrence y Buckmaster, 2010). Sin embargo, esto no es una solución puesto que la combustión de PE y PVC produce emisiones tóxicas de gases de efecto invernadero como el monóxido de carbono y de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Wang et al., 2003). En cambio, una alternativa deseable es el reciclado del mulching (Steinmetz et al., 2016), pero esto es sólo posible si los contaminantes constituyen menos del 5 % del peso total del plástico (Clarke, 1996). Actualmente este límite se excede, siendo los porcentajes de contaminantes entre un 40 - 50 % (Levitan y Barros, 2003).

En síntesis, los plásticos que no se retiran del campo se acumulan en el ambiente, eventualmente pierden su integridad y se fragmentan en secciones más pequeñas. Éstas pueden ser ingeridas por los organismos terrestres del suelo, como las lombrices de tierra, siendo entonces una amenaza (Duis y Coors, 2016; Rillig, 2012). La incorporación de residuos plásticos de distintos tamaños al suelo ocasiona así un impacto negativo en el ambiente (Bläsing y Amelung, 2018). Éstos quedan acumulados y abandonados en los propios predios productivos (Liu, 2014; Ramos et al., 2015) lo que puede conducir, por un lado, a cambios en las propiedades físico-químicas del suelo, y por otro a la liberación hacia el suelo, vegetales y la atmósfera de sustancias químicas peligrosas que pueden

estar sorbidas en los plásticos (Liu et al. 2014; Rillig, 2012) como por ejemplo: plaguicidas (Ramos et al., 2015), metales pesados (Ashton, Holmes y Turner, 2010; Koutny, Lemaire y Delort, 2006), bifenilos policlorados (PCBs) (Frías, Sobral y Ferreira, 2010; Velzeboer, Kwadijk y Koelmans 2014) y aditivos, como los ésteres ftálicos (PAEs) (Shi, Zhang y Liu, 2016 ; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2015). En la Figura I-11 se muestran algunos ejemplos de plásticos abandonados en los campos.



a) Residuos de mulching en un campo en China. Fuente: Liu et al., 2014

b) y c) Residuos de mulching y film de invernadero en huertas de San Pedro, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

d) Residuos de mulching acumulados en un predio productivo de la zona de Moreno, Buenos Aires, Argentina. Fuente: Ramos et al., 2015.

Figura I-11. Ejemplos de restos de mulching y film de invernadero abandonados en los predios productivos

1.4. Los ésteres ftálicos

Los ésteres ftálicos son una familia de compuestos químicos utilizados como aditivos para aumentar la flexibilidad y elasticidad de productos plásticos de uso general (Chou y Wright, 2006). En cuanto a su estructura química, son ésteres dialquílicos o arílicos del ácido benceno-1,2-dicarboxílico. En la Figura I-12 se muestran la estructura general de los PAEs y algunos ejemplos de los ftalatos más utilizados a nivel industrial y comercial.

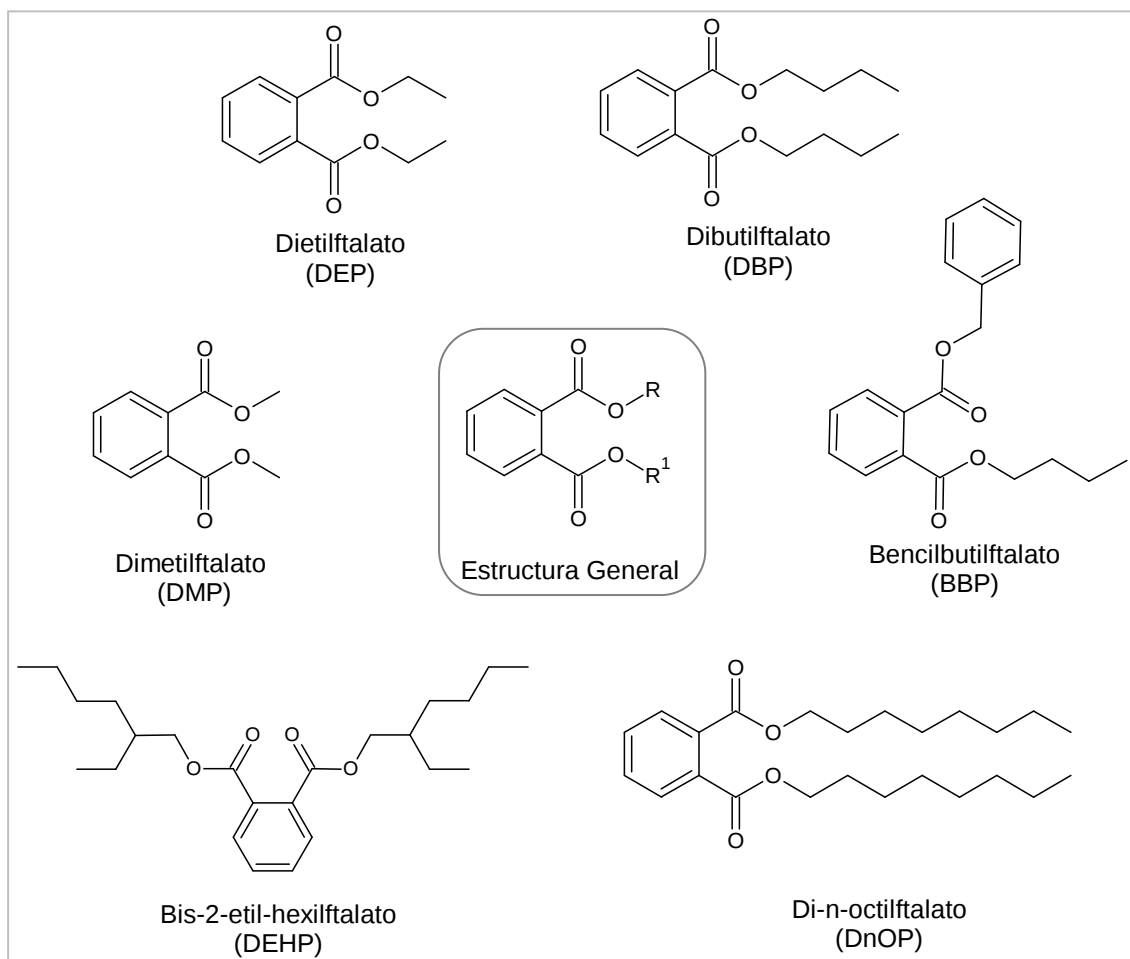


Figura I-12. Estructuras químicas de los ésteres ftálicos.

Los ftalatos de cadena más corta como el DMP, DEP y DBP se emplean como fijadores en cosméticos y productos de higiene personal (Erkekoglu, 2014; Hens y Caballos, 2003; van Wezel et al., 2000). Mientras que los de cadena más larga como el DEHP, DOP y BBP se usan como plastificantes en la industria de los polímeros, en particular, la estabilidad, fluidez y baja volatilidad de los mismos

los hacen aptos para la manufactura del PVC (Hens y Caballos, 2003). Entre sus aplicaciones se los pueden encontrar en la fabricación de: juguetes, films para envolver comida, films para agricultura, productos fitosanitarios y dispositivos médicos, entre otros (Cai et al., 2008; Wang et al., 2013; Xia et al., 2011). Se estima que el consumo global de PAEs es de alrededor seis millones de toneladas por año (Xie et al., 2007), lo cual es un indicador de su importancia industrial y económica (Hens y Caballos, 2003).

Como resultado de su producción a gran escala y su aplicación a nivel mundial, los PAEs pueden ingresar al ambiente durante los procesos de manufactura, uso y desecho de productos plásticos (Kong et al., 2012). Específicamente, dado que son aditivos, no están unidos químicamente a los polímeros y en consecuencia constituyen una fase libremente móvil y lixiviable desde la matriz en la que se encuentren hacia el ambiente (Hens y Caballos, 2003; Zou y Cai, 2009). Es por ello que se distinguen por su ubicua distribución en muchas matrices ambientales (aguas superficiales, lluvia, atmósfera, suelos) y fundamentalmente en los afluentes a las plantas de tratamiento (Berger et al., 2013).

1.4.1. Propiedades físico-químicas de los ésteres ftálicos

Conocer las propiedades físico-químicas de los ftalatos es importante para comprender el comportamiento y destino ambiental de cada PAE (Staples et al., 1997). En líneas generales son líquidos a temperatura ambiente y conforme aumenta la cadena alquílica carbonada se observan las siguientes tendencias (Staples et al., 1997):

- disminuye su solubilidad en agua y aumenta el $\log K_{ow}$, lo que es consistente con un aumento en la hidrofobicidad.
- disminuye la presión de vapor casi en cuatro órdenes, lo que indicaría una menor tendencia de los PAEs de cadena más larga a migrar hacia la atmósfera.
- aumenta la constante de Henry consecuencia de la disminución en la solubilidad en agua.
- aumenta el K_{oc} lo que indicaría una mayor sorción de los ftalatos al suelo o sedimentos.

En la Tabla I-7 se muestran algunas de las propiedades más importantes de los ftalatos usados en los ensayos en este trabajo: DMP, DBP y DEHP.

PAEs	Peso Molecular (g. mol ⁻¹)	Solubilidad en Agua (mg.L ⁻¹)	log K _{ow}	K _{oc} suelo/sedimento (L.kg ⁻¹)	Constante de Henry (atm .m ³ .mol ⁻¹)	Presión de Vapor (mm Hg) a 25°C	Punto de Ebullición (°C)
DMP	194,2	4200	1,61	55-360	$1,22 \cdot 10^{-7}$	$2,0 \cdot 10^{-3}$	283
DBP	278,3	11,2	4,45	$(1,4-15) \cdot 10^3$	$8,83 \cdot 10^{-7}$	$2,7 \cdot 10^{-5}$	340
DEHP	390,6	$3 \cdot 10^{-3}$	7,5	$(87-510) \cdot 10^3$	$1,71 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$	385

Fuente: Adaptado de: Staples et al., 1997.

Tabla I-7. Propiedades físico químicas de los PAEs.

El contenido de PAEs en un producto plástico terminado es aproximadamente entre el 10 % y 60 % de su peso total (Hens y Caballos, 2003). Éstos PAEs podrían ser liberados gradualmente al suelo, absorbidos por los vegetales y por ende, podrían representar un riesgo para los humanos a través de la cadena alimenticia (Fu y Du, 2011; Wang et al., 2015).

El suelo tiene gran afinidad por compuestos orgánicos hidrofóbicos y puede actuar como un sumidero natural de estos contaminantes (Cai et al., 2008). El DEHP es el PAE más abundante en este medio según lo reportado en bibliografía (Fu y Du, 2011; Zhang et al., 2015; Wang, 2016). Esto puede explicarse por las propiedades físico-químicas descritas más arriba, pues es el PAE de mayor peso molecular, menor solubilidad en agua, mayor K_{ow} y K_{oc}. Además no es fácilmente biodegradable, por ende se acumula en el suelo (Zhang et al., 2015). En cambio, los PAEs de menor peso molecular como el DMP, DEP y DBP tienen menor K_{oc}, son relativamente solubles en agua y por lo tanto, se encuentran en menor proporción en los suelos (Li et al., 2010; Yang et al., 2013).

El problema principal de la exposición a PAEs es que son disruptores endócrinos, inductores de la proliferación de peroxisomas y pueden conducir a problemas reproductivos (Chou y Wright, 2006; Erkekoglu y Kocer-Gumusel, 2014; van Wezel et.al, 2000; Zou y Cai, 2009). Además, algunos ésteres ftálicos promueven la mutagénesis, patogénesis y el desarrollo de cáncer (Erkekoglu y Kocer-Gumusel, 2014; Pant et al., 2011). Estudios toxicológicos *in vivo* e *in vitro* realizados con DEHP en ratas, demostraron que dicho PAE ocasiona cáncer de hígado y riñón (Erkekoglu y Kocer-Gumusel, 2014; Hens y Caballos, 2003). En consecuencia, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos clasificó al DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP y DOP como “contaminantes de interés ambiental” (Kong et al., 2012).

En cuanto a su destino en el ambiente, una vez que los PAEs están en el suelo, los de menor cadena carbonada, como el DMP y DEP, pueden ser degradados rápidamente por los

microorganismos, mientras que los de mayor cadena como el DEHP son recalcitrantes (Steinmetz et al., 2016). Al respecto, Cartwright, Thompson y Burns (2000) informaron que el DEP fue biodegradado en el suelo con un tiempo de vida media de 0,75 días a 20 °C, mientras que el DEHP sólo fue degradado en un 10 % luego de 70 días de ensayos en idénticas condiciones. El proceso de degradación microbiana principal está dado por una hidrólisis aeróbica o anaeróbica para formar un monoéster y un alcohol, seguida de la ruptura del anillo aromático (Staples et al., 1997).

La degradación por hidrólisis en condiciones ambientales es poco probable (Staples et al., 1997). Pueden existir procesos de fotodegradación por radiación UV a longitudes de onda corta (254 nm) y larga (365nm) en los que los PAEs se degradan a monoésteres y ácido ftálico (Hankett, Collin y Chen, 2013). El mecanismo de la fotólisis puede darse por la absorción directa de la radiación UV por parte del ftalato o bien, en soluciones acuosas, por la absorción de dicha radiación por el agua y posterior formación de especies radicales que pueden reaccionar con los PAEs (Staples et al., 1997). Se reportaron tiempos de vida media por fotooxidación en agua entre 2 años y 12 años para el DEP y de hasta un año para el DEHP (Staples et al., 1997). En la atmósfera el proceso de fotodegradación es más rápido, encontrándose valores entre 9 días y 93 días para el DMP, entre 0,6 días y 6 días para el DBP y menor a 2 días para el DEHP, indicando que a mayor longitud de la cadena alquílica carbonada, más susceptible es el PAE a la fotooxidación (Staples et al., 1997).

1.4.2. El mulching y los ésteres ftálicos

Establecer una conexión entre la aplicación del mulching y las concentraciones elevadas de PAEs en suelos o plantas no es trivial, ya que existen otras fuentes potenciales de estos contaminantes, como el uso de agroquímicos, fertilizantes y el riego con aguas residuales (He et al., 2014; Hongjun et al., 2013; Wang et al., 2013). Sin embargo, investigaciones recientes en China dan cuenta de que los niveles de contaminación con PAEs en suelos en los que se utilizó mulching, son entre un 74 % y un 208 % mayores respecto a los suelos en los que no se utilizaron plásticos (Kong et al., 2012). Wang et al. (2013) encontraron las mismas tendencias al analizar la influencia de los distintos modos de uso de plásticos en la agricultura china, sobre la contaminación de los suelos. Específicamente, determinaron que aquellos en los que se usaron plásticos tenían entre un 79,3 % y 568 % más de concentración de PAEs que los suelos control, es decir sin uso de plásticos (Wang et al., 2013). Zhang et al. (2015) encontraron concentraciones de PAEs entre 1,37 mg.kg⁻¹ y 4,90 mg.kg⁻¹ en suelos hortícolas donde se utilizó mulching, siendo el DEHP el producto más abundante. Otros

reportes del mismo país informaron niveles totales de PAEs en suelo entre $0,40 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $6,20 \text{ mg.kg}^{-1}$ y de $0,51 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $7,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ en los vegetales que estuvieron en contacto con las cubiertas plásticas (Wang et al., 2015). Kong et al. (2012) establecieron que los suelos hortícolas tienen niveles de contaminación con PAEs mayores que los suelos de basurales, que los suelos agrícolas de uso extensivo y que los suelos de producciones frutales.

Estos resultados abonan la hipótesis de que los plásticos de mulching podrían funcionar como vectores de distribución de los PAEs en las matrices ambientales. Más específicamente, Wang et al. (2013) determinaron que los plásticos destinados para mulching tienen entre 50 mg.kg^{-1} y 120 mg.kg^{-1} de ftalatos dependiendo del color. Presumiblemente este problema es originado por el uso de películas agrícolas de PVC o PE recuperado con algún contenido de PVC. Si bien en nuestro país la mayor parte de las películas plásticas agrícolas son de PE, el desarrollo de corrientes de plásticos reciclados (ej. PE + PVC) o la posibilidad de importación de plásticos agrícolas de PVC, plantean un escenario ambiental preocupante debido al comportamiento de los PAEs como disruptores endócrinos. Adicionalmente, se ha determinado que en Argentina en las producciones con uso intensivo de cubiertas plásticas, la incorporación de pequeños fragmentos de mulching al suelo llega a una cantidad equivalente al 10 % de la superficie cultivada (Ramos et al., 2015), situación que podría aumentar el impacto de estos xenobióticos sobre el suelo productivo.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

El **objetivo general** de este trabajo de tesis doctoral es evaluar estrategias aplicables, en condiciones de producción, para reducir el impacto negativo de la utilización de productos fitosanitarios y plásticos en sistemas hortícolas.

Los **objetivos específicos** del trabajo son los siguientes:

- Desarrollar una metodología para determinar la exposición manual potencial (EMP) de los trabajadores durante la etapa de mezcla y carga de un plaguicida.
- Determinar las variables críticas que modulan la EMP.
- Determinar la Exposición Dérmica Potencial (EDP) y el Margen de Seguridad (MOS) para aplicaciones mecanizadas de plaguicidas (clorpirifós, oxidloruro de cobre y miclobutanil) en campos con durazneros.
- Medir la deriva de los plaguicidas y la cantidad de los mismos que cae en el suelo de los campos de durazneros donde se realizan aplicaciones mecanizadas.
- Calcular indicadores de riesgo para residentes, asociados a la deriva ocasionada por la aplicación mecanizada de plaguicidas, a diferentes distancias del borde de los campos con durazneros.
- Determinar los niveles de ésteres ftálicos (PAEs) presentes en cubiertas plásticas de mulching nuevas y en uso.
- Estudiar los procesos de migración de los PAEs entre el plástico, suelo y atmósfera.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Reactivos y materiales de uso general en el laboratorio

En la Tabla M-1 se detallan los reactivos y materiales de uso general en este trabajo de tesis. Los plaguicidas y ésteres ftálicos utilizados se explicitan más adelante.

Reactivos y materiales	Marca	Calidad	Descripción
Solventes			
Acetato de etilo	Aberkon	PA	Destilado; CAS:141-78-6; $C_4H_8O_2$; PM 88,1
Acetona	Aberkon	PA	Destilado; CAS:67-64-1; C_3H_6O ; PM 58,08
Alcohol Isopropílico	Anedra	PA	CAS:67-63-0; C_3H_8O ; PM 60,10
Ciclohexano	Aberkon	PA	Destilado; CAS:110-82-7; C_6H_{12} ; PM 84,16
Etanol 96 %	Qca. Wisconsin	Medicinal	-
Hexano	Aberkon	PA	Reflujado 8 h con H_2SO_4 y luego destilado; CAS:110-54-3; C_6H_{14} ; PM 86,2
Metanol	Aberkon	HPLC	CAS:67-56-1; CH_3O ; PM 32,04
Tetrahidrofurano	Aberkon	PA	Destilado; CAS:109-99-9; C_4H_6O ; PM 72,11
Tolueno	Anedra	ACS	Destilado; CAS:108-88-3; C_7H_8 ; PM 92,14
Reactivos			
Ácido Nítrico 65 %	Cicarelli	PA	CAS:7697-37-2; HNO_3 ; PM 63,01
Ácido Sulfúrico 98 %	Droquimar	ACS	CAS:7664-93-9; H_2SO_4 ; PM 98,08
Anhídrido Acético	Merck	ACS	Destilado; CAS:108-24-7; $C_4H_6O_3$; PM 102,08
Azul Brillante #1 CI N° 42090	Sensient – Ardenes S.A.	-	CAS: 3844-45-9; $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$; PM 792,85
Cloruro de 2-cloroetilamonio	Fluka Analytical	Puro	CAS: 870-24-6; $C_2H_6ClN.Cl HCl$; Pureza $\geq 98,0$; PM 115,99
Fenoltaleína	Sigma Aldrich	ACS	CAS:77-09-8; $C_{20}H_{14}O_4$; PM 318,32
Hidróxido de Potasio 85 %	Anedra	PA (ACS)	CAS:1310-58-3; KOH ; PM 56,11
Hidróxido de Sodio 98 %	Anedra	PA (ACS)	CAS:1310-73-3; $NaOH$; PM 40,0
Laurilsulfato de Sodio	Anedra	ACS	CAS:151-21-3; $C_{12}H_{24}NaO_4S$; PM 288,38
Naftalensulfonato de Sodio	Danspray SDP	-	CAS: 36290-04-7; $C_{11}H_9NaO_4S$; PM 260,24
Sulfato de Amonio	Anedra	PA (ACS)	CAS:7783-20-2; $(NH_4)_2SO_4$; PM 132,14
Sulfato de Sodio anhídrido	Anedra	PA	CAS: 7757-82-6; Na_2SO_4 ; PM 142,04
Otros			
Glicerina	Química Wisconsin	-	-
Detergente alcalino biodegradable	Anedra	-	-
Sílica gel 60	Merck	-	CAS: 7631-86-9; 0,063-0,200mm de tamaño de partícula

Tabla M-1. Reactivos y materiales de uso general en el laboratorio

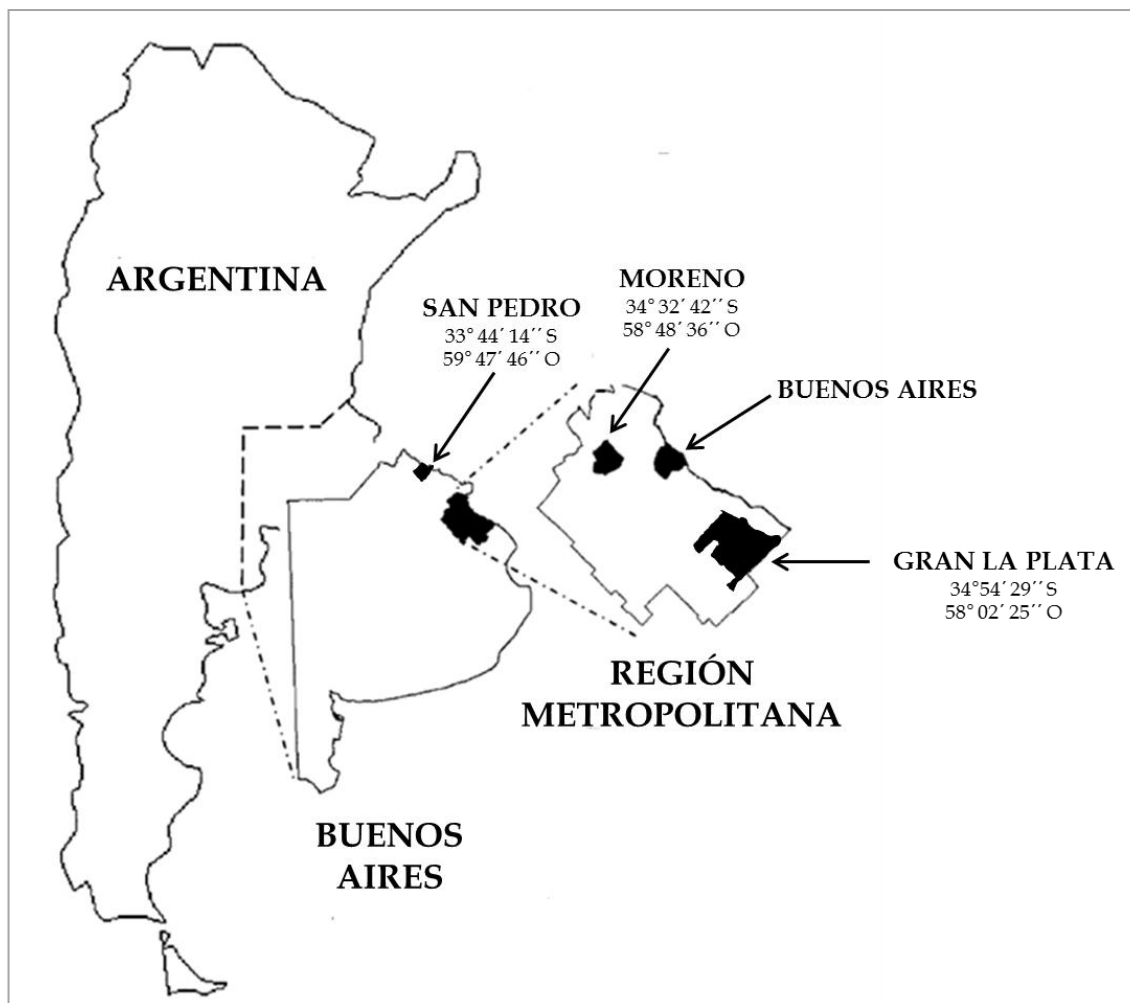
3.2. Equipos e instrumentos utilizados

Los equipos e instrumentos utilizados en los diferentes ensayos en el laboratorio fueron:

- Agitador orbital para cultivo marca FERCA; con temperatura termostatzada.
- Agitador rotatorio, diseñado y armado en el laboratorio de química de la Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Autoclave marca VZ. Modelo: VZ100.
- Balanza analítica marca Adventurer OHAUS, capacidad máxima: $110\text{ g} \pm 0,0001\text{ g}$.
- Balanza granataria marca AND, capacidad máxima: $1200\text{ g} \pm 0,1\text{ g}$.
- Centrífuga marca Rolco. Modelo: CM 2036.
- Cromatógrafo gaseoso marca Perkin-Elmer (Norwalk CT, USA). Modelo AutoSystem con inyector automático, con detector de captura de electrones (ECD) y detector de ionización de llama (FID).
- Cromatógrafo gaseoso marca Perkin Elmer (Norwalk CT, USA). Modelo Clarus 680 con inyector automático y detector ECD.
- En el GC-ECD y en el GC-FID se utilizaron columnas capilares de sílice fundida marca Perkin Elmer Elite-5 (95 % dimetilpolisiloxano - 5 % difenilpolisiloxano de fase estacionaria; 30 m de largo; 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μm de espesor de película).
- Cromatógrafo gaseoso marca Perkin Elmer (Norwalk CT, USA). Modelo Clarus 680 acoplado a un espectrómetro de masas marca Perkin Elmer (Norwalk CT, USA). Modelo SQ8T con ionización por impacto electrónico y con inyector automático.
- En el GC-MS se utilizó una columna capilar de sílice fundida marca Perkin Elmer Elite-5 MS de bajo sangrado (95 % dimetilpolisiloxano - 5 % difenilpolisiloxano de fase estacionaria; 30 m de largo; 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μm de espesor de película).
- Espectrofotómetro UV-VIS marca Perkin-Elmer (Norwalk NJ, USA). Modelo Lambda 25.
- Evaporador Rotatorio marca Büchi.
- Lavador ultrasónico marca TestLab S.R.L. Modelo: TBO2TA.
- Mantas calefactoras marca Heidolph. Modelo: MR2002.
- Mufla marca ORL Hornos Eléctricos. Modelo: 270706.
- RMN-500 Mhz marca Bruker (UMYMFOR- Lanais). Modelo Avance II 500.
- Tamiz de acero inoxidable marca ZonyTest. Malla N° 18 (2000 μm de tamaño de poro).

3.3. Sitios de muestreo

En la Figura M-1 se muestra un mapa con la ubicación de los sitios donde se realizaron los muestreos de los ensayos abordados en este trabajo de tesis. Más adelante, en la sección correspondiente a cada ensayo se hará referencia a esta figura.



Fuente: Adaptado de Hughes et al., 2006.

Figura M-1. Mapa y ubicación geográfica de los sitios donde se realizaron los muestreos en este trabajo de tesis.

3.4. EXPOSICIÓN MANUAL POTENCIAL DURANTE LA MANIPULACIÓN DE DISTINTOS FORMULADOS EN HUERTAS EN ARGENTINA

A continuación se hará una descripción de los materiales y métodos empleados en los ensayos realizados, a escala de laboratorio y en campo, para estudiar los factores que modulan la EMP en la instancia de preparación de los caldos de aplicación de plaguicidas.

3.4.1. Reactivos y materiales

Para la preparación del material de referencia se purificó el procimidone a partir del formulado comercial Sumilex® (polvo mojable, 50 % m/m) con la técnica de recristalización (95 % pureza por GC-FID). La identidad y pureza del principio activo se confirmó por espectroscopía de resonancia magnética nuclear de 500 MHz (RMN) para ^1H y ^{13}C . Se preparó una solución patrón de 100 ppm (mg procimidone . kg^{-1} de solución) en acetona.

Todos los solventes utilizados (Aberkon grado PA) para las soluciones y extractos fueron previamente destilados y se comprobó que fueran aptos para su uso en GC-ECD.

3.4.2. Plaguicida utilizado

El producto comercial utilizado en los ensayos en campo fue:

- Procimidone *N*-(3,5 dicloro fenil)-1,2 dimetil ciclopropano-1,2-dicarboxamida, CASRN [32809-16-8] Sumilex® (polvo mojable, 50 % m/m) (S. Ando y Cía., Argentina).

3.4.3. Sitios de realización de ensayos en campo

Todos los experimentos en campo ($\text{H}_4 - \text{H}_8$) se realizaron en las huertas de Cuartel V del Municipio de Moreno, Provincia de Buenos Aires (Figura M-1). Se trabajó con la colaboración del Instituto Municipal de Desarrollo Económico Local (IMDEL) para localizar a los productores de la zona.

3.4.4. Metodología para determinar la exposición manual potencial

Tanto en los ensayos realizados en campo como en los de laboratorio, la idea general fue reproducir, con guantes de algodón puestos, la tarea de preparación de un caldo de aplicación. En líneas generales, se entiende como preparación a: la apertura de la botella que contiene al plaguicida o sucedáneo del mismo, la medición y pesada del formulado, la carga de éste en un recipiente (por ejemplo una mochila de aplicación) y el enjuague, en caso de ser necesario, del dispositivo de medición.

Para los ensayos en campo se utilizaron botellas con 200 g de un formulado comercial real de tipo sólido. En los ensayos a escala de laboratorio se usaron distintos tipos de botellas que contenían sucedáneos inocuos de plaguicida ya sea en forma líquida o sólida (ver Sección 3.4.4.2 de Materiales y Métodos).

3.4.4.1. Dispositivos utilizados para realizar las mediciones

Para realizar las mediciones de los formulados en el laboratorio se utilizaron:

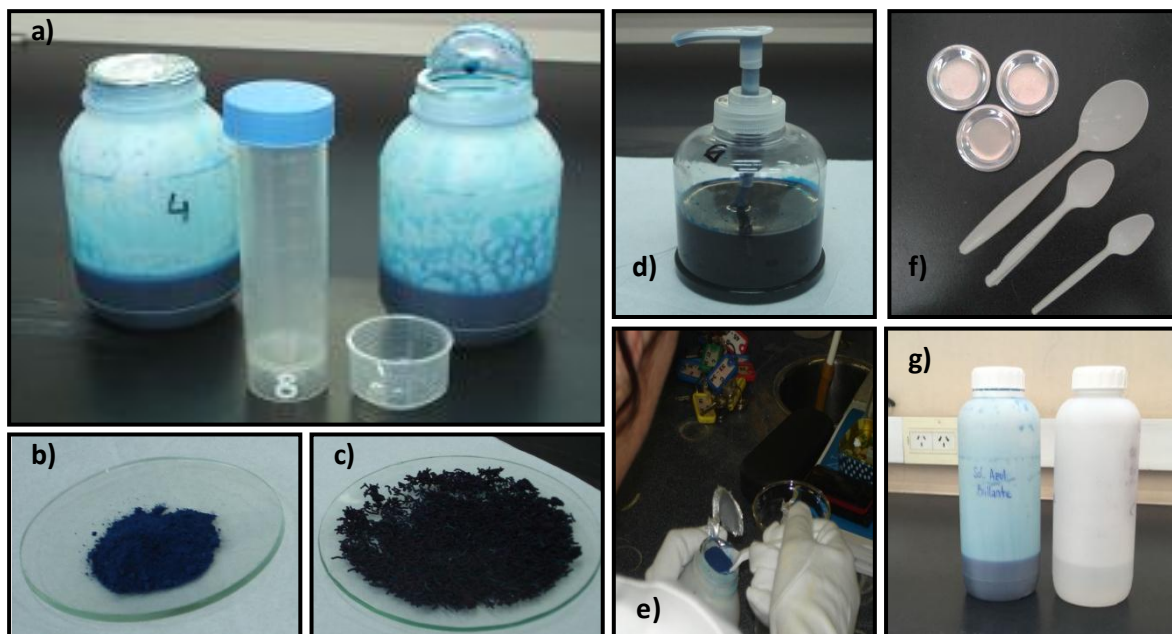
- Copitas graduadas de 15mL (similares a las que acompañan a los antibióticos).
- Tubos de centrifuga tipo Falcon de 50 mL con tapa.
- Dosificadores con bomba de 2 mL (comúnmente utilizados como dispenser de jabones líquidos).
- Cucharas de té de plástico.

Para realizar las mediciones en campo se utilizaron cucharas de plástico. En la Sección 3.4.4.3 de Materiales y Métodos se especifican las características de la preparación del formulado comercial.

En el caso de las formulaciones líquidas, en los ensayos a escala de laboratorio, se pidió a los voluntarios que midieran 10 mL de solución. Para las formulaciones sólidas, se les pidió que tomen una cucharada del formulado. En ambos casos la dosificación fue controlada por pesada.

3.4.4.2. Sucédáneos de plaguicida utilizados en ensayos en laboratorio

Para estudiar las variables críticas de las cuales depende la exposición manual potencial se hicieron mediciones con voluntarios en condiciones controladas en el laboratorio. Se desarrollaron formulaciones utilizando sucédáneos de plaguicidas para que no hubiera riesgo toxicológico para los operadores (Figura M-2).



a) Formulaciones líquidas con Azul Brillante en frascos de 250 mL con sello intacto y roto. Junto a las botellas se muestran los dispositivos de medición: Tubo Falcon de 50 mL y una copita tipo antibiótico. b) Formulación sólida con Azul Brillante, tipo polvo. c) Formulación sólida con Azul Brillante, tipo granulado. d) Bomba dosificadora. e) Dosificación de una formulación sólida con cuchara. f) Sellos de aluminio y cucharas para dosificar sólidos. g) Formulaciones líquidas con Azul Brillante y fenolftaleína en botellas de 1 L.

Figura M-2. Sucédáneos de plaguicidas utilizados en los ensayos en el laboratorio.

En primer lugar se desarrollaron formulaciones líquidas utilizando el colorante bromatológico Azul Brillante. Se realizaron formulaciones acuosas imitando las viscosidades de los productos formulados comerciales, utilizando glicerina como agente espesante. Para estudiar la influencia del color en la contaminación de las manos en la etapa de preparación y mezcla se hicieron formulaciones acuosas incoloras con glicerina, de la misma viscosidad que las anteriores, con fenolftaleína. Se prepararon también formulaciones sólidas con los mismos colorantes utilizando como excipientes sulfato de amonio, laurilsulfato de sodio y naftalensulfonato de sodio. Con la colaboración del grupo de investigación y desarrollo de formulaciones de la empresa Agrofina® se

hicieron formulaciones en gránulos solubles y en polvo. En la Sección 3.4.5 de Materiales y Métodos se describen con mayor detalle las preparaciones de los sucedáneos.

3.4.4.3. EMP en la etapa de mezcla y carga en campo

Para determinar la EMP en condiciones de campo, se le pidió a cinco huerteros que reproduzcan la tarea de preparar un caldo de aplicación para una mochila de 20 L con el plaguicida Sumilex® (polvo mojable, 50 % m/m). La idea global fue que trabajaran en condiciones habituales, sin hacer ningún tipo de indicación respecto al procedimiento de preparación, mezcla y carga de las mochilas. En algunos casos, el plaguicida se dosificó a partir de la botella cerrada (es decir con el sello intacto), mientras que en otros se usaron botellas previamente abiertas. Los voluntarios midieron la dosis con cucharas de plástico y no las enjuagaron con agua. La masa de formulado comercial se midió por pesada.

Previo a la instancia de medición se colocaron al aplicador guantes de vinilo y sobre éstos guantes de algodón absorbente (sistema colector). Se procedió a ejecutar la operación de mezcla y carga de manera habitual. Una vez finalizada la instancia de preparación, se retiraron los guantes de cada mano y guardaron en bolsas de plástico, por separado, hasta su posterior análisis en el laboratorio.

La instancia de preparación y mezcla del producto fitosanitario fue realizada por los huerteros locales tanto dentro de los invernaderos, así como también, fuera de ellos en cultivos al aire libre.

3.4.4.4. EMP en la etapa de mezcla y carga en condiciones de laboratorio.

Los experimentos fueron realizados por estudiantes voluntarios de un curso de química inicial para carreras no vinculadas con la química. En el caso de las formulaciones sólidas, se realizaron dos ensayos, con ocho voluntarios cada uno. En el primero manipularon una botella con un formulado tipo polvo de color azul, mientras que en el segundo utilizaron un formulado granulado del mismo color. En ambos casos se emplearon botellas de 250 mL con sello de aluminio.

En la Tabla M-2 se detallan las condiciones de cada ensayo realizado con formulaciones líquidas.

Ensayo	n ^a	Volumen Botella (mL)	Color	Instrumento de medición	Sello
1	13	250	AB ^b	Copita 15mL	I ^d
2	14	250	AB	Copita 15mL	R ^e
3	19	250	AB	Copita 15mL	S ^f
4	4	250	AB	Tubo Falcon 50mL	I
5	5	250	AB	Tubo Falcon 50mL	R
6	10	250	AB	Bomba Dosificadora	I
7	10	250	AB	Bomba Dosificadora	R
8	9	1000	AB	Copita 15mL	I
9	15	1000	AB	Copita 15mL	S
10	10	250	FI ^c	Copita 15mL	I
11	10	250	FI	Copita 15mL	S
12	10	1000	FI	Copita 15mL	I
13	10	1000	FI	Copita 15mL	R
14	10	1000	FI	Copita 15mL	S

^a número de réplicas; ^b AB: Azul Brillante; ^c FI: Fenolftaleína Incolora; ^d I: Sello intacto; ^e R: Sello roto; ^f S: Sin sello.

Tabla M-2. Condiciones empleadas en los ensayos a escala de laboratorio con formulaciones líquidas.

Cada alumno recibió un conjunto de guantes de algodón limpios, un instrumento de medición (tubo falcon, cuchara, dosificador), una botella de sucedáneo de plaguicida (líquido o sólido), vasos de precipitados, botellas de lavado, etc.

Las instrucciones dadas fueron mínimas, por ejemplo: ponerse los guantes y abrir la botella (esto podría requerir romper el sello de aluminio), dosificar el sucedáneo de plaguicida (medir 10 mL para formulaciones líquidas y en el caso de los formulados sólidos, tomar una cucharada del polvo o granulado), pesarlo y transferirlo a un recipiente de diámetro similar a la boca de una mochila de aplicación (Figura M-3). En el caso de las formulaciones líquidas, también se pidió a los voluntarios que enjuaguen con agua los dispositivos de medición. Las cucharas empleadas para las mediciones de los formulados sólidos no se enjuagaron. Las mismas se guardaron en frascos, por separado, para su posterior análisis en el laboratorio.



a) Ejemplo de un kit de trabajo para formulaciones líquidas. b) y c) Ruptura del sello del aluminio. d), e) y f) Dosificación con distintos instrumentos. g) y h) Pesaje y volcado de una formulación líquida.

Figura M-3. Rutina de medición de los sucedáneos de plaguicida.

3.4.5. Preparación de sucedáneos de plaguicida

3.4.5.1. Formulaciones sólidas

Para preparar 100 g de gránulos solubles en agua se mezclaron 20 g de Azul Brillante con 70 g de sulfato de amonio, 5 g de laurilsulfato de sodio (agente humectante), 4,5 g de naftalensulfonato de sodio (agente dispersante) y 0,5 g de un agente antiespumante en polvo. La mezcla se homogeneizó con molienda y se añadieron entre 5,0 mL y 8,0 mL de agua para formar una pasta húmeda. A continuación, se transfirió a un equipo granulador LCI Benchtop y se obtuvieron pequeños gránulos (3-4 mm). Los mismos se secaron en un horno y se almacenaron hasta su uso.

Los recipientes “símil formulado comercial” se prepararon colocando 30 g de los gránulos en unas botellas de boca ancha de 250 mL. Las mismas se sellaron con un disco de aluminio y polietileno unido con calor a la boca de las botellas. Finalmente éstas se cerraron con una tapa de plástico a rosca.

Las formulaciones en polvo se obtuvieron luego de moler los gránulos y se embotellaron como se describió anteriormente.

3.4.5.2. Formulaciones líquidas

Con el fin de obtener resultados comparables a los ensayos con plaguicidas reales en campo, se desarrolló un sustituto de plaguicida líquido. El mismo contó con características de flujo y viscosidad similares a una formulación del fungicida Sumilex® CS. Tal como se describió en secciones anteriores, se utilizó el Azul Brillante como colorante y la glicerina como agente espesante. Para determinar la viscosidad del sucedáneo se hicieron mezclas agua : glicerina de distinta proporción hasta encontrar aquella tal que 5 mL del líquido fluyeran por una bureta de 25 mL en el mismo tiempo que el formulado Sumilex®. La mezcla adoptada finalmente fue una solución 0,01 M de colorante Azul Brillante en agua al 8 % v/v en glicerina, con una densidad de $1,27 \text{ g.mL}^{-1}$.

Para las formulaciones líquidas incoloras se hicieron soluciones 0,01 M de fenolftaleína, preparadas en una mezcla 33:77 v/v etanol: glicerina, cuya viscosidad fue similar al Sumilex®.

Los sucedáneos de plaguicidas se prepararon colocando 50 mL y 200 mL de las soluciones de Azul Brillante o fenolftaleína en botellas de 250 mL y 1000 mL respectivamente. Se sellaron con un disco termosellable de aluminio unido con calor sobre la boca (35 mm de diámetro) de las botellas y una tapa de plástico a rosca.

3.4.6. Hisopado de botellas de plaguicidas encontradas en las huertas

Se colectaron, al azar, diez botellas de plaguicidas (en uso y vacías) que se encontraban guardadas dentro de cubiertas de auto tapadas con una chapa (Figura M-4).



Figura M-4. Condiciones en las que se guardan los formulados comerciales en algunas de las huertas Moreno.

En la Tabla M-3 se detallan los formulados comerciales de cada botella con el respectivo principio activo:

Formulado Comercial	Principio Activo	Condición de la botella
Starfos® (CE)	Clorpirifós 48 %	Vacía-descartada
Shooter® (CE)	Clorpirifós 48 %	Vacía-descartada
Talone® (SC)	Clorotalonil 50 %	En uso
Endoglex® (CE)	Endosulfán 35 %	En uso
Sumilex® (SC)	Procimidone 50 %	En uso
Decisforte® (CE)	Deltametrina 10 %	En uso
Trigermin® (SC)	Trifluralina 48 %	Vacía-descartada
Daconil® (SC)	Clorotalonil 50 %	Una botella en uso. Otra vacía y descartada.
Thionex® (CE)	Endosulfán 35 %	En uso

Tabla M-3. Botellas de los formulados comerciales colectados en campo.

Para determinar el plaguicida remanente en las paredes exteriores de las botellas de los plaguicidas, se procedió a hisopar cada recipiente por triplicado con paños de tela de algodón embebidos en acetona. Luego, todos los paños que se utilizaron para hisopar una misma botella se pusieron juntos en un frasco de extracción y se llevaron al laboratorio.

3.4.7. Análisis en el laboratorio

3.4.7.1. Muestras con plaguicidas reales de los ensayos a campo

Los guantes de algodón utilizados en los ensayos con Sumilex® se colocaron en frascos de polipropileno, por separado, y se extrajeron con 100 mL de ciclohexano durante 20 minutos en un agitador rotatorio. Las extracciones se realizaron antes que pasaran 8 h desde el ensayo en campo. Los extractos se mantuvieron congelados en freezer a -20°C hasta ser analizados por GC-ECD. La cuantificación se realizó por calibración con estándar externo.

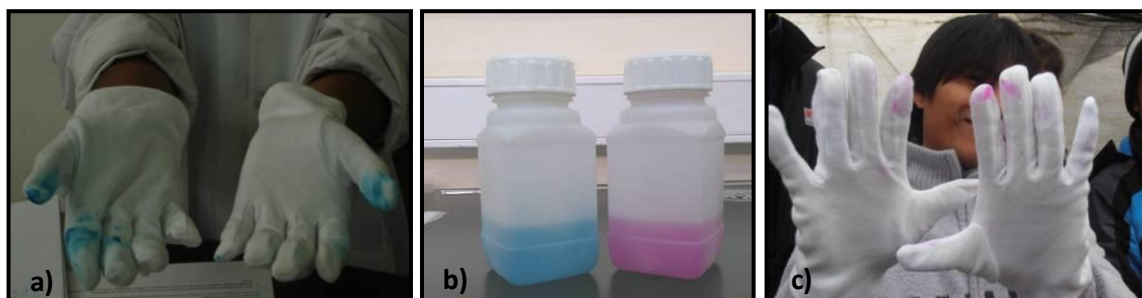
Los paños utilizados para los hisopados, se secaron al aire y se extrajeron con 50 mL de ciclohexano en un agitador rotatorio y se analizaron por GC-ECD.

3.4.7.2. Muestras de los ensayos realizados a escala de laboratorio con Azul Brillante

Los guantes utilizados en los experimentos de colorantes se trataron de forma similar a la descrita para plaguicidas reales usando 100 mL de agua destilada como solvente de extracción. Las cucharas empleadas para dosificar las formulaciones sólidas se extrajeron con el mismo volumen de agua. La absorbancia de los extractos se midió a 629 nm y se cuantificó por comparación con una curva de calibración de Azul Brillante, realizada en tela, en un espectrofotómetro UV-VIS Lambda 25 (Figura M-5).

3.4.7.3. Muestras de los ensayos realizados a escala de laboratorio con fenolftaleína

Los guantes utilizados en los experimentos con fenolftaleína se extrajeron con 100 mL de una solución $1,0 \cdot 10^{-3}$ M de NaOH (pH = 10). La absorbancia de los extractos se midió a 562 nm y se cuantificó por comparación con una curva de calibración de fenolftaleína en el mismo solvente de extracción, en un espectrofotómetro UV-VIS Lambda 25 (Figura M-5).



a) Medición realizada con Azul Brillante. b) Extractos de los guantes manchados con Azul Brillante y fenolftaleína. c) Medición realizada con fenolftaleína. Los guantes tienen color rosa porque para evidenciar la contaminación de las manos se les roció una solución básica de bicarbonato de sodio.

Figura M-5. Guantes manchados luego de realizar una medición.

3.4.8. Metodología: Estimación de riesgo EMP y MOS

La exposición manual potencial se define en este trabajo como la cantidad de plaguicida que puede llegar a las manos (piel o guantes protectores) del operador en el paso de mezcla y carga, expresado en mg del ingrediente activo. La EMP porcentual (% EMP) se define como la EMP

normalizada por la cantidad total de ingrediente activo manipulada en la etapa mezcla y carga (en mg) y multiplicada por 100.

Para las mediciones realizadas en campo, se calculó el margen de seguridad (MOS) tal como se lo describió en la Sección 1.2.6.4 de la Introducción. El $AOEL_{\text{Procimidone}}$ usado fue de $0,035 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (Pesticide Properties Database, 2017).

Para obtener la masa total de analito en cada guante, las concentraciones resultantes del análisis cromatográfico o espectrofotométrico se relacionaron con el volumen del solvente de extracción utilizado en cada caso.

Los valores de MOS calculados para las experiencias realizadas en campo con procimidone (H_4-H_8) se compararon con los datos de MOS reportados en bibliografía para las instancias de mezcla y carga de diversos plaguicidas (captan, deltametrina, procimidone, endosulfán) utilizados en horticultura y floricultura en Argentina (Hughes et al., 2006; Ramos et al., 2010; Flores et al., 2011).

3.4.9. Método cromatográfico para el análisis de los guantes de campo e hisopados

Las condiciones de trabajo en el GC-ECD utilizadas para la determinación de procimidone en los guantes y de residuos de plaguicidas en los paños de hisopado se detallan en la Tabla M-4. Estas mismas condiciones se utilizaron para la determinación de clorpirifós en los trajes muestreadores y paños de algodón de los ensayos tal como se explica en la Sección 3.5.12 de Materiales y Métodos.

Condiciones del GC

Temperatura del Inyector	280°C
Gas portador	N ₂ , 30 psi; flujo auxiliar al ECD 30 mL. min ⁻¹
Volumen de Inyección	1 µL, modo splitless
Temperatura del Horno	190°C por 1,5 min; 45°C.min ⁻¹ hasta 300°C; 10°C.min ⁻¹ hasta 320°C se mantuvo constante por 2min.
Temperatura del ECD	375°C

Tabla M-4. Condiciones del GC-ECD para la determinación de procimidone en los guantes de algodón y otros plaguicidas en las telas de hisopados.

La identidad del procimidone, clorpirifós y los plaguicidas encontrados en los paños de los hisopados se determinó por comparación con los tiempos de retención de los patrones puros de dichos plaguicidas.

3.4.10. Parámetros de validación del método cromatográfico

3.4.10.1. Estabilidad de los plaguicidas en los paños de algodón

De trabajos de investigación previos (Hughes et al., 2006) se determinó que los plaguicidas no se degradan en las telas de algodón luego de 24 h de guardados en freezer.

3.4.10.2. Rango de respuesta lineal

Se realizó una curva de calibrado por GC-ECD para procimidone utilizando tela de algodón como matriz. Las muestras de tela de algodón de 10 cm x 10 cm se enriquecieron con cantidades conocidas de una solución 100 ppm ($\text{mg plag} \cdot \text{kg}^{-1}$ de solución) de procimidone en acetona. Los paños de tela se extrajeron como se describió en la Sección 3.4.7.1, usando 50 mL de solvente de extracción. Los extractos se transfirieron a viales de 2 mL para su posterior análisis por GC-ECD.

En la Figura M-6 se muestran las curvas de calibrado obtenidas en tela y en ciclohexano:

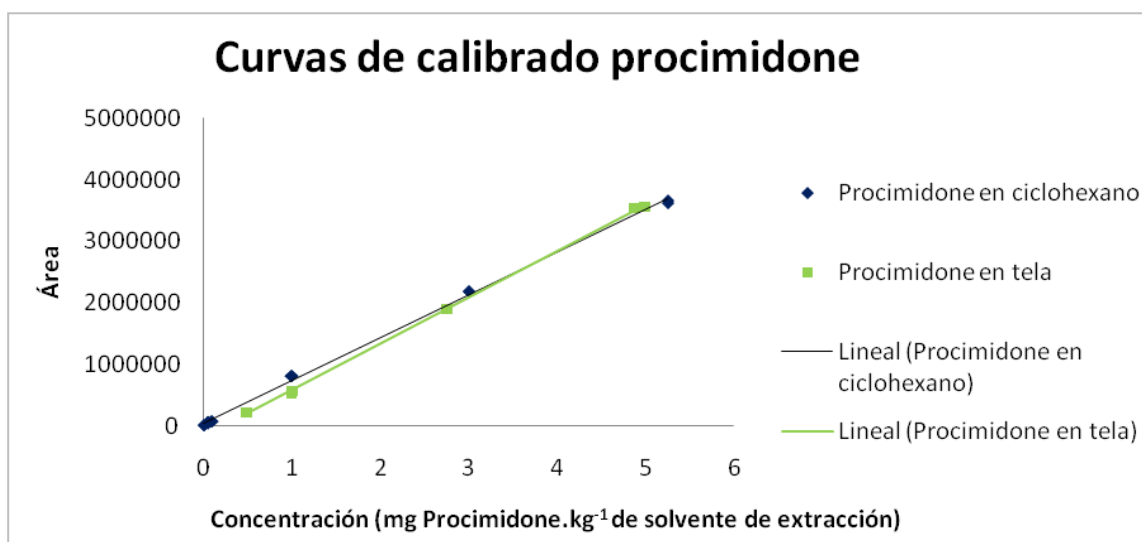


Figura M-6. Curvas de calibrado de procimidone en tela y en solvente.

En la Tabla M-5, se detallan la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de regresión lineal R^2 de las curvas de calibrado en tela y en solvente para el procimidone.

Parámetros de las curvas de calibrado de cada plaguicida						
Plaguicida	Tela			Solvente		
	Pendiente	Ordenada al Origen	R ²	Pendiente	Ordenada al Origen	R ²
Procimidone	753622,7801	-170556,6944	0,9996	695637,9670	43660,9492	0,9984

Tabla M-5. Parámetros de las curvas de calibrado realizadas en tela y en solvente para procimidone.

La respuesta del ECD para las curvas de calibrado fue lineal con un $R^2 > 0,99$. El rango lineal dinámico para la curva de procimidone en tela fue entre 0,50 mg.kg⁻¹ y 4,99 mg.kg⁻¹.

3.4.10.3. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)

Los límites LD y LC para el procimidone, sobre la tela de algodón, se obtuvieron usando el desvío estándar de los residuales (S_y) de la curva de calibración en tela. El LD y el LC se calcularon del siguiente modo:

$$LD = \frac{3.S_y}{m} \quad LC = \frac{10.S_y}{m}$$

donde: S_y es el desvío estándar de los residuales y m es la pendiente de la curva correspondiente.

De esta manera, el LD fue de 0,12 mg.kg⁻¹ y el LC fue de 0,50 mg.kg⁻¹.

3.4.10.4. Recuperación

Con el fin de estudiar la recuperación del plaguicida sobre la tela de algodón, se comparó la pendiente de la curva de calibración preparada en tela de algodón (CM) con la pendiente de la curva de calibración del plaguicida en ciclohexano (CS). La recuperación se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Recuperación} = (CM / CS) \times 100$$

El porcentaje de recuperación obtenido para procimidone fue de 108,3 %.

3.4.10.5. Resolución

En la Figura M-7 se muestran un cromatograma de procimidone ($t_r = 2,74$ min) y, a modo de ejemplo, un cromatograma con todos los plaguicidas encontrados en la superficie externa de una botella, colectada en campo, del formulado comercial Daconil (Clorotalonil 50%).

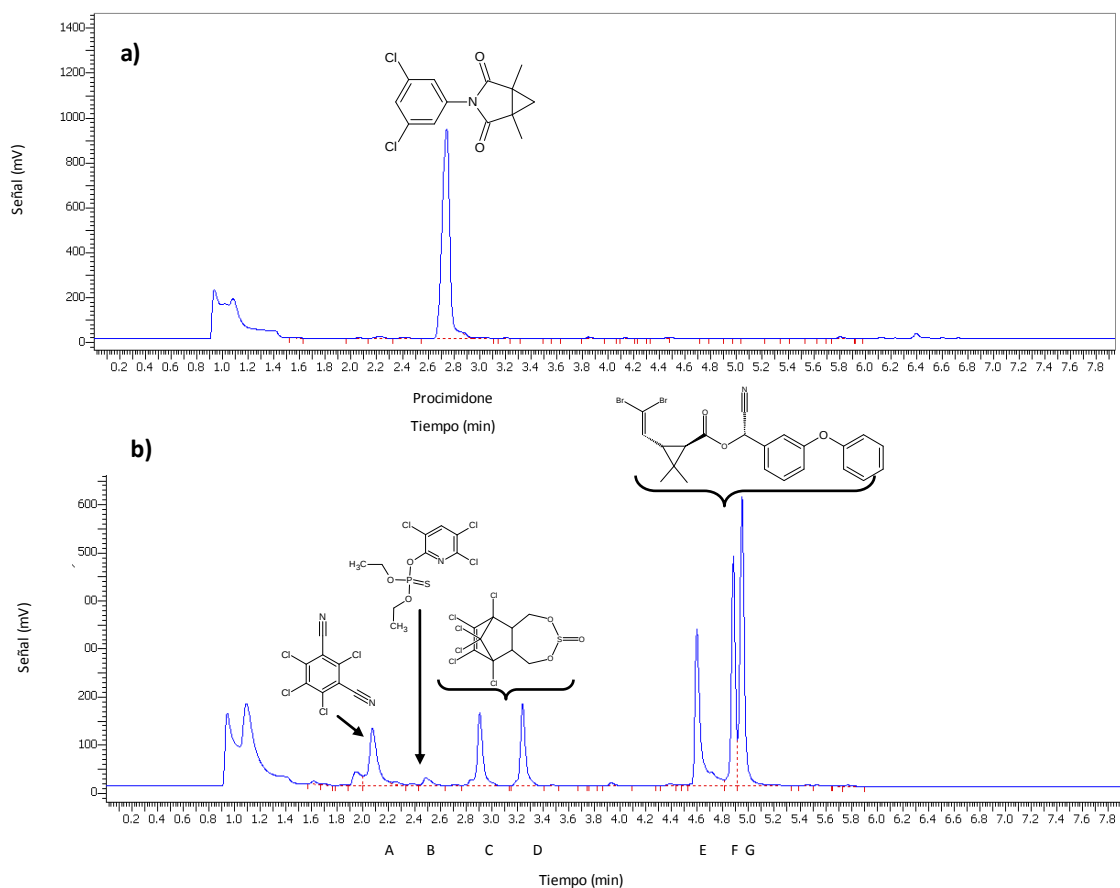


Figura M-7. a) Cromatograma del procimidone. b) Cromatograma de un extracto de hisopado del formulado comercial Daconil (A: Clorotalonil; B: Clorpirifós; C y D: Isómeros de Endosulfán; E, F y G: Isómeros de Deltametrina.)

3.4.11. Parámetros de validación del método espectrofotométrico

3.4.11.1. Rango de respuesta lineal

Se realizaron curvas de calibrado por espectrofotometría UV-Vis para el Azul Brillante y la fenolftaleína utilizando tela de algodón como matriz. En el primer caso, las muestras de tela de

algodón de 10 cm x 10 cm se sembraron con cantidades conocidas de una solución $2,5 \cdot 10^{-5}$ M de Azul Brillante en agua. Mientras que en el segundo caso, se sembraron volúmenes crecientes de una solución $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de fenolftaleína en etanol. Los paños de tela se extrajeron y analizaron por UV-Vis tal como se describió en las Secciones 3.4.7.2 y 3.4.7.3 de Materiales y Métodos, usando 50 mL de solvente de extracción.

En las Figuras M-8 y M-9 se muestran las curvas de calibrado obtenidas en cada matriz:

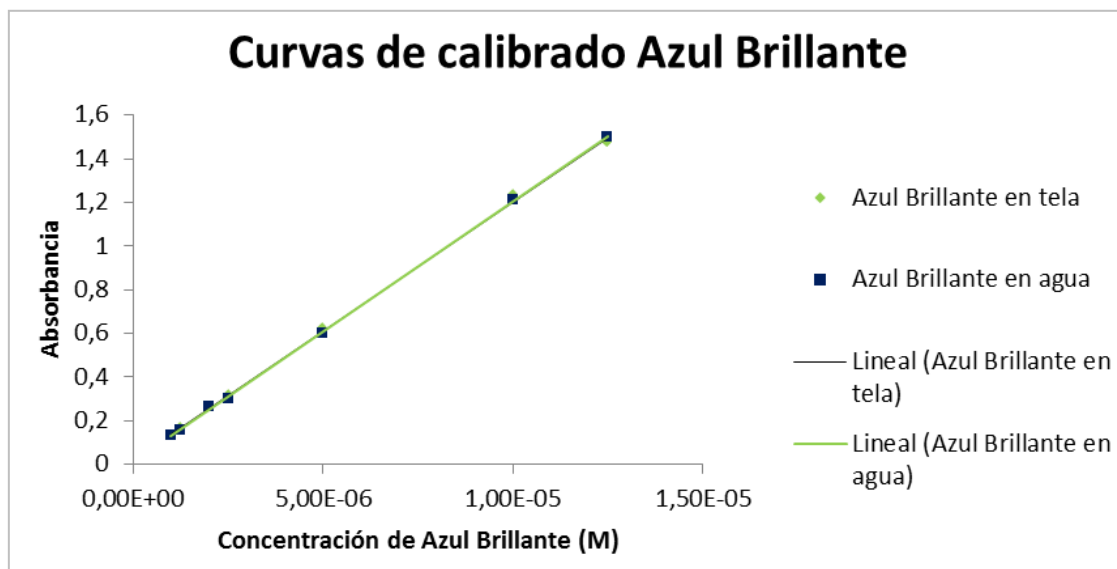


Figura M-8. Curvas de calibrado de Azul Brillante en tela y en agua.

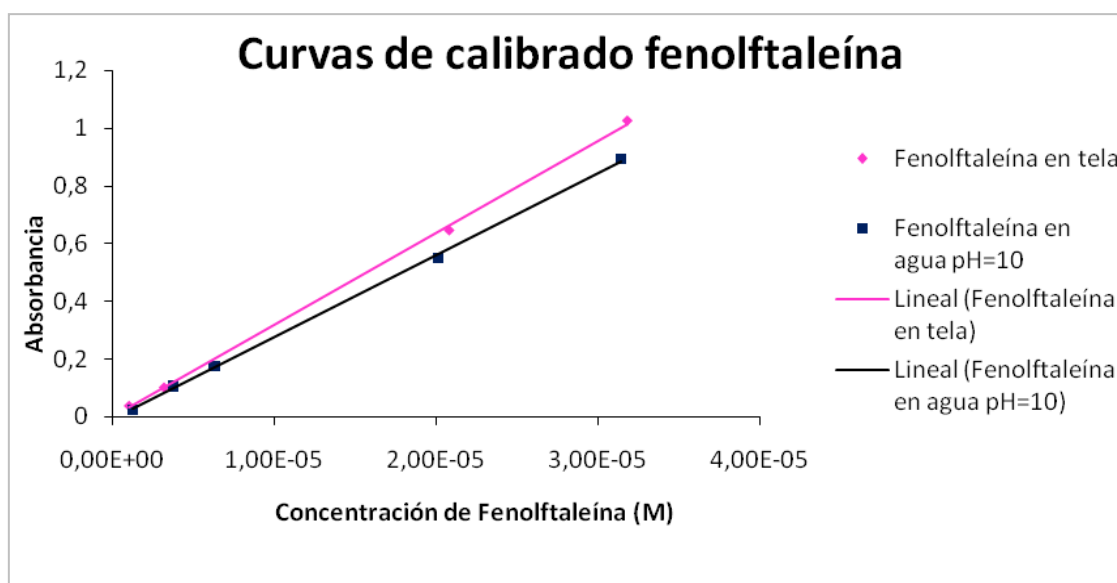


Figura M-9. Curvas de calibrado de fenolftaleína en tela y en agua a pH=10.

En la Tabla M-6, se detallan la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de regresión lineal R^2 de las curvas de calibrado en tela y en solvente:

Parámetros de las curvas de calibrado						
Trazador	Tela			Solvente		
	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2
Azul Brillante	118110,4052	0,0172	0,9997	119420,0198	-0,0073	0,9991
Fenolftaleína	32131,8507	0,0075	0,9989	28504,8921	0,0087	0,9994

Tabla M-6. Parámetros de las curvas de calibrado realizadas en tela y en solvente para cada trazador coloreado.

El rango lineal dinámico para las curvas de cada trazador coloreado en tela se muestra en la Tabla M-7.

Trazador	Rango Lineal Dinámico ($\cdot 10^{-5}$ M de solvente de extracción)
Azul Brillante	0,16-1,25
Fenolftaleína	0,49-3,14

Tabla M-7. Rango lineal dinámico de las curvas de calibrado en tela de cada trazador coloreado.

3.4.11.2. Límite de detección y límite de cuantificación

Los límites LD y LC para cada trazador se calcularon del mismo modo que en la Sección 3.4.10.3 de Materiales y Métodos. Ambos límites se obtuvieron para los trazadores coloreados sobre tela de algodón. De esta manera, el LD para el Azul Brillante fue de $0,04 \cdot 10^{-5}$ M y el LC de $0,16 \cdot 10^{-5}$ M. El LD para fenolftaleína fue de $0,15 \cdot 10^{-5}$ M y el LC fue de $0,49 \cdot 10^{-5}$ M.

3.4.11.3. Recuperación

Se comparó la pendiente de cada curva de calibración preparada en tela de algodón (CM) con la pendiente de la curva de calibración de cada trazador en agua o en el caso de la fenolftaleína, agua a pH=10 (CS). La recuperación se calculó del mismo modo que en la Sección 3.4.10.4 de Materiales y Métodos, siendo de 98,9 % para el Azul Brillante y de 112,7 % para la fenolftaleína.

3.5. EXPOSICIÓN DÉRMICA POTENCIAL DURANTE APLICACIONES MECANIZADAS DE PLAGUICIDAS

A continuación se hará una descripción de los materiales y métodos empleados en los ensayos realizados para evaluar EDP y deriva en aplicaciones de clorpirifós, oxiclورو de cobre y miclobutanil, con un tractor acoplado a una pulverizadora, en un campo de durazneros en San Pedro, Provincia de Buenos Aires.

3.5.1. Reactivos y materiales

Para la preparación del material de referencia se purificaron los formulados comerciales utilizados en campo, con la técnica de recristalización (95 % pureza por GC-FID). La identidad y pureza de los principios activos se confirmó por RMN-500 MHz para ^1H - y ^{13}C . Se prepararon soluciones patrón de 100 ppm (mg plag . kg^{-1} de solución) en acetona o ciclohexano. Todos los solventes utilizados (Aberkon grado p.a.) para las soluciones y extractos fueron previamente destilados y se comprobó que fueran aptos para GC-ECD.

3.5.2. Plaguicidas utilizados en los ensayos a campo

Clorpirifós, miclobutanil y oxiclورو de cobre fueron elegidos para este estudio debido a su uso habitual en la producción de duraznos. Los tres plaguicidas se usaron como trazadores para mediciones de exposición dérmica potencial (EDP) y deriva.

Los productos comerciales utilizados en los experimentos de campo fueron los siguientes:

- Clorpirifós (*O,O*-dietil-*O*-(3,5,6-tricloro-2-piridil)-fosforotioato), CASRN [2921-88-2], Clorfox® (EC, 48% m/v, Gleba).
- Miclobutanil (butil-(4-clorofenil)-1H-1,2,4-triazol-1-propanonitrilo), CASRN [88671-89-0], Systhane E® (EC, 25% m/v, Dow Agrosiences).
- Oxiclورو de cobre ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$), CASRN [1332-65-6], Coura® (WP, 84% m/m, Tort Valls S.A).

3.5.3. Sitios de realización de ensayos a campo

Todos los experimentos de campo (seis en total) se llevaron a cabo en un lote de durazneros en el distrito de San Pedro (Buenos Aires, Argentina), en el invierno de 2014 (10 de julio y 20 de agosto) y en el invierno de 2015 (14 de julio) (Figura M-1).

Se trabajó en parcelas de 20 m x 50 m, con árboles de duraznos (entre 3,0 m y 3,5 m de altura) alineados en filas separadas entre sí 5 m. En una misma fila, la separación entre árboles fue de 3 m (Figura M-10). Los plaguicidas se aplicaron con un tractor John Deere® 5403 acoplado a una pulverizadora Jacto Arbus® 2000 (Figura M-10). El caudal fue de 1085 L.ha⁻¹ utilizando las siguientes boquillas: Albuz® ATR 80 Lila, amarillo y marrón; NCH80-040. Para cada aplicación la velocidad del motor del tractor fue de 2100 rpm 3ºA. La velocidad de aplicación fue de 3,7 km.h⁻¹ y el tanque de rociado del tractor fue presurizado hasta 9,8 bares. Se siguieron las recomendaciones del manual CASAFE (2007) para la preparación de los caldos de aplicación.



Figura M-10. El conductor del tractor y la niebla de la aplicación del plaguicida .

La fecha, la duración de la aplicación, el volumen de caldo aplicado y las concentraciones de plaguicida en cada ensayo se muestran en la Tabla M-8:

Experiencia	Fecha	Duración de la aplicación (min)	Volumen de caldo aplicado (L)	Concentración de Plaguicidas (mg.L ⁻¹)		
				Clorpirifós	Oxicloruro de Cobre	Midobutanil
C ₁	Julio 2014	10,2	100	600	5000	-
C ₂	Julio 2014	10,2	100	600	5000	-
M ₁	Agosto 2014	10,2	150	-	-	37,5
M ₂	Agosto 2014	10,2	150	-	-	37,5
C ₃	Julio 2015	10,8	150	600	4000	-
C ₄	Julio 2015	9,6	150	600	4000	-

Tabla M-8. Condiciones de aplicación en los experimentos C₁, C₂, C₃, C₄, M₁ y M₂.

Las condiciones meteorológicas de los experimentos en campo se presentan en la Tabla M-9:

Experiencia	Dirección del viento ^b	Velocidad del viento (m.s ⁻¹)	T _{aire} (°C)	Humedad Relativa (%)	Presión atmosférica (hPa)
C ₁	SO	3	11	67	1020
C ₂	SO	2	11	69	1020
M ₁	SO	3	25	52	1012
M ₂	SO	2.7	27	50	1012
C ₃	NE	SD	SD ^a	SD	SD
C ₄	NE	SD	SD	SD	SD

^a SD: sin datos.

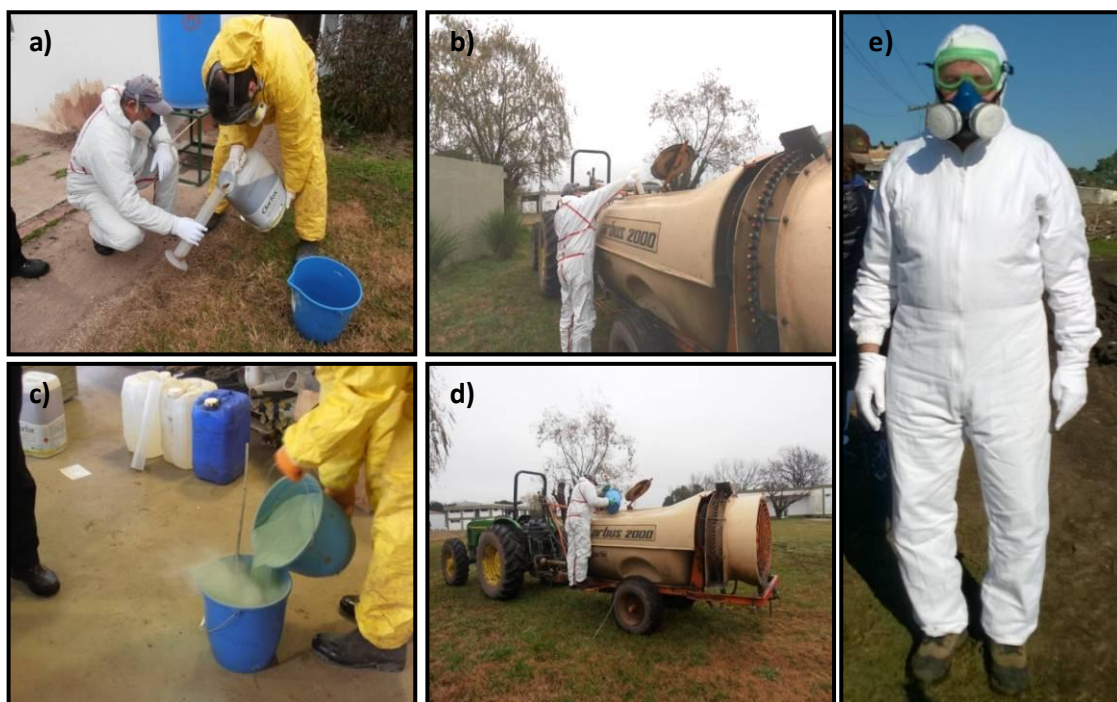
^b Dirección del viento: SO: Sur Oeste - NE: Noreste (Los datos se tomaron con una estación portátil meteorológica marca JDC, modelo Geos N° 9).

Tabla M-9. Datos meteorológicos de los experimentos C₁, C₂, C₃, C₄, M₁ y M₂.

3.5.4. Exposición dérmica potencial

3.5.4.1. Traje muestreador

La exposición dérmica potencial se midió usando la técnica de dosimetría de cuerpo entero (Hughes et al., 2008). En principio, el conductor del tractor procedió a llenar el tanque con 2000 L de agua. Se lo vistió con un equipo Tyvek®, guantes de látex y sobre ellos guantes absorbentes de algodón. Luego, se le pidió que mida el formulado comercial para cargarlo en el tanque. Cuando se terminó esta operación, los guantes de algodón se retiraron y se almacenaron para su posterior análisis en el laboratorio. El conductor trasladó el tractor a la zona de aplicación y luego se lo vistió con botas de caucho de 30 cm de alto, un nuevo traje de protección Tyvek® y sobre él un mameluco de algodón con capucha, guantes de látex y sobre éstos guantes de algodón. También se le dieron antiparras y una máscara. Una vez finalizada la etapa de aplicación, se retiró el mameluco y los guantes de algodón para su análisis de laboratorio. En la Figura M-11 se muestra un operario con el traje muestreador y guantes preparando el caldo de aplicación.



a) y b) Preparación y carga del tanque de la pulverizadora con Clorfox® (clorpirifós). c) y d) Preparación y carga del tanque de la pulverizadora con Coura® (oxicloruro de cobre). e) Operario con mameluco de algodón, máscara, antiparras y guantes de algodón antes de empezar a rociar.

Figura M-11. Etapa de mezcla y carga del caldo de aplicación.

3.5.5. Mediciones de deriva y plaguicida en suelos blanco

La cantidad de clorpirifós y miclobutanil en el suelo de la huerta de duraznos se determinó utilizando muestreadores de tela cuadrada (20 cm x 20 cm) enganchados en un lado a una película plástica de polietileno para evitar la contaminación externa (Figura M-12).

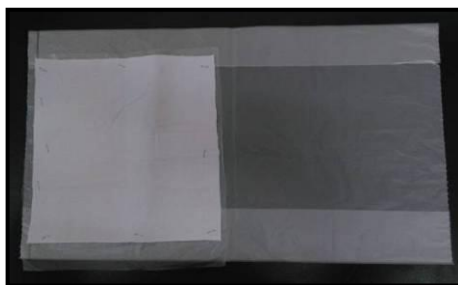
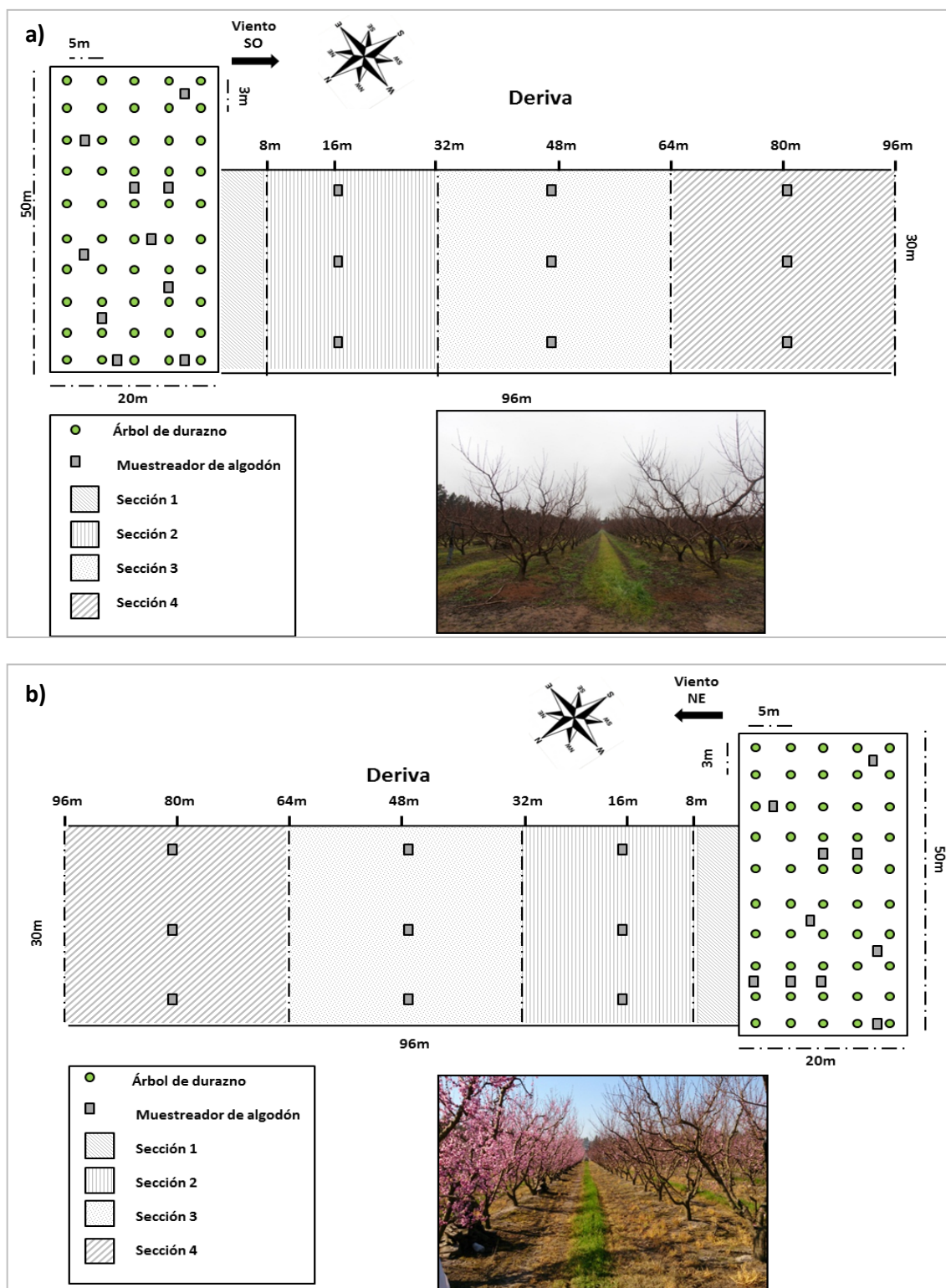


Figura M-12. Paño muestreador para medir deriva en suelo.

Diez muestreadores fueron ubicados al azar en los suelos de cada parcela de durazneros, donde se realizó la aplicación, para los diferentes experimentos (Figura M-13). La deriva de plaguicidas se midió sobre el suelo usando los mismos paños de tela cuadrada (20 cm x 20 cm). Éstos se localizaron a favor del viento en una superficie total de 96 m de largo x 30 m de ancho, en tres hileras separadas 14 m entre sí, a 16 m (S1-S3), 48 m (S4-S6) y 80 m (S7-S9) del borde de la parcela donde se realizó la aplicación (Figura M-13).

Una vez que se terminó la aplicación del caldo, se esperaron 15 min antes de recoger los muestreadores para capturar la mayor cantidad de deriva posible. Los mismos fueron almacenados y etiquetados en bolsas individuales para su posterior análisis en el laboratorio.

Las mediciones de deriva en todos los ensayos de campo se realizaron con condiciones de viento por debajo de 3 m.s^{-1} . Basados en un conjunto de resultados experimentales de la medición de la deriva bajo diferentes condiciones de viento, Gil et al. (2015) determinaron que la cuantificación no se ve significativamente afectada cuando se realizan ensayos de campo con velocidades de viento bajas.



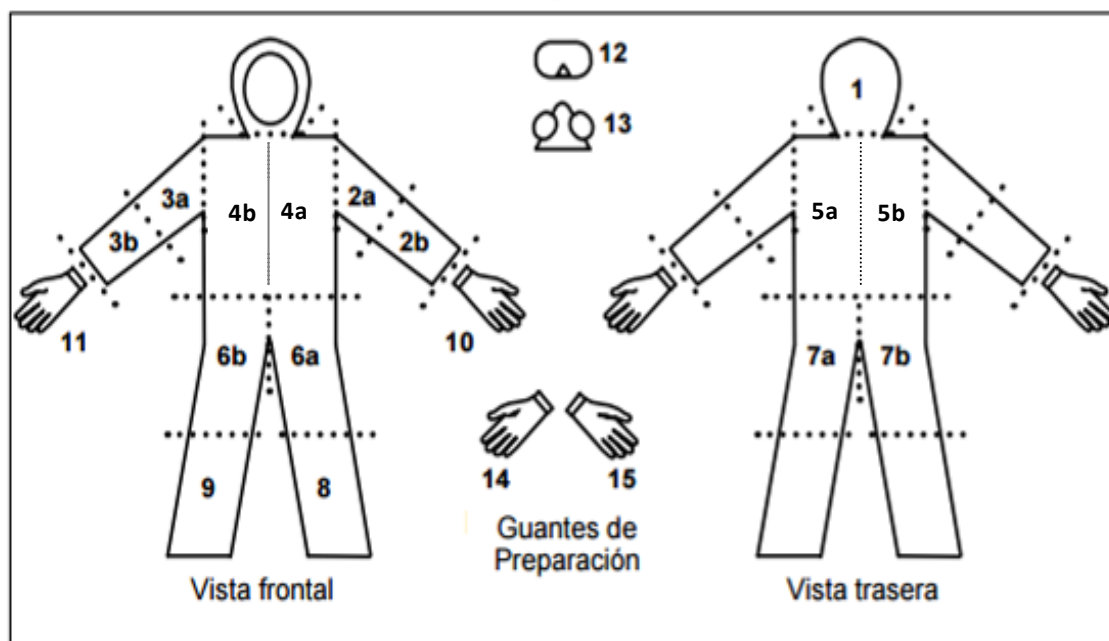
a) Ensayos C_1 , C_2 , M_1 y M_2 . b) Ensayos C_3 y C_4 .

Figura M-13. Esquema de la ubicación de los muestreadores en los ensayos realizados en San Pedro.

3.5.6. Análisis en el laboratorio

Los análisis de laboratorio se realizaron a más tardar 20 h después del ensayo de campo. Ambos plaguicidas fueron estables en los muestreadores de algodón al menos durante las primeras 30 h (datos no mostrados).

En el laboratorio, el traje de algodón se cortó en piezas como se indica en la Figura M-14, cada una se colocó por separado en recipientes de polipropileno y se extrajo utilizando volúmenes adecuados de ciclohexano para clorpirifós y acetona: *n*-hexano 15:85 (v:v) para miclobutanil (Tabla M-10). El solvente se midió con probeta y luego se pesó. Los frascos se agitaron durante 20 min en un agitador rotatorio a temperatura ambiente. Se pasó una fracción de cada extracto a un vial de GC y se almacenó en freezer a -20°C hasta su análisis. Los muestreadores de algodón utilizados para las mediciones de deriva y suelo se extrajeron con 100 mL de solvente de la misma manera. No se analizaron ni las máscaras respiratorias ni las antiparras. Todos los extractos se analizaron por GC-ECD, las condiciones se detallan en la Sección 3.5.12 de Materiales y Métodos.



Fuente: Tomado de: Flores, 2013.

Figura M-14. Esquema de corte para los trajes muestreadores.

Piezas	Código	Volumen Solvente (mL)
Capucha	1	150
Antebrazo Izquierdo	2b	200
Brazo Izquierdo	2a	200
Antebrazo Derecho	3b	200
Brazo Derecho	3a	200
Pecho	4a	350
	4b	350
Espalda	5a	350
	5b	350
Muslo Izquierdo Frente	6a	350
Muslo Derecho Frente	6b	350
Muslo Izquierdo Trasero	7a	350
Muslo Derecho Trasero	7b	350
Pierna Izquierda	8	350
Pierna Derecha	9	350
Guante Izquierdo Aplicación	10	100
Guante Derecho Aplicación	11	100
Guante Izquierdo Preparación	14	100
Guante Derecho Preparación	15	100

Tabla M-10. Volumen de solvente utilizado para las extracciones de las distintas piezas del traje.

3.5.7. Estimación de la EDP

La concentración de la mezcla pulverizada se calculó conociendo el volumen de agua cargado en el tanque, la masa y concentración de los plaguicidas usados. Los resultados de EDP se expresaron como el volumen de la mezcla de pulverización a la que el operador estaría expuesto si continuara pulverizando durante una hora (en $\text{mL} \cdot \text{h}^{-1}$). Para el caso del clorpirifós y el miclobutanil los valores de EDP se obtuvieron usando los volúmenes de extracción para cada sección del traje, la cantidad de plaguicida cromatográficamente determinada (en mg) en cada parte y el tiempo que duró la aplicación. En el caso del oxiclورو de cobre, la EDP se consideró similar a la EDP del clorpirifós para la instancia de aplicación.

3.5.8. Estimación del Margen de Seguridad

El MOS se calculó con la misma expresión explicada en la Sección 1.2.6.4 de la Introducción para la instancia de aplicación y para la de preparación. En el primer caso se consideró la exposición dérmica potencial total EDP (incluye todo el traje y guantes de aplicación) y en el segundo caso se consideró la EMP (que incluye sólo guantes de preparación).

Los valores de AE se calcularon con los siguientes datos de AOEL:

- AOEL_{Clorpirifós} = 0,001 mg . kg⁻¹ . d⁻¹ (EFSA, 2014);
- AOEL_{Miclobutanil} = 0,03 mg . kg⁻¹ . d⁻¹ (EFSA, 2010);
- AOEL_{Oxicloruro de cobre} = 0,25 mg . kg⁻¹ . d⁻¹ (Pesticide Properties Database, 2017)

Para el cálculo del MOS de la instancia de mezcla y carga sólo se consideró la masa de plaguicida encontrada en los guantes de preparación. Para la etapa de aplicación se tuvieron en cuenta todas las partes del cuerpo, incluidos los guantes, pero sin considerar las antiparras y la máscara. El MOS en dicha etapa se evaluó teniendo en cuenta la cantidad de plaguicida que llegó al trabajador en una hora de aplicación.

3.5.9. Cantidad de plaguicida en los suelos donde se realizó la aplicación

La cantidad de clorpirifós o miclobutanil en cada paño se calculó usando los volúmenes de extracción y la cantidad de plaguicida (en µg) determinada cromatográficamente. Luego, se promediaron las cantidades encontradas, de cada plaguicida, en los muestreadores (n=10) situados en el suelo de la parcela donde se realizó la aplicación. Estos valores promedio se dividieron por el área del muestreador de 20 cm x 20 cm (400 cm²) y se multiplicaron por la superficie total de dicha parcela en cm².

3.5.10. Cálculos de deriva

La zona de muestreo de deriva se dividió en cuatro secciones: 0 m - 8 m (Sección 1), 8 m - 32 m (Sección 2), 32 m - 64 m (Sección 3) y 64 m - 96 m (Sección 4) desde el borde de cada parcela

rociada (Figura M-13). Para calcular la cantidad media de plaguicidas en cada sección se utilizaron los siguientes criterios:

➤ **Sección 1:** Se consideró la masa promedio de plaguicida ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) encontrada para el suelo de la parcela de durazneros donde se realizó la aplicación. Este valor se multiplicó por el área de sección 1 (cm^2).

➤ **Secciones 2, 3, 4:** La masa promedio total de plaguicida ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$), que llegó por deriva al suelo de cada una, se multiplicó por el área de cada sección (cm^2).

Para calcular la cantidad relativa de plaguicida en el suelo, la masa hallada de cada plaguicida en cada sección se dividió por el total aplicado y se multiplicó por 100.

3.5.11. Estimación de los indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos

Se estimaron los indicadores de riesgo para residentes siguiendo las definiciones de Cunha et al. (2012) tal como se explicó en la Sección 1.2.6.7 de la Introducción. Para los residentes directos se consideró una frecuencia de 20 aplicaciones por año. Los RIs se calcularon para distancias de 0 m, 16 m, 48 m y 80 m desde el borde de la parcela rociada.

En el caso de la aplicación simultánea de clorpirifós y oxiclورو de cobre, los RIs de la mezcla se calcularon considerando los efectos del clorpirifós y el oxiclورو de cobre independientes y aditivos.

Se usaron los mismos datos de AOEL que para el MOS (Sección 3.5.8 de Materiales y Métodos).

3.5.12. Método cromatográfico

Las condiciones de trabajo en el GC-ECD utilizadas para la determinación de clorpirifós son las mismas que se utilizaron para procimidone (ver Sección 3.4.9 de Materiales y Métodos). Las condiciones para la determinación de miclobutanil en los trajes y paños de algodón se detallan en la Tabla M-11.

Condiciones del GC

Temperatura del Inyector	280°C
Gas portador	N ₂ , 45 psi; flujo auxiliar al ECD 30 mL. min ⁻¹
Volumen de Inyección	1 µL, modo splitless
Temperatura del Horno	80°C por 0,5 min; 45°C.min ⁻¹ hasta 300°C; 10°C.min ⁻¹ hasta 320°C se mantuvo constante por 2min.
Temperatura del ECD	375°C

Tabla M-11. Condiciones del GC-ECD para la determinación de miclobutanil en los trajes y paños de algodón.

3.5.13. Parámetros de validación del método cromatográfico**3.5.13.1. Rango lineal**

Se realizaron curvas de calibrado por GC-ECD para clorpirifós y miclobutanil utilizando tela de algodón como matriz. Las muestras de tela de algodón de 10 cm x 10 cm se enriquecieron con cantidades conocidas de una solución 100 ppm (mg plag. kg⁻¹ de solución) de cada plaguicida en acetona. Los paños se extrajeron como se describe en la Sección 3.5.6 de Materiales y Métodos, usando 50 mL de solvente. Los extractos se transfirieron a viales de 2mL para su posterior análisis por GC-ECD.

En las Figuras M-15 y M-16 se muestran las curvas de calibración de cada plaguicida en ciclohexano, para clorpirifós, o en una mezcla de acetona: hexano 15: 85 (v:v) para miclobutanil.

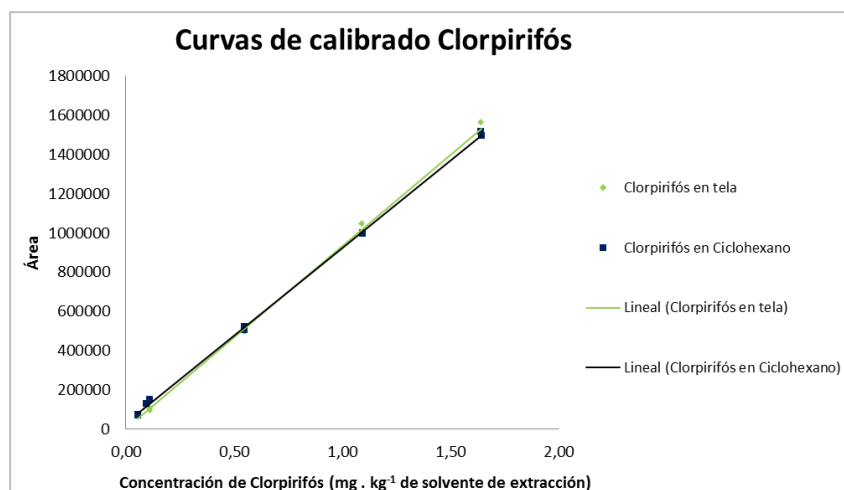


Figura M-15. Curvas de calibrado de clorpirifós en tela y en solvente.

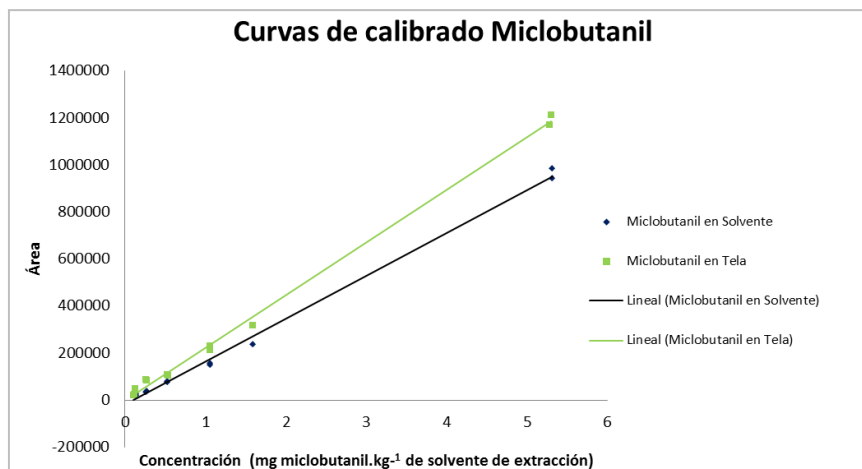


Figura M-16. Curvas de calibrado de miclobutanil en tela y en solvente.

En la Tabla M-12, se detallan la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de regresión lineal R^2 de las curvas de calibrado en tela y en solvente para cada plaguicida.

Parámetros de las curvas de calibrado de cada plaguicida						
Plaguicida	Tela			Solvente		
	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2
Clorpirifós	927743,5575	4324,5086	0,9984	892359,3964	30219,6555	0,9993
Miclobutanil	224075,6887	-2955,4124	0,9977	182522,5048	-19859,8016	0,9965

Tabla M-12. Parámetros de las curvas de calibrado realizadas en tela y en solvente para cada plaguicida.

La respuesta del ECD para las curvas de calibrado fue lineal con un $R^2 > 0,99$. El rango lineal dinámico para las curvas de cada plaguicida en tela se muestra en la Tabla M-13.

Plaguicida	Rango Lineal Dinámico (mg plag.kg ⁻¹ de solvente de extracción)
Clorpirifós	0,12-1,64
Miclobutanil	0,7-5,3

Tabla M-13. Rango lineal dinámico de las curvas de calibrado en tela de cada plaguicida.

3.5.13.2. Límite de detección y límite de cuantificación

Los límites LD y LC para cada plaguicida se obtuvieron experimentalmente usando el método de señal-ruido. El LD se estimó para una relación señal : ruido de 3 y el LC se determinó para una relación señal : ruido de 10. Ambos límites se obtuvieron, por sextuplicado, para los plaguicidas individuales sobre tela de algodón por GC-ECD. De esta manera, el LD para el clorpirifós fue de 0,02 mg.kg⁻¹ y el LC de 0,12 mg.kg⁻¹. El LD para miclobutanil fue de 0,3 mg.kg⁻¹ y el LC fue de 0,7 mg.kg⁻¹.

3.5.13.3. Recuperación

Se comparó la pendiente de cada curva de calibración preparada en tela de algodón (CM) con la pendiente de la curva de calibración de cada plaguicida en ciclohexano o una mezcla de acetona: hexano 15: 85 (v:v) (CS). La recuperación se calculó del mismo modo que para procimidone (ver Sección 3.4.10.4 de Materiales y Métodos). El porcentaje de recuperación obtenido para clorpirifós fue de 103,5 % y de 123,0 % para el miclobutanil.

3.5.13.4. Resolución

En la Figura M-17 se muestran, a modo de ejemplo, los cromatogramas de clorpirifós (t_r = 3,41 min) y del miclobutanil (t_r = 5,13 min).

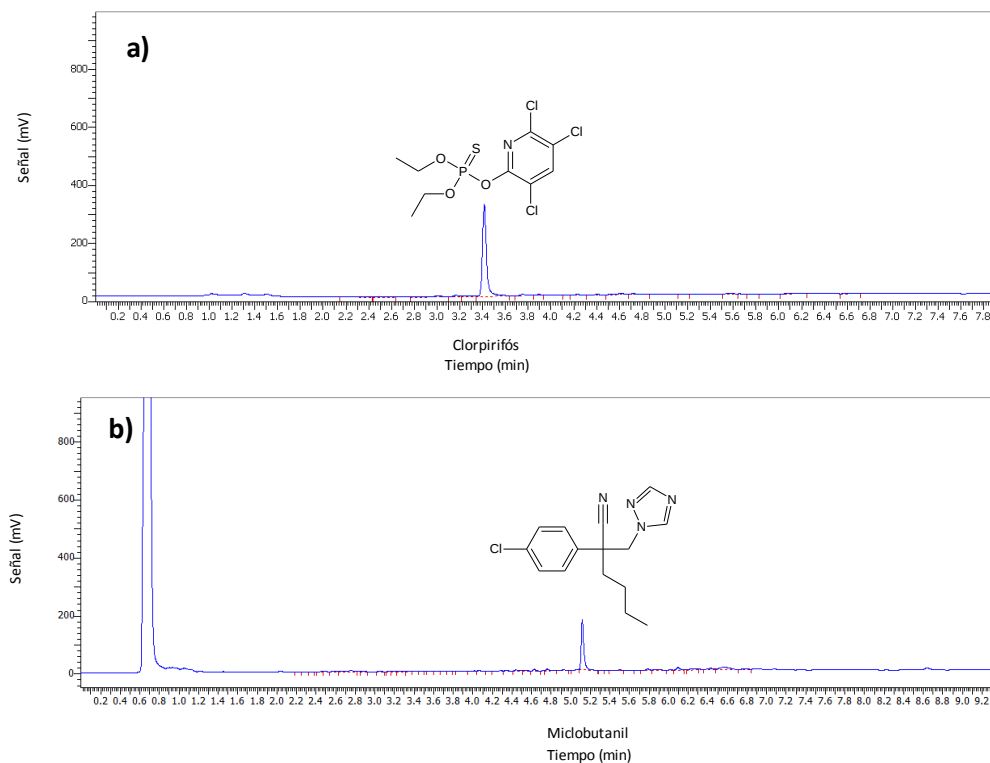


Figura M-17. a) Cromatograma del clorpirifós. b) Cromatograma del miclobutanil

3.5.13.5. Precisión intermedia

La precisión intermedia del método analítico se determinó con la inyección de cada curva de calibrado de clorpirifós y miclobutanil en tela. Este procedimiento se repitió seis veces en días diferentes, apagando y prendiendo el cromatógrafo entre cada repetición. En la Tabla M-14 se indican los valores promedio de las pendientes con sus respectivos desvíos estándar porcentuales (% RSD), los cuales fueron menores al 10 % en todos los casos.

Analito	Pendiente	% RSD
Clorpirifós	823631,65	3,94
Miclobutanil	224957,31	5,14

Tabla M-14. Precisión intermedia del Clorpirifós y de Miclobutanil.

3.6. ÉSTERES FTÁLICOS

A continuación se describirán los materiales y métodos correspondientes a los ensayos realizados con películas plásticas y ftalatos.

3.6.1. Protocolo de limpieza de reactivos y materiales previo a su uso

El ciclohexano y hexano (Aberkon grado p.a.) utilizados para las soluciones y extractos fueron previamente refluados con H_2SO_4 (c) durante ocho horas y luego fueron destilados. La acetona (Aberkon grado p.a.) y el anhídrido acético sólo se destilaron. Luego, se chequeó que los solventes fueran aptos para su uso por GC-ECD.

Para evitar contaminación cruzada con ésteres ftálicos que pudieran estar presentes en el laboratorio, se realizó un protocolo riguroso de lavado. En particular, todo el material de vidrio se dejó en remojo por dos días en agua con detergente alcalino biodegradable concentrado (Anedra) y lavandina. Luego, se lo enjuagó y dejó en remojo por ocho horas en una solución $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ de KOH (85 % Anedra grado PA) en alcohol isopropílico (Anedra grado PA). Se procedió a enjuagar con una solución de HNO_3 (10% m/v) y luego con agua destilada. Finalmente se calentó el material en mufla a 400°C por cuatro horas. Todo el material de vidrio se envolvió con papel aluminio y se guardó en cajas de cartón. Antes de usarlo, se lo enjuagó con acetona. No se empleó ningún tipo de material de plástico en estos ensayos.

3.6.2. Sitios de realización de ensayos a campo

Se muestrearon diferentes tipos de cubiertas plásticas utilizadas en horticultura en las zonas de Cuartel V del municipio de Moreno y el cinturón agrícola del Gran La Plata, ubicados al noroeste y sur de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Figura M-1). Las muestras de Moreno fueron colectadas en Diciembre de 2016, mientras que las de La Plata fueron tomadas en Abril de 2017.

En el caso de las cubiertas plásticas vírgenes, es decir sin uso, se compró en un proveedor local film de PE para mulching negro y film de PE aditivado con EVA para construcción de invernaderos.

3.6.3. Metodología para el muestreo de películas plásticas y suelo en los ensayos a campo

En el caso de las películas plásticas, en líneas generales se tomaron recortes de aproximadamente 400 cm² (20 cm x 20 cm) de cada tipo. Para evitar cualquier contaminación de PAEs presentes en el ambiente las muestras se guardaron en sobres de papel madera.

Las muestras de suelo se tomaron con palas metálicas previamente lavadas con acetona. En los casos que fueron necesarios, antes de tomar las muestras, se procedió a separar manualmente restos de plantas, raíces y basura. Se colectaron aproximadamente 100 g de suelo de entre 0 cm y 15 cm de profundidad por cada punto de muestreo y se guardaron en bandejas de papel aluminio.

3.6.3.1. Muestreo de películas plásticas vírgenes

En particular, se tomaron recortes de films de polietileno de baja densidad (PEBD) empleados para mulching negro de 25 µm de espesor (MNV) y para construcción de invernaderos de 100 µm de espesor aditivado con etilvinilacetato (EVA). De cada tipo de película plástica se tomaron tres submuestras.

3.6.3.2. Muestreo películas plásticas en uso y abandonadas en los predios productivos

En la zona de Moreno se colectaron al azar: nueve submuestras de polietileno en uso para mulching negro (MN) de un cultivo de frutillas al aire libre; nueve submuestras de film de polietileno para construcción de túneles, en uso, del mismo frutillar (FT); tres muestras de polietileno tipo cristal de 100 µm de espesor pertenecientes a tres invernaderos diferentes (FI) y tres muestras de manguera de riego por goteo abandonadas, de aproximadamente 1 m (MR). En la Figura M-18 se indican, en un esquema, los puntos de muestreo.

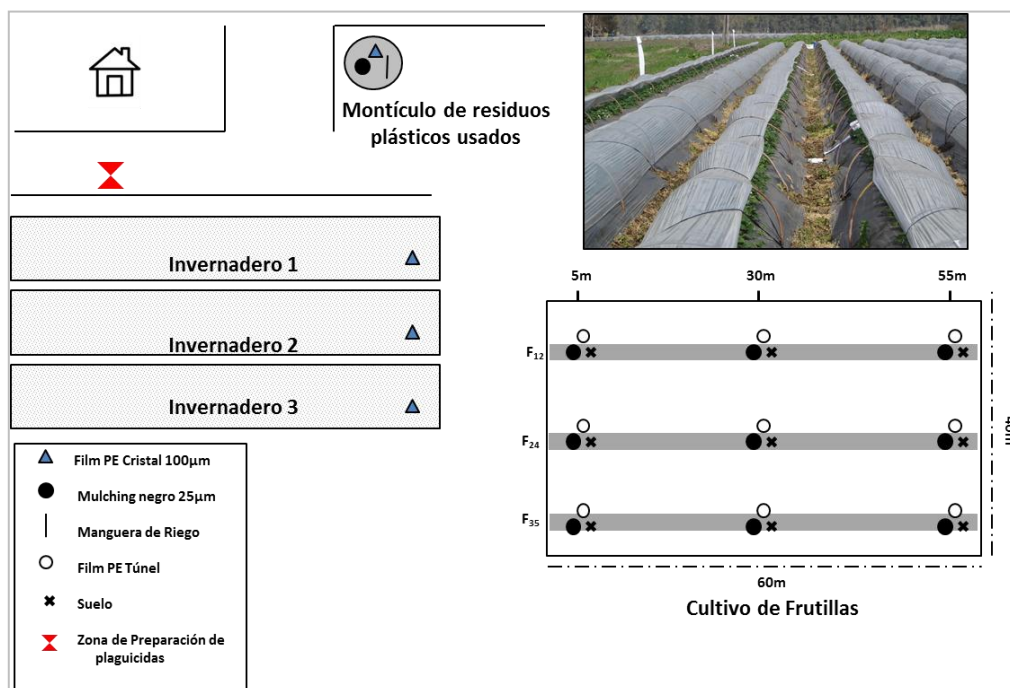


Figura M-18. Esquema de los puntos de muestreo de cubiertas plásticas y suelos en la huerta de Moreno.

En la zona de La Plata se colectaron: nueve submuestras de polietileno en uso para mulching negro (MN) de un cultivo de tomates bajo invernadero; dos muestras de polietileno tipo cristal de 100 µm de espesor pertenecientes a dos invernaderos diferentes (FI) y tres muestras de manguera de riego por goteo abandonadas, de aproximadamente 1m (MR). En la Figura M-19 se indican, en un esquema, los puntos de muestreo.

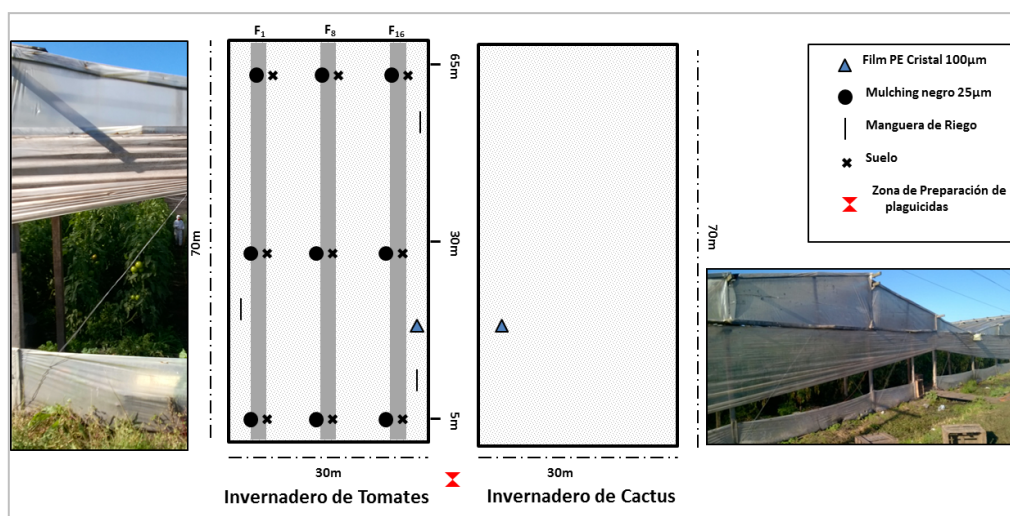


Figura M-19. Esquema de los puntos de muestreo de cubiertas plásticas y suelos en la huerta de La Plata.

Por otro lado, se colectaron por triplicado recortes de plásticos fuera de uso, pero acumulados en los predios productivos de la zona de Moreno (Figura M-20), de mulching negro (MNA) y film de invernadero de polietileno cristal (FIA).



Fuente: Ramos et al., 2015.

a) Film de PE tipo cristal y EVA. b) Mulching negro.

Figura M-20. Films de PE acumulados y abandonados cerca de los predios productivos en Moreno.

3.6.3.3. Muestreo de suelos en contacto directo con las películas plásticas

Las muestras de suelo en las zonas de Moreno y La Plata se colectaron del mismo lugar en que se tomaron al azar las muestras de MN y FT. En total se tomaron nueve muestras de suelo de cada sitio. Tal como se mencionó antes, en la zona de Moreno los suelos pertenecen a un cultivo de frutillas al aire libre con simple capa de MN y recubiertos con una sola capa de FT (Figura M-18). En el caso de La Plata los suelos son de un cultivo de tomate bajo invernadero con simple capa de MN (Figura M-19).

3.6.4. Análisis en el laboratorio de las muestras de suelo y cubiertas plásticas

Las distintas muestras de film de polietileno se lavaron con agua destilada, se secaron a temperatura ambiente y se cortaron con tijera en secciones de 1 cm x 1 cm.

Los suelos se secaron a temperatura ambiente en bandejas de papel aluminio. Luego se tamizaron con un tamiz de acero inoxidable de 2000 µm de tamaño de poro.

Ambos tipos de muestras, films plásticos y suelos se guardaron en bandejas de papel aluminio, por separado y tapadas con dicho papel, en freezer a -20°C hasta su análisis.

3.6.4.1. Extracción de PAEs de muestras de suelo y cubiertas plásticas

Se pesaron 10 g de cada tipo de suelo y 1,2 g de cada muestra de film de polietileno, con balanza analítica, en frascos de vidrio color caramelo. En el caso de los suelos se agregaron 25 mL de una solución de hexano : acetona (1:1), mientras que para las cubiertas plásticas se agregaron 25 mL de hexano. Los frascos color caramelo se taparon con sellos de papel aluminio y tapa a rosca. Todas las muestras se agitaron con un agitador orbital por 20 min y luego se extrajeron por medio de sonicación por otros 20 min. Adicionalmente, las muestras de suelo se pasaron a tubos cónicos de vidrio y se centrifugaron por 10 min. Luego, se tomaron los extractos y se llevaron a sequedad con un evaporador rotatorio. Finalmente, se agregaron 2 mL de hexano a cada muestra y se guardaron en viales de inyección.

La determinación de PAEs se hizo con dos técnicas analíticas. Por un lado con cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas y por otro con cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones. En el primer caso, las soluciones se transfirieron a viales directamente para su posterior determinación analítica por GC-MS. Para la determinación de PAEs por GC-ECD, todos los extractos de las muestras se pasaron a tubos de vidrio con tapón esmerilado para proceder a derivatizarlos, tal como se explicará más adelante.

3.6.4.2. Blancos de extracción

Dado que los PAEs son una contaminación habitual y ubicua en los laboratorios químicos, pueden estar presentes en el material de laboratorio por lo que se procedió a realizar blancos de

extracción, por triplicado, de cada matriz estudiada (suelo, film de polietileno y solvente). Para ello, se procedió tal como se describió en el punto anterior, pero se usaron suelos, film de polietileno con EVA y mulching negro previamente lavados. El lavado se realizó con ciclohexano y posterior sonicación por 10 min. Dicho procedimiento se repitió tres veces.

3.6.5. Determinación de PAEs por la técnica de derivatización con cloruro de 2-cloroetilamonio

Para la determinación de PAEs, en los suelos y en las matrices plásticas, por GC-ECD se adaptó la técnica de derivatización propuesta por Giam (1976). La derivatización permite determinar la totalidad de ésteres ftálicos (Σ PAEs) en niveles traza, pues aumenta notablemente la sensibilidad de los analitos en cuestión cuando son analizados en un sistema GC-ECD que es un equipo relativamente más económico que un cromatógrafo gaseoso acoplado a un espectrómetro de masas. El procedimiento (Figura M-21) implica primero la hidrólisis de los ésteres en medio básico, la activación de los carboxilatos con el anhídrido acético y finalmente el ataque de la 2-cloroetilamina para dar *N*-(2-cloroetil) ftalimida. Como consecuencia de la presencia del átomo de cloro en la estructura, dicho compuesto se puede detectar y cuantificar por GC-ECD.

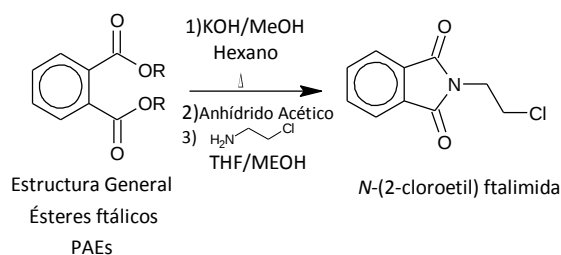


Figura M-21. Esquema general de la reacción de derivatización de PAEs para su detección por GC-ECD.

Esta estrategia permite determinar el contenido total de los PAEs (sin discriminar el tipo) y tiene la ventaja de evitar las contaminaciones con los ftalatos que pueden provenir por las operaciones en el laboratorio posteriores a la derivatización (contaminación por las operaciones volumétricas e instrumentales) que suelen ser importantes en un método de trazas.

3.6.5.1. Método de derivatización de PAEs con cloruro de 2-cloroetilamonio

Una vez que se obtuvieron los extractos concentrados, tal como se describió en el apartado 3.6.4.1 de Materiales y Métodos, se agregó en cada tubo 1,5 mL de una solución de KOH en MeOH al 2 % m/v. Luego los tubos se taparon con el respectivo tapón esmerilado y se sonicaron por 30 min en un baño de agua a 40°C. Pasado este tiempo, se llevaron a sequedad en un baño de agua caliente a 40°C. Se agregaron 3 mL de una solución de THF: MeOH 1:1 y cuatro gotas de anhídrido acético previamente destilado. Los tubos se calentaron tapados por 15 min. Después se les agregó 0,3 g de cloruro de 2-cloroetilamonio y se sonicó por 10 min. Nuevamente, los tubos se llevaron a sequedad en un baño de agua caliente con la ayuda de una corriente de aire auxiliar. La formación de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida ocurre por la reacción en seco a 200°C en mufla cuando se la calienta durante 20 min. Se realizó una extracción de la mezcla obtenida primero con agua destilada (1 x 3 mL) y luego con acetato de etilo (2 x 5 mL). Se juntaron las fases orgánicas y se secaron con Na₂SO₄ anhidro. Finalmente los extractos se transfirieron a viales para su posterior análisis por GC-ECD.

3.6.5.2. Blancos de derivatización

Para determinar los PAEs presentes por contaminación inespecífica durante la manipulación en el tratamiento de las muestras, se realizaron blancos de derivatización. Para ello, se procedió a derivatizar los blancos de extracción detallados en la Sección 3.6.4.2 de Materiales y Métodos.

Los blancos de derivatización se hicieron por triplicado para cada matriz, es decir suelo, mulching negro de 25 µm y film de polietileno de 100 µm aditivado con EVA.

3.6.6. Metodología para determinar PAEs en las películas plásticas por GC-MS

Se analizaron por cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas los PAEs presentes en aquellas muestras que dieron positivas por GC-ECD. Para ello, las muestras se extrajeron tal como se explicó en la Sección 3.6.4.1 de Materiales y Métodos.

3.6.7. Estudio de la migración de ésteres ftálicos en películas plásticas agrícolas

3.6.7.1. Esteres ftálicos utilizados en los ensayos de migración

Se utilizaron los siguientes patrones de ésteres ftálicos:

- Dimetilftalato (DMP), CAS 131-11-3, Sigma Aldrich®, Pureza $\geq 99\%$.
- Dibutilftalto (DBP), CAS 84-74-2, Sigma Aldrich®, Pureza $\geq 99\%$.
- Di-(2-etilhexil)ftalato (DEHP), CAS 117-81-7, Sigma Aldrich®, Pureza $\geq 99,5\%$.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos clasificó a estos tres ésteres ftálicos como “contaminantes de interés ambiental”, dentro de un conjunto de seis (USEPA, 2013).

3.6.7.2. Dispositivo experimental utilizado en los ensayos de migración

Con el objetivo de evaluar en condiciones de laboratorio los posibles procesos migratorios de los contaminantes emergentes (PAEs) que se encuentran potencialmente presentes sobre las cubiertas plásticas utilizadas en horticultura, se hicieron estudios de transferencia de masa en microcosmos de suelo, con un film de polietileno interno aditivado con el contaminante, y un PE externo para capturar lo que esté en fase gaseosa (Figura M-22).

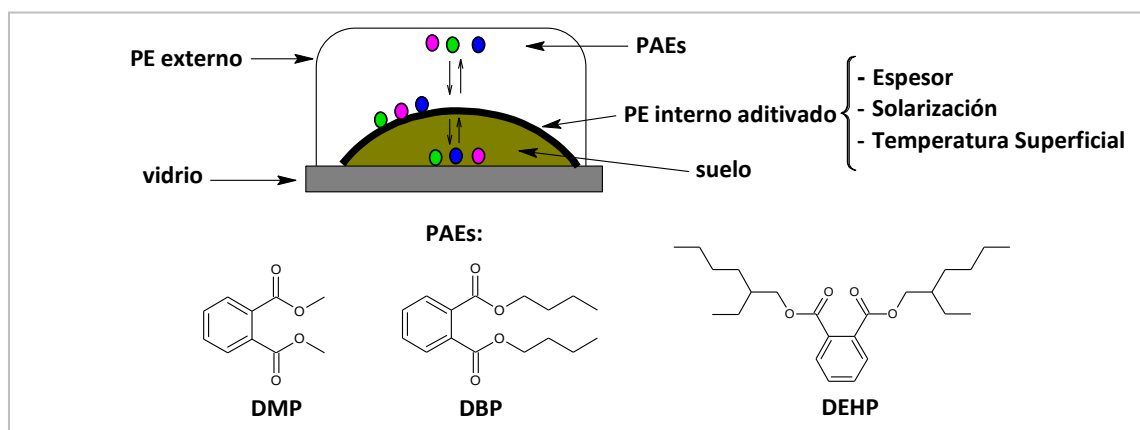


Figura M-22. Esquema del dispositivo experimental utilizado en los ensayos de migración de PAEs.

Específicamente, 3 g de suelo se pusieron sobre una superficie limpia de vidrio (3 cm x 7 cm). Esto se cubrió con un recorte de 10 cm x 7 cm de un film de polietileno (PE). Sobre éste, se sembraron 70 μL de una única solución patrón 10000 ppm ($\text{mg PAE} \cdot \text{kg}^{-1}$ de solución) de cada PAE (DMP, DBP y

DEHP) en acetona. Se dejó secar a temperatura ambiente y luego, se procedió a cubrir con un film de PE + EVA de 12 cm x 12 cm de 100 μm de espesor. Para que el film de PE interno sembrado no toque la superficie del film de PE externo, se utilizó un pequeño parante de alambre. Para evitar fenómenos de contaminación cruzada cada microcosmos se almacenó durante los ensayos, en el interior de un frasco de vidrio con tapa cubierta con papel aluminio (Figura M-23).

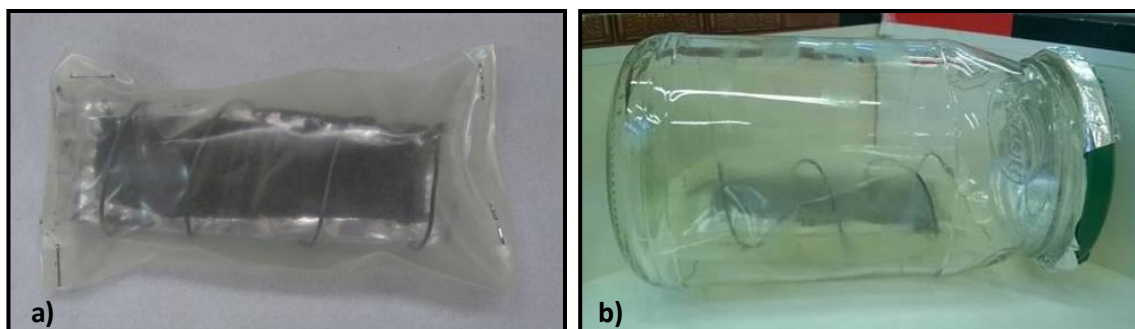


Figura M-23. Microcosmos utilizado en los ensayos de laboratorio.

Los ensayos se hicieron en oscuridad para evitar fenómenos de degradación fotoquímica de los ftalatos. En el caso de las películas plásticas, éstas se lavaron con ciclohexano y se sonicaron tres veces consecutivas para descartar cualquier tipo de contaminación inespecífica previa al agregado de los PAEs. En los microcosmos se usó un suelo no perturbado, proveniente de una zona aledaña a las huertas de la localidad de Moreno, en la que no se registró actividad hortícola por al menos 20 años. Se comprobó por la técnica de derivatización y posterior análisis por GC-ECD que dicho suelo no estuviese contaminado con PAEs. Además, el mismo fue autoclavado tres veces durante 1 h a 126°C y 1,5 atm (dejando pasar 24 h entre cada autoclavado). Esto se hizo para evitar el fenómeno de degradación microbiana de los PAEs en los suelos.

Se estudiaron las siguientes variables en el proceso de migración de los PAEs:

- **Espesor de la película interna de PE:** Se hicieron ensayos con dos tipos de polietileno de baja densidad (PEBD): i) mulching negro de 25 μm de espesor y ii) con film de PE aditivado con EVA de 100 μm de espesor.
- **Grado de solarización de la película interna de PE:** Se hicieron experimentos con las películas internas, detalladas en el ítem anterior, sin solarización y con solarización durante 5 meses. Para

solarizar los plásticos, se los puso extendidos en una superficie plana y con buena radiación solar. La exposición se hizo antes del experimento (Figura M-24).

➤ **Temperatura superficial de la película interna de PE:** Se trabajó a 20°C y a 50°C para aproximarse a las condiciones de temperatura superficial que puede alcanzar el film durante las distintas estaciones del año (Tarara, 2000).



Figura M-24. Film PE EVA y mulching negro en período de solarización

En la Tabla M-15 se detallan las condiciones de cada tratamiento realizado:

Tratamientos	Condición Película de PE interna	Temperatura	Duración	Tiempos de Muestreo
E1	Mulching negro 25 μm - Sin Solarizar	20°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E2	Mulching negro 25 μm - Sin Solarizar	50°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E3	Film PE+EVA 100 μm -Sin Solarizar	20°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E4	Film PE+EVA 100 μm -Sin Solarizar	50°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E5	Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses	20°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E6	Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses	50°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E7	Film PE+EVA 100 μm -Solarizado 5 meses	20°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E8	Film PE+EVA 100 μm -Solarizado 5 meses	50°C	48hs	0-6-24-30-48hs
E9	Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses	20°C	1 Mes	0-14-21-28 días
E10	Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses	50°C	1 Mes	0-14-21-28 días

Tabla M-15. Tratamientos realizados en los ensayos de migración de PAEs.

Cada punto temporal de los ensayos se realizó por triplicado. Los tratamientos E1 a E8 duraron 48 h en total. Los puntos temporales de muestreo se hicieron a las 0, 6, 24, 30 y 48 h transcurridas desde la siembra inicial. Una vez cumplimentado cada tiempo, se procedió a desarmar cada microcosmos (tres por cada punto de muestreo) para cuantificar los PAEs en cada matriz tal como se lo explicará en el apartado 3.6.7.4 de Materiales y Métodos. Para el caso del DEHP, se hicieron dos ensayos adicionales por un período total de un mes muestreando a los 0, 7, 14, 21 y 28 días desde la siembra inicial.

3.6.7.3. Ensayos de migración con film de PVC

Se hizo un ensayo en microcosmos parecido al descrito en la Sección 3.6.7.2 de Materiales y Métodos, pero utilizando como película interna un film de PVC de 100 μm de espesor. Se determinó por GC-MS que dicha película contiene DEHP. El objetivo fue evaluar la potencial migración de este ftalato, hacia el suelo y la atmósfera, para determinar si hay diferencias en cuanto a la movilidad del mismo cuando ya está incorporado a la matriz plástica y cuando se lo aditiva intencionalmente.

Este ensayo (E11) se realizó por triplicado a un mes, a 50°C, muestreando a los 0, 7, 14, 21 y 28 días.

3.6.7.4. Extracción de los PAEs de cada matriz del microcosmos

Una vez cumplidos los tiempos de muestreo, cada frasco de vidrio que contenía a los microcosmos se enfrió por 1 h a -20°C en freezer. Luego se extrajeron, por separado, el film de PE o PVC interno, el suelo y la cubierta externa de PE de cada microcosmos. Todas las extracciones se realizaron en frascos de vidrio con tapa forrada con papel aluminio.

➤ **Extracción de los PAEs del suelo:** Los 3 g de suelo se extrajeron en tubos Hach® con 10 mL de una mezcla ciclohexano : acetona (1:1 v:v). La suspensión se agitó en vortex y luego se sonicó por 20 min. Los extractos se filtraron a través de una columna de 1 g de sílica gel 60.

➤ **Extracción de los PAEs de las películas plásticas:** Primero se recortaron en secciones de aproximadamente 1 cm². Luego, los recortes de mulching negro de 25 μm se extrajeron en tubos Hach® con 10 mL de ciclohexano, mientras que los recortes de film de PE aditivado con EVA de 100

μm se extrajeron en frascos color caramelo con 25 mL de ciclohexano. Se agitaron en un agitador orbital por 20 min y finalmente se sonicaron por 20 min.

Los filtrados y extractos se transfirieron a viales de 2 mL para su posterior análisis por GC-FID.

3.6.8. Métodos cromatográficos

3.6.8.1. Determinación de PAEs por GC-ECD

Las condiciones de trabajo en el GC-ECD utilizadas para la determinación de *N*-(2-cloroetil) ftalimida en las muestras detalladas en la Sección 3.6.5.1 de Materiales y Métodos se muestran en la Tabla M-16.

Condiciones del GC

Temperatura del Inyector	280°C
Gas portador	N ₂ , 30 psi; flujo auxiliar al ECD 30 mL min ⁻¹
Volumen de Inyección	1 μL , modo splitless
Temperatura del Horno	125°C por 1,5 min; 20°C.min ⁻¹ hasta 180°C se mantuvo constante por 3 min; 30°C.min ⁻¹ hasta 320°C se mantuvo constante por 1min.
Temperatura del ECD	375°C

Tabla M-16. Condiciones del GC-ECD para la determinación de *N*-(2-cloroetil) ftalimida.

La identidad de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida se determinó por comparación con el tiempo de retención de un patrón puro de dicho compuesto. El material de referencia fue sintetizado y purificado, con la técnica de recristalización, en el laboratorio. La identidad y pureza del patrón se confirmó por RMN - 500 MHz para ¹H y ¹³C (ver Anexo 7.1).

3.6.8.2. Determinación de PAEs por GC-MS

La identidad del DBP y DEHP presentes en las películas plásticas se determinó por comparación con el tiempo de retención y espectro de masas de patrones puros. Además se

compararon los espectros obtenidos con los espectros de masas de la biblioteca del NIST (National Institute of Standards and Technology).

En el caso del bis-2-etilhexiladipato (DEHA) y el diisobutilftalato (DIBP) la asignación de identidad de los picos se realizó sólo por comparación contra el espectro de masas de la biblioteca del NIST. Por tal motivo, las identidades propuestas son tentativas.

Las condiciones de trabajo en el GC-MS utilizadas para la determinación de PAEs en las películas plásticas FT, FI, EVA y el film de PVC se muestran en la Tabla M-17.

Condiciones del GC

Temperatura del Inyector	300°C
Gas portador	Helio, con un flujo constante de 1mL. min ⁻¹
Volumen de Inyección	0,5µL ; modo splitless para FT, FI, EVA; split 50:1 para PVC
Temperatura del Horno	80°C por 2 min; 20°C.min ⁻¹ hasta 300°C y se mantuvo constante por 7 min

Condiciones del MS

Solvent Delay	6min
Temperatura de la línea de transferencia	180°C
Temperatura de la fuente de iones	150°C
MS	El ⁺ , Scan
Modo Scan	50-500umas
Modo SIR (del inglés: Selected Ion Recording)	Iones m/z 129, 149 (uma/carga)

Tabla M-17. Condiciones del GC-MS para la determinación de PAEs en películas plásticas.

3.6.8.3. Determinación de PAEs por GC-FID

Las condiciones de trabajo en el GC-FID utilizadas para la determinación de PAEs en las muestras detalladas en la Sección 3.6.7.4 de Materiales y Métodos se muestran en la Tabla M-18. La identidad de los PAEs se comprobó por comparación con el tiempo de retención de patrones puros.

Condiciones del GC

Temperatura del Inyector	300°C
Gas portador	N ₂ , 30 psi
Gases Detector	H ₂ 45 mL. min ⁻¹ ; Aire 450 mL. min ⁻¹
Volumen de Inyección	1 µL, modo splitless
Temperatura del Horno	120°C por 3 min; 45°C.min ⁻¹ hasta 300°C se mantuvo constante por 2 min
Temperatura del FID	300°C

Tabla M-18. Condiciones del GC-FID para la determinación de PAEs en los ensayos de migración.**3.6.9. Parámetros de validación de los métodos cromatográficos****3.6.9.1. Determinación de PAEs por GC-ECD****3.6.9.1.1. Rango de respuesta lineal**

Para cuantificar los PAEs presentes en los distintos tipos de películas plásticas y suelos, se realizaron curvas de calibrado de derivatización por GC-ECD para un contaminante modelo, el DMP, en cada una de las matrices. Para las cubiertas plásticas se hicieron dos curvas, una en MN virgen y otra en EVA. Ambos films de polietileno se lavaron con ciclohexano y posteriormente se sonicaron tres veces consecutivas con ciclohexano para garantizar la ausencia de PAEs en dichas matrices. Para los suelos, se usó un suelo de referencia autoclavado tal como se explicó en la sección 3.6.7.2 de Materiales y Métodos.

Las curvas se hicieron con cinco niveles de concentración, cada uno de ellos por triplicado. Se sembraron volúmenes crecientes de una solución de 100 ppm (mg. kg⁻¹) de DMP en acetona en 1,2 g de cada película plástica y en 10 g de suelo. Luego, se dejaron secar bajo campana. Finalmente, cada punto del calibrado se extrajo y derivatizó del mismo modo que con las muestras reales (Sección 3.6.5.1 de Materiales y Métodos). Los extractos se transfirieron a viales de 2 mL para su posterior análisis por GC-ECD. En las Figuras M-25 a M-27 se muestran las curvas de calibrado de derivatización obtenidas para cada una de las matrices.

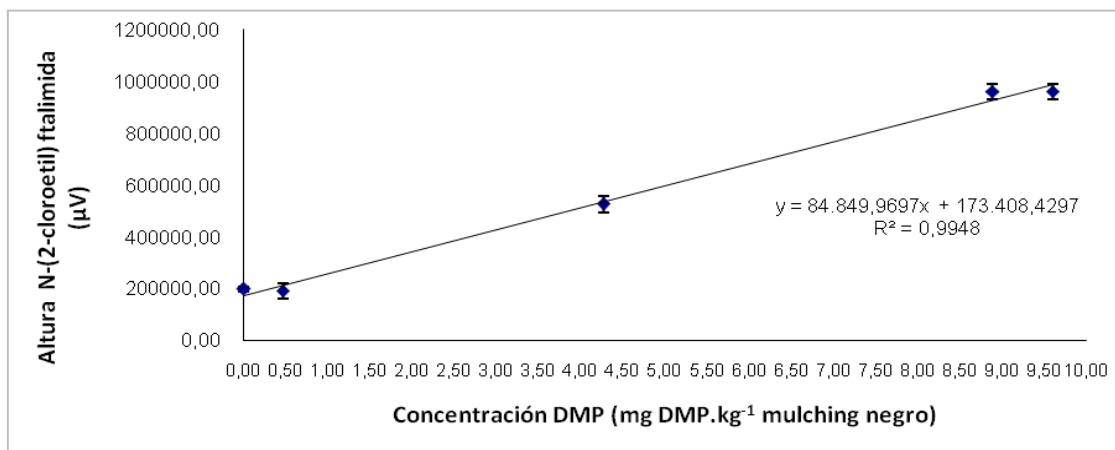


Figura M-25. Curva de calibrado de derivatización realizada en mulching negro de 25 µm.

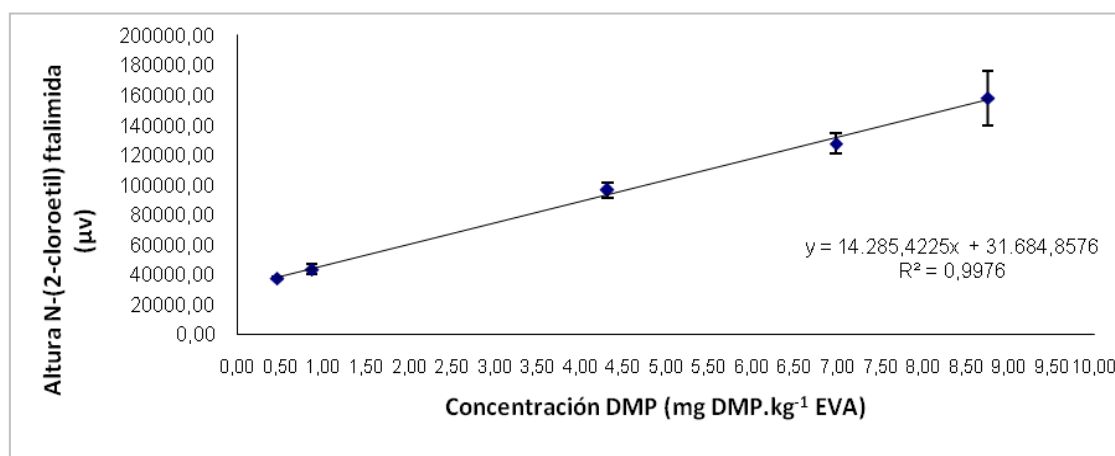


Figura M-26. Curva de calibrado de derivatización realizada en film de PE aditivado con EVA de 100 µm.

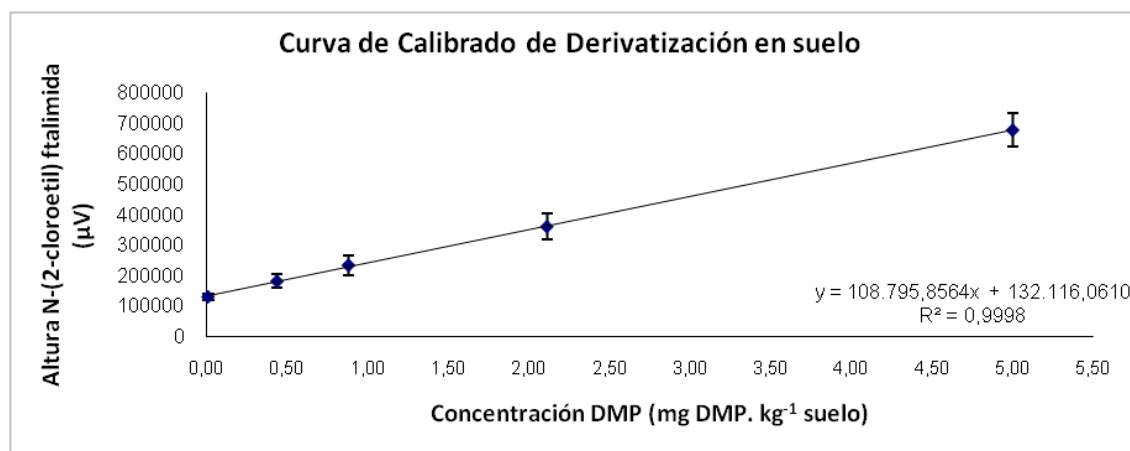


Figura M-27. Curva de calibrado de derivatización realizada en suelo.

Cabe destacar que en el proceso de derivatización cualquier PAE que pudiera estar presente en las muestras se convierte en *N*-(2-cloroetil) ftalimida, por lo que si bien en las curvas de calibrado se utilizó DMP, el producto de la reacción podría obtenerse a partir de cualquier otro ftalato. Teniendo esto en cuenta, se informarán los contenidos de PAEs como su equivalente en DMP, es decir mg DMP (equivalente).kg⁻¹ de matriz para cada muestra analizada.

En la Tabla M-19, se detallan la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de regresión lineal R² de cada curva de calibrado.

Matriz	Pendiente	Ordenada al Origen	R ²
Mulching Negro	84849,9697	173408,4297	0,9948
Film EVA	14285,4225	31684,8576	0,9976
Suelo	108795,8564	132116,0610	0,9998

Tabla M-19. Parámetros de las curvas de calibrado de derivatización.

La respuesta del ECD para las tres curvas de calibrado de derivatización fue lineal con un R² > 0,99. El rango lineal dinámico para cada curva se muestra en la Tabla M-20.

Matriz	Rango Lineal Dinámico (mg DMP.kg ⁻¹ matriz)
Mulching Negro	0,77-9,60
Film EVA	0,67-8,75
Suelo	0,09-5,00

Tabla M-20. Rango lineal dinámico de las curvas de calibrado de derivatización.

3.6.9.1.2. Límites de detección y cuantificación de la técnica de derivatización con cloruro de 2-cloroetilamonio

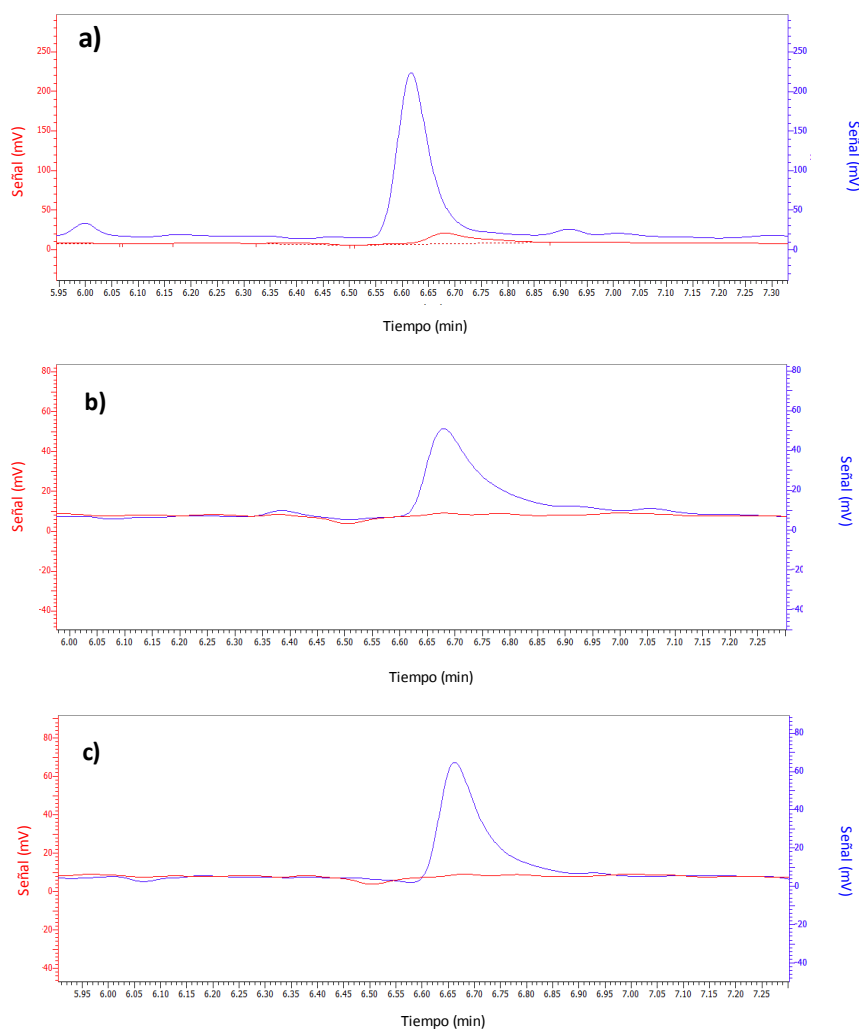
En la Tabla M-21 se muestran los límites de detección y de cuantificación de cada curva.

Matriz	LD (mg DMP. kg ⁻¹ matriz)	LC (mg DMP. kg ⁻¹ matriz)
Mulching Negro	0,01	0,77
Film EVA	0,46	0,67
Suelo	0,01	0,09

Tabla M-21. Límites de detección y cuantificación de las curvas de calibrado de derivatización.

Se tomó el LD del método analítico como el valor de concentración más bajo de cada curva de calibrado de derivatización ensayada. Notar que dichas concentraciones dieron una señal mayor y distinguible de la señal de los blancos de cada matriz. En la Figura M-28, se muestran a modo de ejemplo los cromatogramas superpuestos de los blancos de derivatización de cada matriz con los respectivos LD.

El LC se calculó como la concentración en ppm (mg DMP .kg⁻¹ de cada matriz) correspondiente a la señal de la ordenada al origen sumada a tres veces su respectivo desvío estándar. Se decidió tomar ese criterio para el LC dado que los ftalatos se pueden encontrar de forma ubicua en el ambiente y por ende en el material de laboratorio, esto se refleja en los valores relativamente altos de las ordenadas al origen de las curvas de calibración.



En rojo se muestran los cromatogramas de los blancos y en azul los LD. El tiempo de retención de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida es de $t_r = 6,66$ min. a) Mulching; b) Film de PE aditivado con EVA; c) Suelo.

Figura M-28. Límites de detección de cada curva con los respectivos blancos.

3.6.9.1.3. Resolución

A modo de ejemplo, en la Figura M-29, se muestra un cromatograma típico por GC-ECD de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida obtenida en el proceso de derivatización. El tiempo de retención del analito es de 6,66 min.

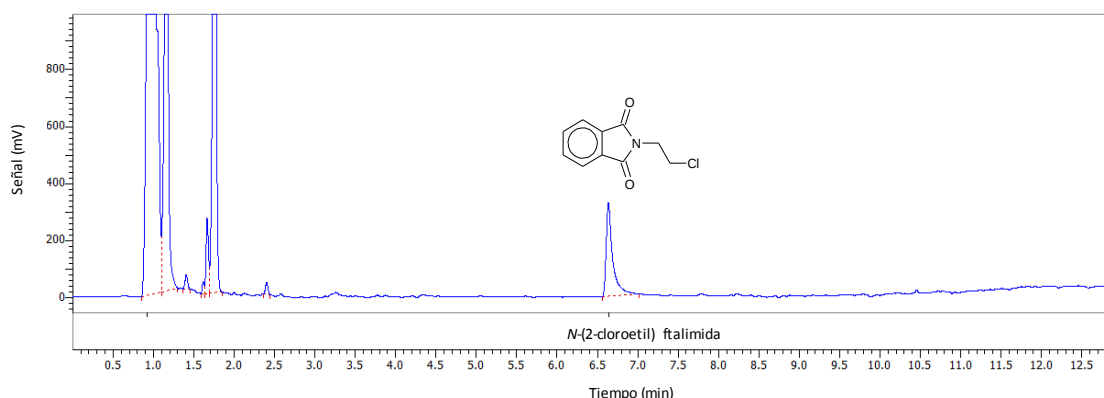


Figura M-29. Cromatograma de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida

3.6.9.2. Determinación de PAEs por GC-FID

3.6.9.2.1. Rango de respuesta lineal

Se realizaron las curvas de calibrado por GC-FID para DMP, DBP y DEHP en ciclohexano, mulching negro de 25 μm de espesor, en film de PE aditivado con EVA de 100 μm y en suelo. Los films de PE se lavaron con ciclohexano y se sonicaron tres veces consecutivas en este mismo solvente para garantizar la ausencia de PAEs en dichas matrices. Para los suelos, se usó un suelo de referencia autoclavado en las mismas condiciones que se describieron en la Sección 3.6.7.2 de Materiales y Métodos.

Las curvas se hicieron con seis niveles de concentración, cada uno de ellos por triplicado. Cada una de las matrices fue enriquecida con cantidades conocidas de una solución 10000 ppm (mg PAE.kg⁻¹ solución) de DMP, DBP y DEHP en acetona. Luego, se dejaron secar bajo campana. Finalmente, cada punto del calibrado se extrajo tal como se describió en la Sección 3.6.7.4 de Materiales y Métodos. Los filtrados y extractos se transfirieron a viales de 2 mL para su posterior análisis por GC-FID.

En las Figuras M-30 a M-32 se muestran las curvas de calibrado obtenidas para cada ftalato en cada una de las matrices estudiadas.

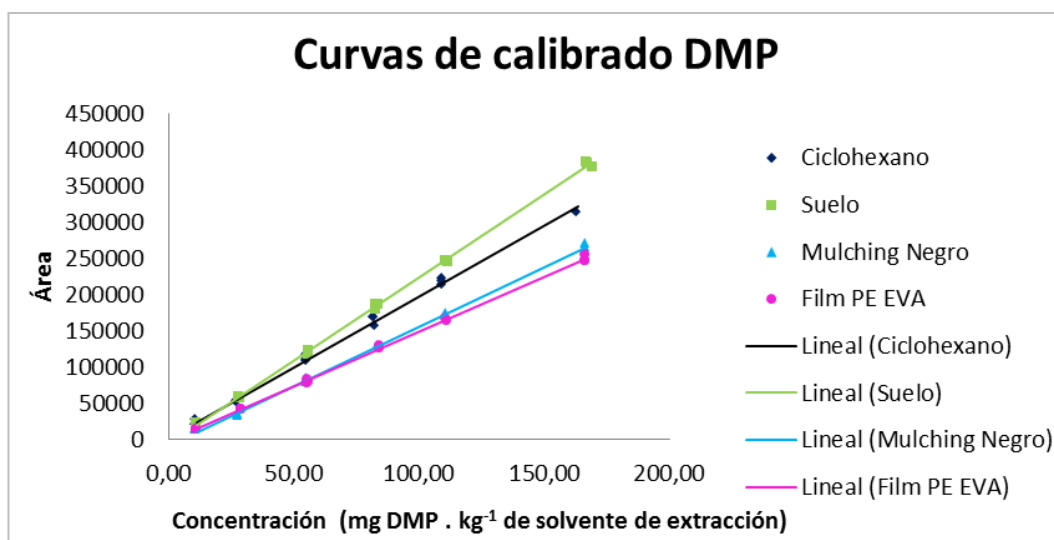


Figura M-30. Curvas de calibrado del DMP en ciclohexano, suelo, mulching negro de 25 μm y film de PE aditivado con EVA de 100 μm .

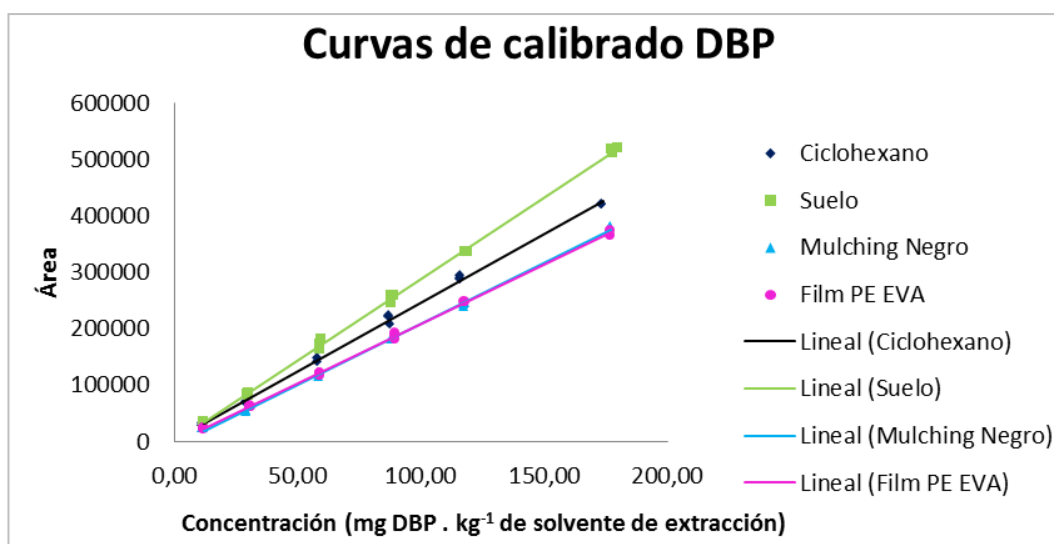


Figura M-31. Curvas de calibrado del DBP en ciclohexano, suelo, mulching negro de 25 μm y film de PE aditivado con EVA de 100 μm .

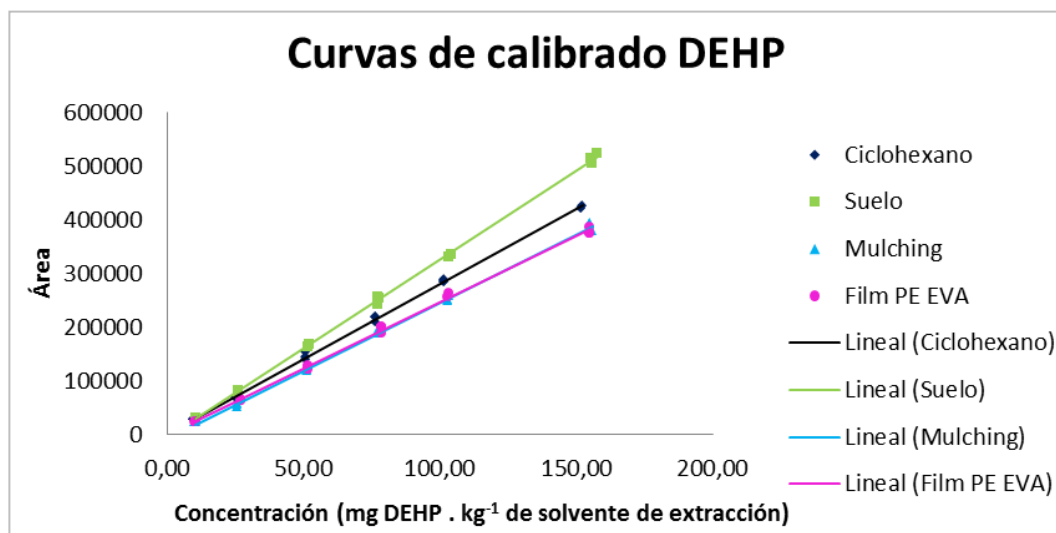


Figura M-32. Curvas de calibrado del DEHP en ciclohexano, suelo, mulching negro de 25 μ m y film de PE aditivado con EVA de 100 μ m.

En la Tabla M-22, se detallan la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de regresión lineal R^2 de las curvas de calibrado de cada ftalato en cada matriz estudiada.

DMP			
Matriz	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2
Ciclohexano	1951,6546	3245,2541	0,9969
Suelo	2289,7640	-4868,3054	0,9992
Mulching	1636,4077	-7093,8367	0,9982
Film PE EVA	1517,4587	-1911,5598	0,9991
DBP			
Matriz	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2
Ciclohexano	2459,2587	1272,8639	0,9984
Suelo	2896,8842	-596,9219	0,9992
Mulching	2159,9092	-7112,1743	0,9987
Film PE EVA	2118,0822	-2599,1067	0,9991
DEHP			
Matriz	Pendiente	Ordenada al Origen	R^2
Ciclohexano	2799,7688	265,4201	0,9989
Suelo	3315,8573	-5558,5289	0,9993
Mulching	2535,6130	-6927,7399	0,9986
Film PE EVA	2470,6332	-639,5744	0,9985

Tabla M-22. Parámetros de las curvas de calibrado realizadas en cada matriz para DMP, DBP y DEHP.

La respuesta del ECD para todas las curvas de calibrado fue lineal con un $R^2 > 0,99$. El rango lineal dinámico para cada curva se muestra en la siguiente Tabla M-23.

Matriz	Rango Lineal Dinámico (mg PAE.kg ⁻¹ matriz)		
	DMP	DBP	DEHP
Ciclohexano	11,0-163,4	11,7-173,7	10,3-152,4
Mulching Negro	11,1-166,5	11,8-176,9	10,3-155,9
Film PE EVA	11,0-166,1	11,7-176,7	10,3-155,0
Suelo	11,1-169,1	11,8-179,7	10,4-157,7

Tabla M-23. Rango lineal dinámico de las curvas de calibrado de los PAEs en ciclohexano, suelo, mulching negro de 25µm y film de PE aditivado con EVA de 100µm.

3.6.9.2.2. Límite de detección y límite de cuantificación

Los límites de detección para cada ftalato se determinaron realizando por sextuplicado puntos de concentración, en cada matriz, cada vez menores en valor absoluto hasta encontrar aquella concentración cuya señal no fuese distinguible de la señal del blanco correspondiente. El LC se definió como 3,3 veces el LD.

Todos los límites se obtuvieron para los ftalatos individuales en ciclohexano, mulching negro de 25 µm de espesor, film de PE aditivado con EVA de 100 µm de espesor y suelo por GC-FID. En la Tabla M-24 se muestran los LD y LC determinados.

Matriz	LD y LC (mg PAE.kg ⁻¹ matriz)					
	DMP		DBP		DEHP	
	LD	LC	LD	LC	LD	LC
Ciclohexano	1,8	6,0	0,7	2,4	0,9	2,8
Mulching Negro	1,1	3,7	0,6	1,8	0,7	2,2
Film PE EVA	1,2	3,8	0,6	1,9	0,7	2,3
Suelo	0,6	1,8	0,6	1,8	0,7	2,2

Tabla M-24 Límites de detección y cuantificación de las curvas de calibrado de los PAEs en ciclohexano, suelo, mulching negro de 25µm y film de PE aditivado con EVA de 100 µm.

Notar que los LC determinados de esta forma son concentraciones menores a las ensayadas

para las curvas de calibración. En consecuencia, las concentraciones más bajas en cada curva de calibración fueron consideradas como el límite de cuantificación, de forma de adoptar el criterio más conservador desde el punto de vista analítico.

3.6.9.2.3. Resolución

Las condiciones cromatográficas fueron optimizadas de forma tal de poder separar el DMP, DBP y DEHP. Los tiempos de retención de los analitos fueron 3,89 min; 5,89 min y 7,21 min respectivamente. A modo de ejemplo se muestra un cromatograma típico en la Figura M-33.

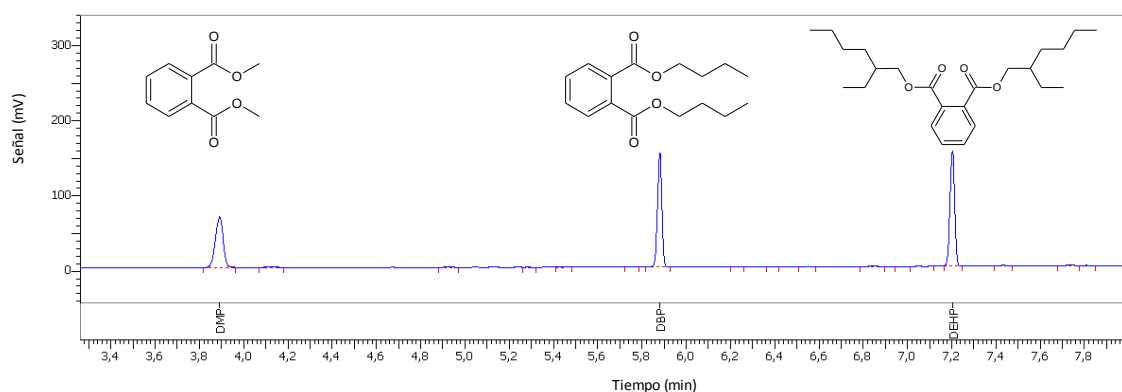


Figura M-33. Cromatograma de DMP, DBP y DEHP.

3.6.9.2.4. Recuperación

Con el fin de estudiar la recuperación de los ftalatos del suelo, el mulching negro y el film de PE aditivado con EVA, se comparó la pendiente de cada curva de calibración preparada en cada matriz (CM) con la pendiente de la curva de calibración de cada ftalato en ciclohexano (CS). La recuperación se calculó por quintuplicado, de la siguiente manera:

$$\% \text{ Recuperación} = (\text{CM} / \text{CS}) \times 100$$

En la Tabla M-25 se detallan los porcentajes de recuperación obtenidos para cada ftalato en las matrices ensayadas.

Matriz	% Recuperación		
	DMP	DBP	DEHP
Suelo	113,7 ± 3,1	113,1 ± 5,0	111,6 ± 7,0
Film PE EVA	79,7 ± 3,4	85,1 ± 5,9	87,5 ± 4,3
Mulching Negro	87,0 ± 5,2	86,6 ± 5,1	90,2 ± 5,45

Tabla M-25. Porcentaje de recuperación de DMP, DBP y DEHP para cada una de las matrices.

3.6.9.2.5. Precisión Intermedia

La precisión intermedia del método analítico se determinó con la inyección de cada curva de calibrado de DMP, DBP y DEHP en ciclohexano. Este procedimiento se repitió seis veces en días diferentes, apagando y prendiendo el cromatógrafo entre cada repetición. En la Tabla M-26 se indican los valores promedio de las pendientes con sus respectivos desvíos estándar porcentuales (% RSD). Éstos fueron menores al 7 % en todos los casos estudiados.

Analito	Pendiente	% RSD
DMP	1500,2	4,0
DBP	2552,1	6,9
DEHP	2876,7	5,6

Tabla M-26. Precisión intermedia del DMP, DBP y DEHP.

3.6.9.3. Determinación de PAEs por GC-MS

3.6.9.3.1. Resolución

Las condiciones cromatográficas fueron optimizadas de forma tal de poder separar el DMP, DBP y DEHP. Los tiempos de retención de los analitos fueron 7,66 min; 10,49 min y 13,01 min respectivamente.

En la Figura M-34 se muestra el cromatograma de corriente iónica total (TIC) de los tres patrones. En la Sección 7.2 del Anexo se muestran los espectros de masas de cada ftalato.

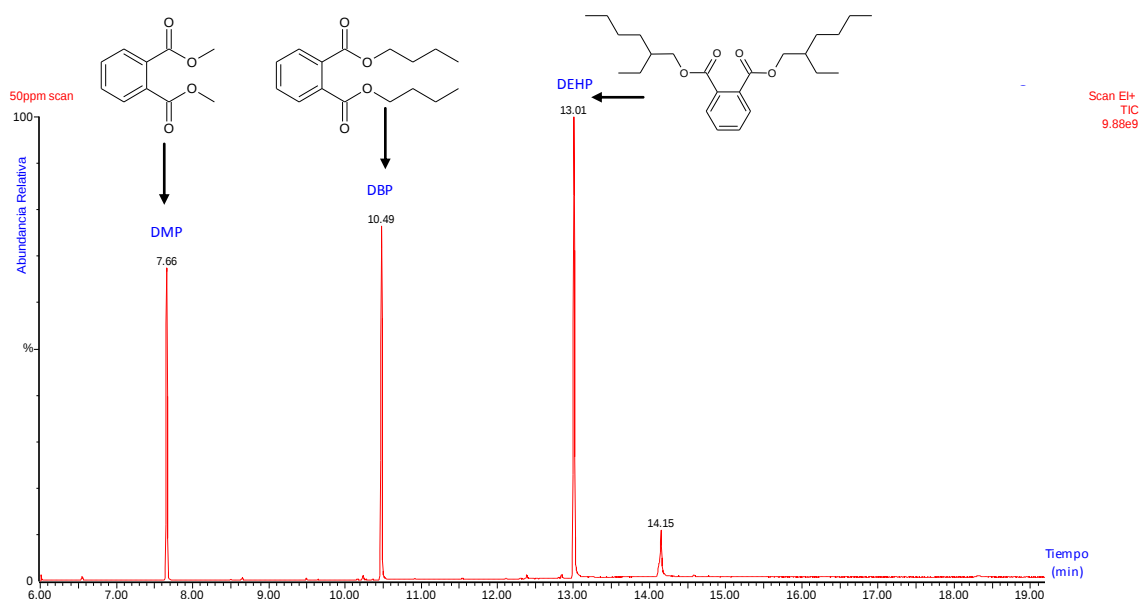


Figura M-34. TIC del análisis por GC-MS de un patrón de DMP, DBP y DEHP 50 ppm.

3.7. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el software Infostat-Versión 2008 (FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). En primera instancia se verificaron los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilks) y homogeneidad de las varianzas (prueba de Levene). Dependiendo de estos resultados, las medias se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía (paramétrico), pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis o bien, en caso de ser necesario, se procedió a transformar la variable.

Para el análisis de datos de los siguientes ensayos se utilizó un nivel de significación $\alpha = 0,05$:

- Efecto del tipo de actividad y formulación en la EMP (Sección 4.1.1 de Resultados y Discusión).
- Efecto de la temperatura en la migración del DEHP (Sección 4.3.4.1.3 de Resultados y Discusión).
- Migración de los PAEs en el tiempo (Sección 4.3.4 de Resultados y Discusión).

En estos tres casos, se consideraron significativas aquellas pruebas con $p < 0,05$.

Para el análisis de los datos de los ensayos de EMP realizados a escala de laboratorio (Sección 4.1.2 de Resultados y Discusión) el nivel de significación ($\alpha=0,05$) de cada prueba estadística se ajustó con el método secuencial de Bonferroni para un total de 8 pruebas (Abdi, 2010). Para analizar el efecto de la temperatura, el espesor y la solarización de las películas plásticas en la migración del DMP y el DBP (Sección 4.3.4 de Resultados y Discusión) también se utilizó la corrección secuencial del valor α pero para un total de 4 pruebas. En ambos casos se consideraron significativas aquellas pruebas con $p < \alpha_{\text{corregido}}$.

Cuando se demostró significancia en las pruebas paramétricas, las medias fueron comparadas por el método de Tukey.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en los distintos ensayos se encuentra en la Sección 7.4 del Anexo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se estudiará el impacto de dos tecnologías: los plaguicidas y los plásticos agrícolas sobre los sistemas productivos frutihortícolas. En particular se analizará el impacto del tipo de formulación de los plaguicidas en la exposición de las manos de los trabajadores. Además se estudiará la exposición a los mismos tanto en la etapa de preparación y carga como en la instancia de aplicación mecanizada en un campo con durazneros. En relación con los plásticos agrícolas, se enfocará en el análisis de la presencia de ésteres ftálicos en las cubiertas plásticas de polietileno, con la intención de entender de qué variables dependen los procesos migratorios que estos disruptores endócrinos puedan experimentar, fundamentalmente al suelo y a la atmósfera.

En toda esta discusión, el eje conceptual estará centrado en el impacto de las prácticas productivas, tanto sobre los trabajadores como sobre el ambiente, para poder comprender sus mecanismos de acción y poder elaborar recomendaciones adecuadas sobre la base de una argumentación científica.

4.1. EXPOSICIÓN MANUAL POTENCIAL DURANTE LA MANIPULACIÓN DE DISTINTOS FORMULADOS EN HUERTAS EN ARGENTINA

4.1.1. Exposición Manual Potencial de horticultores y floricultores

Se realizaron un conjunto de determinaciones de la Exposición Manual Potencial (EMP) con horticultores de la zona de Moreno (H₄-H₈, Tabla R-1). Específicamente, se midió este parámetro para las instancias de mezcla y carga en mochila, del formulado comercial Sumilex® (Procimidone, Polvo Mojable 50 % m/m). La EMP (Sección 3.4.4, Materiales y Métodos) medida se transformó en EMP porcentual (% EMP) normalizando el valor de EMP con la cantidad total del ingrediente activo manipulado y expresándolo como un porcentaje. Esta conversión se realizó con el fin de poder comparar con resultados de otras investigaciones, en los que se utilizaron diferentes ingredientes activos y por lo tanto diferentes cantidades de plaguicidas.

En la Tabla R-1 se muestran los resultados de la EMP de los trabajadores, expresada como % EMP, comparados con datos de EMP reportados en bibliografía (Hughes et al., 2006; Ramos et al., 2010; Flores et al., 2011), para las instancias de mezcla y carga de diversos plaguicidas en Argentina.

Los valores están clasificados por actividad (horticultura o floricultura) y tipo de formulación (sólida o líquida). El valor medio de EMP para la manipulación de formulaciones sólidas para los horticultores fue $0,02 \pm 0,01$ %, mientras que la media de EMP encontrada para estos trabajadores cuando manipularon formulaciones líquidas fue prácticamente veinte veces mayor ($0,44 \pm 0,16$ %, Tabla R-1). En el caso de los trabajadores de la floricultura que manipularon formulaciones líquidas, el porcentaje medio de EMP fue incluso mayor: $1,25 \pm 0,29$ % (Tabla R-1).

Mano	% EMP Horticultura (Para formulaciones sólidas)								
	Experiencias ^{a,b}								Promedio ^c
	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇	H ₈	
Izquierda	0,004	0,003	0,005	0,001	0,001	0,0002	0,0003	0,0002	0,002 ± 0,001
Derecha	0,057	0,017	0,018	0,003	0,008	0,005	0,003	0,004	0,014 ± 0,006
Total	0,061	0,020	0,023	0,003	0,008	0,005	0,003	0,005	0,02 ± 0,01
Mano	% EMP Horticultura (Para formulaciones líquidas)								
	Experiencias								Promedio
	H ₉	H ₁₀	H ₁₁	H ₁₂	H ₁₃	H ₁₄	H ₁₅	H ₁₆	
Izquierda	0,065	0,075	0,052	0,202	0,055	0,111	0,064	0,807	0,18 ± 0,09
Derecha	0,044	0,110	0,173	0,150	0,047	0,091	1,035	0,453	0,26 ± 0,12
Total	0,109	0,185	0,225	0,352	0,102	0,202	1,099	1,260	0,44 ± 0,16
Mano	% EMP Floricultura (Para formulaciones líquidas)								
	Experiencias								Promedio
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	-	
Izquierda	1,45	2,21	0,34	0,05	1,28	0,05	0,55	-	0,85 ± 0,31
Derecha	0,25	0,21	0,22	1,37	0,25	0,02	0,55	-	0,41 ± 0,17
Total	1,7	2,42	0,56	1,42	1,53	0,07	1,1	-	1,25 ± 0,29

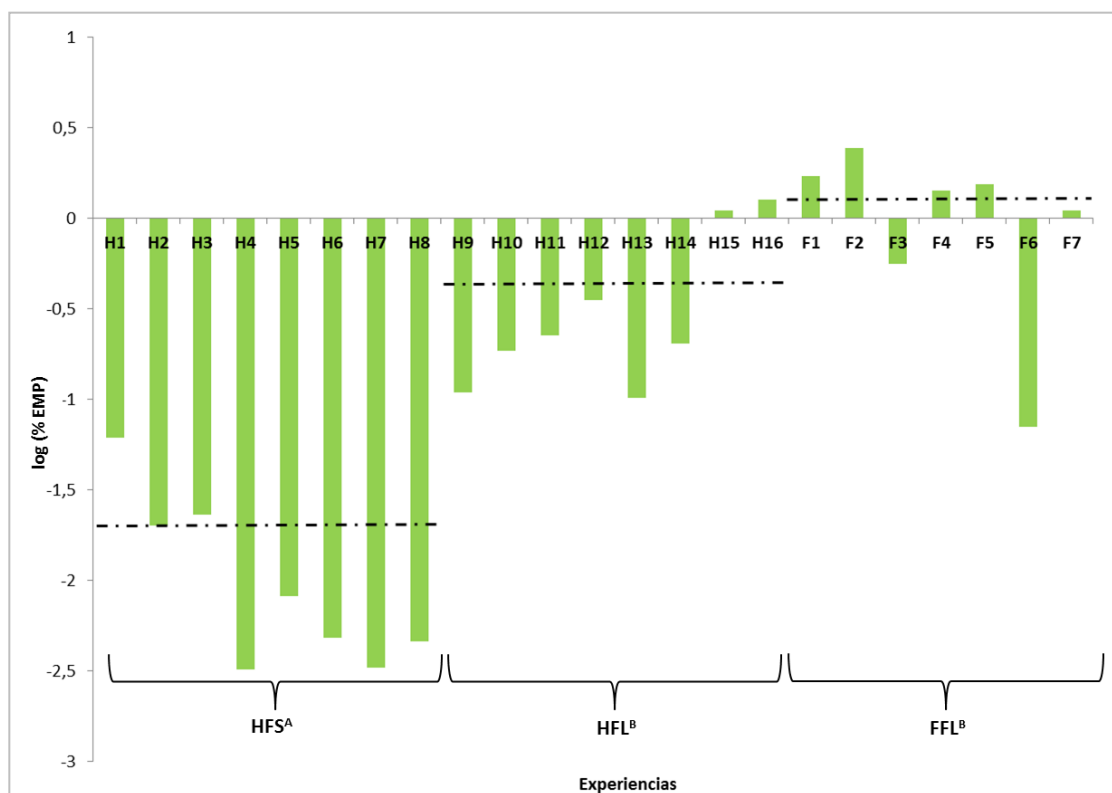
^a Experiencias: H₁-H₃ datos tomados de Hughes et al., 2006; H₄-H₈ datos obtenidos en esta investigación; H₉-H₁₆ datos tomados de Ramos et al., 2010; F₁-F₇ datos tomados de Flores et al., 2011.

^b mg totales de principio activo manipulado: H₁: captan 8755 mg; H₂:captan 8594 mg; H₃: captan 6715 mg; H₄: procimidone 36300 mg; H₅: procimidone 19300 mg; H₆: procimidone 18000 mg ; H₇: procimidone 10800 mg ; H₈:procimidone 19100 mg; H₉: deltametrina 573 mg; H₁₀:deltametrina 562 mg; H₁₁: procimidone 3592 mg; H₁₂: procimidone 4085 mg; H₁₃: deltametrina 488 mg; H₁₄: deltametrina 467 mg ; H₁₅: procimidone 3909 mg ; H₁₆: procimidone 4331 mg; F₁: endosulfán 3500 mg; F₂: endosulfán 9410 mg; F₃: endosulfán 8288 mg; F₄: procimidone 1901 mg; F₅: endosulfán 3665 mg; F₆: endosulfán 4226 mg; F₇: endosulfán 6280 mg.

^c Se informan los promedios con los respectivos errores estándar.

Tabla R-1. % EMP para las instancias de mezcla y carga de distintos plaguicidas.

A modo comparativo, en la Figura R-1 se presenta el valor logarítmico del % EMP para todos los casos estudiados. Se puede observar que se distinguen tres grupos diferentes asociados con la actividad y el tipo de formulación: los horticultores que manipularon formulaciones sólidas (HFS, Figura R-1) y líquidas (HFL, Figura R-1) y los floricultores que usaron formulaciones líquidas (FFL, Figura R-1). Las líneas discontinuas representan los valores medios de log (% EMP) para cada uno de los grupos antes mencionados. Como estos resultados son mayores, en valor absoluto, para HFS que para HFL y FFL, pareciera que bajo las mismas condiciones, las formulaciones sólidas son más seguras que las líquidas, en la instancia de mezcla y carga. Mientras que se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el log (% EMP) entre los diferentes tipos de formulaciones para la misma actividad (HFS vs HFL, Figura R-1), no las hubo entre HFL y FFL. Esto podría indicar que el tipo de formulación tiene un efecto más importante sobre la exposición que el tipo de la actividad (horticultura o floricultura: HFL vs. FFL, Figura R-1), cuando se considera la operación de mezcla y carga. En la Sección 7.4.1 del Anexo se muestra el tratamiento estadístico correspondiente.



^{A,B} Letras distintas implican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos ($p < 0,05$).

Figura R-1. log (% EMP) para las instancias de mezcla y carga en HFS, HFL y FFL.

El margen de seguridad se calculó para los experimentos H₄-H₈ y se comparó con los valores de MOS reportados en bibliografía del resto de las experiencias con el fin de determinar si una sola operación era segura o no. Los valores se representaron como logaritmo del MOS en la Figura R-2, lo que significa que las operaciones inseguras (con MOS < 1) tienen log MOS < 0 (Figura R-2). Como se esperaba, se puede observar que la estimación del riesgo está fuertemente afectada por las propiedades toxicológicas (AOEL) de cada ingrediente activo. En cualquier caso, 9 de los 23 casos estudiados fueron inseguros para una sola operación de mezcla y carga, enfatizando el riesgo asociado con la manipulación de mezclas concentradas de plaguicidas. No es menor mencionar que si bien los cálculos están realizados para la preparación de una sola mochila de aplicación, habitualmente en el campo se suelen usar varias mochilas por tratamiento lo que indicaría un riesgo aun mayor.

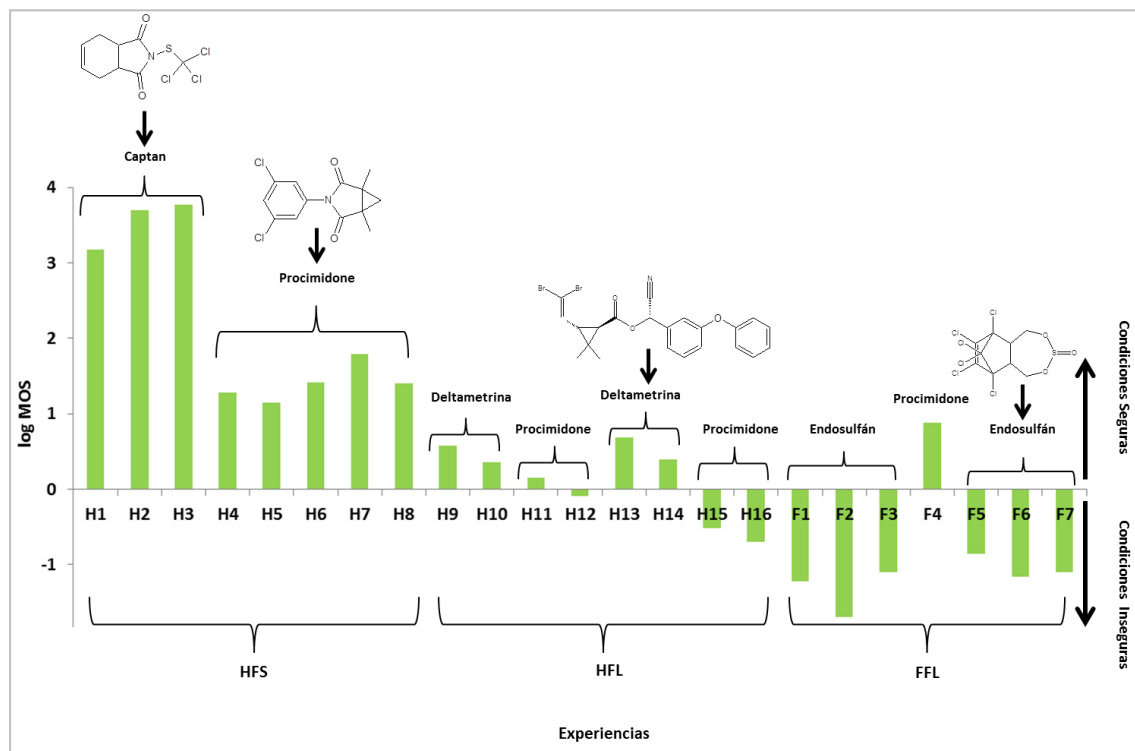


Figura R-2. log MOS para las instancias de mezcla y carga en HFS, HFL y FFL.

Una consideración interesante derivada de los resultados de los ensayos de campo, es que parece haber un efecto de lateralización para las formulaciones sólidas (mano derecha $0,014 \pm 0,006$ %, mano izquierda $0,002 \pm 0,001$ %, Tabla R-1). Este hecho podría explicarse parcialmente por la observación de que la mayoría de los trabajadores sostienen la botella del formulado comercial de los

plaguicidas con la mano izquierda mientras aproximan una cuchara al interior de la misma, para dosificar, con la mano derecha. En consecuencia ésta entra en contacto con la parte interior de las botellas que contienen al plaguicida, ocasionando su contaminación.

4.1.2. Determinaciones de EMP para ensayos a escala de laboratorio

4.1.2.1. EMP para formulaciones sólidas

Dado que en los ensayos realizados en campo se observaron diferencias en la EMP en cuanto al tipo de formulación, se decidió realizar una serie de experimentos de laboratorio para comprender algunos de los factores que podrían estar afectando al mecanismo de exposición. Para ello, se realizaron experimentos de EMP con voluntarios manipulando la misma masa de polvo o sustituto granulado (Tabla R-2). Después de simular una mezcla y carga de un sucedáneo sólido de plaguicida (ver la Sección 3.4.4.4 de Materiales y Métodos), la cantidad de colorante que quedó en los guantes se determinó espectrofotométricamente. Para la manipulación de polvo se encontró un valor medio de $0,013 \pm 0,004$ % del total de colorante usado (Tabla R-2) en los guantes, que es del orden de lo que se detectó en el caso de los trabajadores hortícolas que manejaban formulaciones sólidas ($0,02 \pm 0,01$ %, Tabla R-1). Para la preparación granulada, todos los valores estuvieron por debajo del límite de detección analítico, lo que indica que la formulación granulada resultó más segura que la formulación en polvo.

Tipo de Formulado	n ^a	% Formulado en la cuchara	% EMP ^c		
			Mano Izquierda	Mano Derecha	Total
Polvo	8	$0,29 \pm 0,05$	$0,010 \pm 0,004$	$0,003 \pm 0,001$	$0,013 \pm 0,004$
Granulado	8	$0,03 \pm 0,04$	ND ^b	ND	ND

^a número de réplicas; ^b ND: No detectable

^c Se informan los promedios con los respectivos errores estándar.

Tabla R-2. % EMP para las instancias de mezcla y carga de los formulados de Azul Brillante en polvo y granulados.

Para este conjunto de experimentos, se determinaron los residuos de colorante en las cucharas utilizadas para dosificar los sucedáneos de plaguicida desde su envase original. En la Tabla R-2 se muestran los residuos encontrados en las cucharas para la manipulación en polvo ($0,29 \pm 0,05$ %,

Tabla R-2) y la granulada ($0,03 \pm 0,04$ %, Tabla R-2). El formulado tipo “granulado” dejó mucho menos residuo de ingrediente activo en las cucharas (prácticamente un orden de magnitud menor). Esto podría ser importante para reducir la exposición de los trabajadores a los plaguicidas durante la manipulación, ya que la reutilización de estos implementos sin limpieza adecuada se da comúnmente en el campo.

Es interesante observar que las operaciones de mezcla y carga realizadas en el laboratorio, produjeron valores % de EMP totales similares a los experimentos de campo (Tablas R-1 y R-2). Por otra parte, el tipo de formulación sólida (en polvo o granulada) tuvo un efecto importante sobre el % de EMP y sobre las cantidades encontradas en las cucharas utilizadas para manipularla.

4.1.2.2. EMP para formulaciones líquidas: la influencia del sello de aluminio

Este factor se evaluó porque todas las botellas nuevas de plaguicidas, además de la tapa a rosca, se sellan en fábrica con un disco de papel de aluminio laminado o con polietileno y no cuentan con un método práctico para sacarlo. En la Figura R-3 se muestran algunas botellas con el sello roto después de ser abiertas por los voluntarios.



Figura R-3. Ejemplos de botellas con el sello roto o abierto.

Si bien no se observaron diferencias significativas ($p > 0,01$) entre los ensayos realizados con copita medidora de 15 mL y botellas de 250 mL con sello intacto (Tabla R-3, Ensayo 1, $0,17 \pm 0,03$ %) o roto (Tabla R-3, Ensayo 2, $0,07 \pm 0,03$ %), la contaminación de las manos en los ensayos sin sello fue no detectable (Tabla R-3, Ensayo 3, ND). La misma tendencia se observó en todos los experimentos realizados con Azul Brillante usando botellas sin sello o con el sello roto, independientemente del dispositivo de medición (Tabla R-3, Ensayos 4 vs 5 y 6 vs 7) o del tamaño de la botella (Tabla R-3, Ensayos 8 vs 9). Si se comparan los % EMP para los ensayos realizados con fenolftaleína, copita de

medición y botellas de 250 mL, la contaminación de las manos fue significativamente mayor ($p < 0,0071$) cuando los voluntarios abrieron botellas que tenían el sello intacto (Tabla R-3, Ensayos 10 vs 11).

Estos resultados indican que quizás la ruptura del sello produce un aumento del % EMP. No se observó lo mismo para los ensayos realizados con botellas de 1000 mL llenas con solución de fenolftaleína (Tabla R-3, Ensayos 12, 13 y 14). Una posible explicación es que el hecho de que las soluciones fueran "incoloras" podría enmascarar la influencia del sello en la contaminación de las manos. De todos modos, la ruptura del sello de la botella parece ser un paso importante en el mecanismo de exposición cuando se manipulan botellas nuevas. Estas aproximaciones son tentativas y sería conveniente realizar más ensayos. En la Sección 7.4.2.1 del Anexo se muestra el tratamiento estadístico correspondiente.

Ensayo	n ^a	Volumen Botella (mL)	Color	Instrumento de medición	Sello	% EMP ^h		
						Mano Izquierda	Mano Derecha	Total
1	13	250	AB ^b	Copita 15mL	I ^d	0,05 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,17 ± 0,03
2	14	250	AB	Copita 15mL	R ^e	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,03
3	19	250	AB	Copita 15mL	S ^f	ND ^g	ND	ND
4	4	250	AB	Tubo Falcon 50mL	I	0,05 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,16 ± 0,01
5	5	250	AB	Tubo Falcon 50mL	R	ND	ND	ND
6	10	250	AB	Bomba Dosificadora	I	0,08 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,20 ± 0,06
7	10	250	AB	Bomba Dosificadora	R	ND	ND	ND
8	9	1000	AB	Copita 15mL	I	0,03 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,03
9	15	1000	AB	Copita 15mL	S	ND	ND	ND
10	10	250	FI ^c	Copita 15mL	I	0,26 ± 0,08	0,47 ± 0,10	0,73 ± 0,10
11	10	250	FI	Copita 15mL	S	0,05 ± 0,03	0,10 ± 0,06	0,15 ± 0,08
12	10	1000	FI	Copita 15mL	I	0,09 ± 0,04	0,23 ± 0,07	0,32 ± 0,09
13	10	1000	FI	Copita 15mL	R	0,14 ± 0,04	0,23 ± 0,09	0,37 ± 0,11
14	10	1000	FI	Copita 15mL	S	0,09 ± 0,06	0,17 ± 0,11	0,27 ± 0,16

^a número de réplicas; ^b AB: Azul Brillante; ^c FI: Fenolftaleína Incolora; ^d I: Sello intacto; ^e R: Sello roto; ^f S: Sin sello; ^g ND: No detectable; ^h Se informan los promedios con los respectivos errores estándar.

Tabla R-3. % EMP para las instancias de mezcla y carga de las formulaciones de Azul Brillante y fenolftaleína.

4.1.2.3. EMP para formulaciones líquidas: la influencia del tamaño de la botella

Se realizaron un conjunto de experimentos comparando el % de EMP al utilizar botellas, con el sucedáneo de plaguicida, de 250 mL y 1000 mL. Cuando se midió el % total de EMP para formulaciones líquidas de Azul Brillante con el sello de aluminio intacto y utilizando copitas de medición de 15 mL (Tabla R-3, Ensayo 1, $0,17 \pm 0,03$ %) no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,0166$) con los ensayos en los que se manipularon botellas de 1000 mL bajo las mismas condiciones (Tabla R-3, Ensayo 8, $0,08 \pm 0,03$ %). Tampoco se registraron diferencias significativas ($p > 0,0083$) cuando se manipularon botellas de 250 mL y 1000 mL con una formulación de fenolftaleína incolora (Tabla R-3, Ensayos 10 y 12). En la Sección 7.4.2.2 del Anexo se muestra el tratamiento estadístico correspondiente.

4.1.2.4. EMP para formulaciones líquidas: la influencia del dispositivo de medición

Con el fin de evaluar la influencia de los dispositivos utilizados para medir la dosis de plaguicida, se realizaron un conjunto de experimentos utilizando botellas de 250 mL con soluciones de Azul Brillante y diferentes dispositivos de medición (una copita tipo antibiótico, un tubo Falcon o una bomba dosificadora de jabón acoplada a la parte superior de una botella de plaguicida). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) para los tres conjuntos de experimentos cuando las botellas tenían un sello de aluminio intacto (Tabla R-3, Ensayos 1, 4 y 6). Cuando se repitieron los experimentos con botellas con la tapa de aluminio rota (Tabla R-3, Ensayos 2, 5 y 7), los valores de % EMP fueron no detectables para las mediciones con tubo falcon y con bomba dosificadora, mientras que para las mediciones con copita la exposición fue superior pero cercana al límite de detección. Sin embargo, las tendencias resultaron bastante similares, independientemente del dispositivo de medición, indicando que quizás éste no es una variable crítica asociada al mecanismo de exposición. En la Sección 7.4.2.3 del Anexo se muestra el tratamiento estadístico correspondiente.

4.1.2.5. EMP para formulaciones líquidas: la influencia del color

Se usaron dos sucedáneos de plaguicida diferentes: una solución de Azul Brillante y una formulación de fenolftaleína incolora. Para el análisis estadístico de los resultados de los ensayos 1 y

10 se utilizó la transformación raíz cuadrada de la variable % EMP (ver Sección 7.4.2.4 del Anexo). En el caso de los ensayos con botellas de 250 mL con sellos de aluminio intactos y copitas de medición, la raíz cuadrada del % EMP total para la solución de fenolftaleína no coloreada (Ensayo 10) fue significativamente mayor ($p < 0,0063$) que para la formulación de Azul Brillante (Ensayo 1). La misma tendencia se observó cuando se utilizaron botellas de 250 mL sin el sello de aluminio (Tabla R-3, Ensayos 3 y 11).

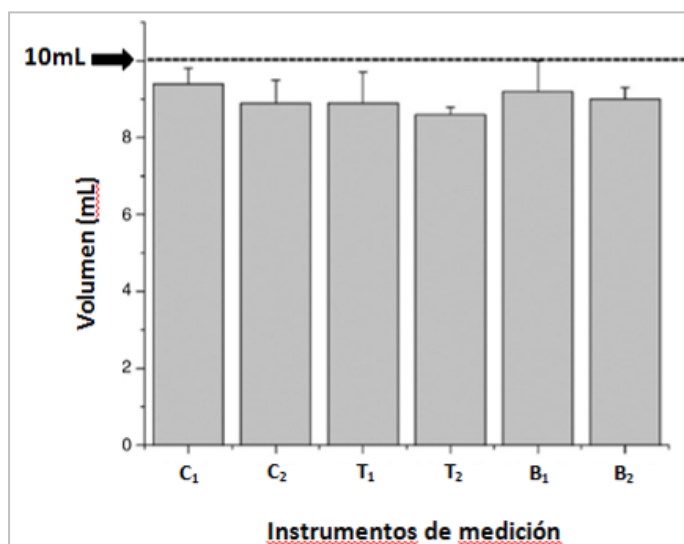
Con el fin de estudiar si esto podría ser un comportamiento general, el mismo conjunto de experimentos se repitió utilizando botellas de 1000 mL. Cuando se usaron sellos de aluminio intactos (Tabla R-3, Ensayos 8 y 12) llenos con formulaciones de Azul Brillante o fenolftaleína, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,0125$) en % EMP. Sin embargo, para los ensayos realizados sin el sello (Tabla R-3, Ensayos 9 y 14) se observó que la contaminación de las manos fue no detectable para los ensayos con Azul Brillante mientras que en los ensayos con fenolftaleína fue de $0,27 \pm 0,16$ %.

Una posible explicación de este comportamiento podría estar asociada al hecho de que los líquidos con alto contraste de color (como sucede con el Azul Brillante) podrían ser transferidos de manera más precisa de un contenedor a otro, porque son fácilmente observables. Otra posible explicación podría estar relacionada con la precaución inconsciente de los operadores para evitar el contacto con líquidos coloreados. Estas aproximaciones son hipótesis tentativas y sería conveniente realizar más ensayos para su comprobación.

4.1.2.6. Precisión y exactitud de los dispositivos de medición

Otro factor estudiado fue la precisión y exactitud del procedimiento de medición (dispositivo + voluntario) en el caso de formulaciones líquidas para un volumen requerido de 10 mL. La porción realmente medida fue pesada y dividida por su densidad para obtener el volumen real.

La Figura R-4 presenta los resultados para copitas, tubos Falcon y bombas dosificadoras para dos conjuntos diferentes de experimentos. El sufijo en cada dispositivo (copita, tubo Falcon, bomba), indica un sello intacto (sufijo = 1, Figura R-3) o sello roto (sufijo = 2, Figura R-3).



C₁: Copita 15mL, sello intacto; C₂: Copita 15mL, sello roto; T₁: Tubo Falcon, sello intacto; T₂: Tubo Falcon, sello roto; B₁: Bomba dosificadora, sello intacto; B₂: Bomba dosificadora, sello roto.

Figura R-4. Precisión y exactitud para medir las formulaciones líquidas con distintos instrumentos.

Como la desviación máxima del volumen requerido fue de aproximadamente del 10 %, todos los dispositivos de medición se consideraron igualmente adecuados para medir los plaguicidas en condiciones de campo (Figura R-4).

4.1.2.7. Diferencias entre los ensayos realizados en campo y laboratorio

En los ensayos de campo, los trabajadores usaron botellas de plaguicidas que habían sido empleadas repetidamente mientras que en las experiencias de laboratorio, los voluntarios usaron siempre frascos nuevos y limpios. Dado que la “historia de uso de las botellas” podría ser una variable a tener en cuenta en el proceso de contaminación de las manos, se decidió determinar cualitativamente la presencia de plaguicidas en las superficies exteriores de un conjunto de botellas recogidas de huertas, algunas de las cuales estaban todavía en uso mientras que otras se habían descartado. Se hisoparon las caras externas de distintos formulados comerciales (Starfos®: clorpirifós, Shooter®: clorpirifós, Talone®: clorotalonil, Endoglex®: endosulfan, Sumilex®: procimidone, Decisforte®: deltametrina, Trigermin®: trifluralina, Daconil®: clorotalonil, Thionex®: endosulfán, Tabla R-4).

Formulado Comercial	Principio activo	Condición de la botella	Plaguicidas encontrados				
			Clorotalonil	Clorpirifós	Procimidone	Endosulfán	Deltametrina
Starfós®	Clorpirifós 48 %	Vacía-descartada	+	+	-	+	+
Shooter®	Clorpirifós 48 %	Vacía-descartada	+	+	-	+	+
Talone®	Clorotalonil 50 %	En uso	+	+	-	+	+
Endoglex®	Endosulfán 35 %	En uso	+	+	-	+	+
Sumilex®	Procimidone 50 %	En uso	+	+	+	+	+
Decis Forte®	Deltametrina 10 %	En uso	+	+	+	+	+
Trigermín®	Trifluralina 48 %	Vacía-descartada	-	-	-	-	-
Daconil®	Clorotalonil 50 %	Vacía-descartada	+	+	-	+	+
Thionex®	Endosulfán 35 %	En uso	-	+	-	+	+
Daconil®	Clorotalonil 50 %	En uso	+	+	-	+	+

Tabla R-4. Plaguicidas encontrados en la superficie exterior de distintas botellas de formulados comerciales tomados en las huertas de Moreno. El símbolo “-” indica ausencia del plaguicida y el símbolo “+” indica presencia del mismo.

Es interesante observar que no sólo se encontró el ingrediente esperado de cada botella en la superficie exterior, sino que prácticamente en todos los casos (con la excepción de Trigermín, Tabla R-4) también se encontraron otros plaguicidas. Este hecho podría explicarse por las condiciones generales de almacenamiento de estos productos (ver Figura R-5), que podrían haber contribuido a la transferencia de plaguicidas desde el exterior de una botella a otra.



Figura R-5. Condiciones generales de almacenamiento de los plaguicidas en una huerta de la zona de Moreno.

4.1.3. Conclusiones Preliminares

Se reportaron en bibliografía (Baldi et al., 2006; Flores et al., 2011; Kim et al., 2014; Ramos et al., 2010) algunos casos en los que en la instancia de mezcla y carga de los plaguicidas, las manos se contaminan mucho más que en la aplicación. Al respecto, Kim et al. (2014) informaron que la exposición manual al acetamiprid fue diez veces mayor durante la preparación (229,7 μg) que durante la aplicación (20,9 μg) en cultivos de sandía bajo invernadero. Tendencias similares fueron encontradas por Ramos et al. (2010) con deltametrina y procimidone en cultivos de tomate en Argentina. Flores et al. (2011) concluyeron que la etapa de preparación de endosulfán y procimidone para rociar flores, en invernaderos, fue más riesgosa que las aplicaciones en sí. Una posible explicación la atribuyeron a que en la mezcla y carga, las manos pueden entrar en contacto directo con el formulado comercial que es más concentrado que el caldo de aplicación (Flores et al., 2011). Estas investigaciones ponen de manifiesto la necesidad de investigar y conocer las distintas variables que pueden influir en la contaminación de las manos. En este trabajo de tesis se sostuvo la hipótesis de que una de las variables podría llegar a ser el tipo de formulación del plaguicida.

Los ensayos realizados en campo y en el laboratorio indicaron que el manejo de formulaciones líquidas, durante la etapa de mezcla y carga, produce un porcentaje mayor de EMP que cuando se emplean formulaciones sólidas. En particular, en los ensayos en el laboratorio, los granulados implicaron menores niveles de exposición que los polvos. Estos resultados coinciden con los informados por Gao et al. (2013), quienes afirmaron que la exposición manual depende del tipo de formulación empleada en la preparación, siendo mayor en las formulaciones líquidas de clorpirifós que cuando se manipularon plaguicidas en polvo y en gránulo con el mismo principio activo. Aust et al. (2007) estudiaron la influencia del tipo de formulado en la exposición dérmica de la manos, siendo mayor cuando se emplearon concentrados emulsionables del fungicida fenpropimorf (líquidos) que formulaciones granuladas del herbicida metsulfuron. Además, Damalas y Eleftherohorinos (2011) afirmaron que el uso de formulaciones sólidas es menos riesgoso que el de líquidas, puesto que es más difícil que un sólido penetre en la piel. Por otro lado, Moon et al. (2013) determinaron valores mayores de contaminación en las manos en las preparaciones de un polvo mojable del insecticida fenvalerato que cuando se utilizó el concentrado emulsionable con el mismo principio activo. Esta tendencia totalmente contraria en cuanto a la exposición de las manos en la instancia de preparación y carga, al usar formulaciones líquidas y sólidas, podría atribuirse al empaque de los sólidos. Moon et al. (2013) informaron que la contaminación pudo darse al volcar las bolsas o paquetes con el

plaguicida, mientras que en los ensayos realizados en este trabajo de tesis se usaron botellas para guardar los sólidos y se dosificó con cuchara (Sección 3.4.5.1, Materiales y Métodos). En consecuencia sería interesante, a futuro, realizar ensayos comparando la exposición cuando se utilizan distintos tipos de envases (bolsa, botella, etc) para las formulaciones sólidas.

El nivel de contaminación de las cucharas utilizadas para extraer el plaguicida sólido de la botella fue también más bajo para las formulaciones granuladas que en polvo, enfatizando los beneficios de este tipo de preparación desde el punto de vista del control de riesgos.

Cuando se estudió el % EMP total asociado a la manipulación de formulaciones líquidas, la ruptura del sello de aluminio de las botellas y el color podrían ser factores importantes que influyen en la exposición de las manos del operador. Sin embargo, sería conveniente realizar más ensayos para probar estos efectos. El tipo de instrumento para realizar la dosificación y el tamaño de la botella parecen desempeñar un papel menos importante en el mecanismo de exposición.

La diferencia entre el % EMP en experimentos de campo y de laboratorio para formulaciones líquidas puede ser parcialmente explicada por la cantidad de plaguicidas encontrada en la superficie exterior de las botellas usadas. Esto podría implicar una transferencia de los mismos desde el exterior de la botella hasta las manos del operador.

4.2. EXPOSICIÓN DÉRMICA POTENCIAL DURANTE APLICACIONES MECANIZADAS DE PLAGUICIDAS

4.2.1. EDP y MOS

Se determinó la EDP para las instancias de preparación (mezcla y carga) y las etapas de aplicación de dos caldos: clorpirifós con oxiclورو de cobre por un lado y miclobutanil por el otro. Las aplicaciones se realizaron con una pulverizadora de turbina montada en un tractor con un tanque de 2000 L en seis mediciones independientes (cuatro para clorpirifós más oxiclورو de cobre y dos para miclobutanil). En la Tabla R-5 se muestran los resultados de EDP en las diferentes secciones del cuerpo para clorpirifós con oxiclورو de cobre (C_1 - C_4) y miclobutanil (M_1 - M_2). El promedio total de EDP para las seis aplicaciones fue de $30,8 \text{ mL.h}^{-1} \pm 6,7 \text{ mL.h}^{-1}$.

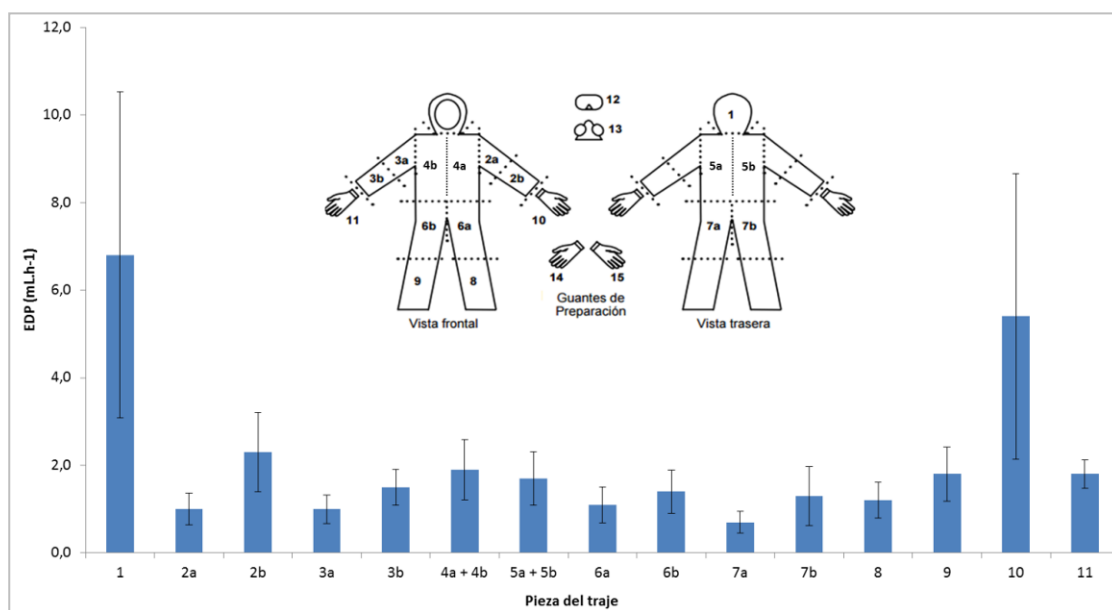
Exposición dérmica potencial (mL.h ⁻¹)								
Principio Activo	Clorpirifós y Oxidloruro de Cobre				Miclobutanil		Promedio	Error Estándar
Pieza del traje ^a	Ensayos ^b							
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	M ₁	M ₂		
1	1,53	0,84	4,79	5,36	25,07	3,24	6,8	3,7
2a	0,47	0,34	1,86	2,27	ND ^c	ND	1,0	0,4
2b	1,49	0,61	1,19	1,21	6,46	2,64	2,3	0,9
3a	1,58	1,49	1,48	1,69	ND	ND	1,0	0,3
3b	1,52	1,00	1,70	2,25	2,81	ND	1,5	0,4
4a + 4b	3,49	1,34	2,90	3,54	ND	ND	1,9	0,7
5a + 5b	2,00	1,54	3,33	3,55	ND	ND	1,7	0,6
6a	2,34	0,84	1,41	2,22	ND	ND	1,1	0,4
6b	2,82	1,25	2,12	2,50	ND	ND	1,4	0,5
7a	0,65	0,35	1,92	1,30	ND	ND	0,7	0,2
7b	0,90	0,41	0,65	1,30	4,55	ND	1,3	0,7
8	1,93	1,27	1,98	2,27	ND	ND	1,2	0,4
9	3,33	1,64	2,49	3,40	ND	ND	1,8	0,6
10	1,34	1,88	3,31	1,63	21,57	2,41	5,4	3,3
11	3,27	0,96	1,76	1,74	0,99	1,96	1,8	0,3
Total ^d	29,70	15,80	32,90	36,20	61,50	10,30	30,8	6,7

^aPieza del traje. Ver Figura R-6. ^b C_i y M_i indican los números de ensayo realizados en campo. ^c ND: no detectado.

^d No incluye los guantes de preparación ni antiparras o máscaras.

Tabla R-5. Exposición dérmica potencial (mL.h^{-1}) para las aplicaciones.

Cuando se analizó la distribución de plaguicidas teniendo en cuenta la EDP promedio de cada sección del cuerpo (secciones 1-11, Figura R-6) no se encontró un patrón específico.



Las barras representan la media $\pm$ error estándar.

Figura R-6. EDP promedio (mL.h^{-1}) para los distintos sectores del traje en C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , M_1 y M_2 .

La EDP para el oxiclورو de cobre (datos no mostrados) se consideró similar a la EDP de la aplicación de clorpirifós (aplicaciones simultáneas de clorpirifós y oxiclورو de cobre). Considerando la EDP expresada como masa (mg) de clorpirifós, oxiclورو de cobre o miclobutanil para las operaciones de mezcla y carga y la exposición asociada a una hora de aplicación de plaguicida, se calculó el Margen de Seguridad (MOS) para ambas etapas y para la suma de las dos (Tabla R-6).

Todas las aplicaciones con clorpirifós resultaron inseguras ($\text{MOS} < 1$), mientras que para los restantes plaguicidas fue segura ($\text{MOS} > 1$). Para los tres plaguicidas las etapas de mezcla y carga fueron más riesgosas que las etapas de aplicación (Tabla R-6) puesto que el MOS calculado tuvo valores más chicos.

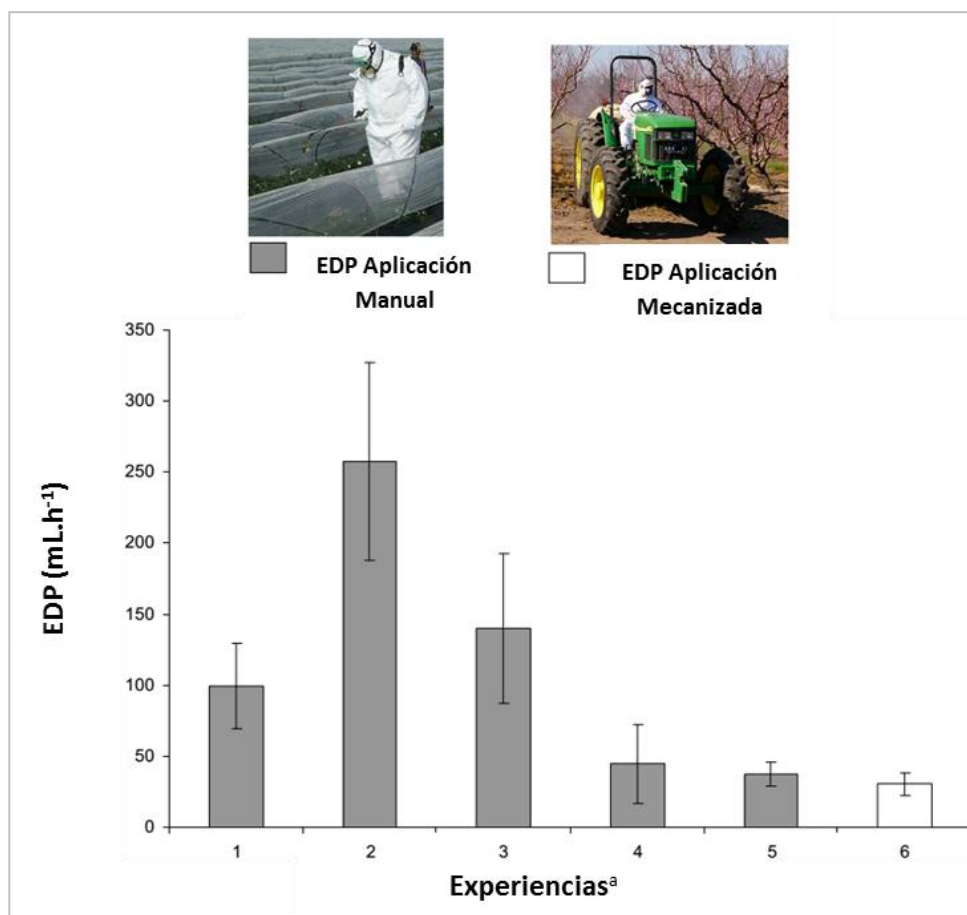
Ensayo	MOS		
	Mezcla y Carga	Aplicación	Total
C ₁ (clorpirifós)	0,0006	0,035	0,00053
C ₂ (clorpirifós)	SM ^a	0,067	-
C ₃ (clorpirifós)	0,028	0,032	0,015
C ₄ (clorpirifós)	SM	0,029	-
C ₁ (Cu ₂ (OH) ₃ Cl)	SM	1,3	-
C ₂ (Cu ₂ (OH) ₃ Cl)	SM	2,5	-
C ₃ (Cu ₂ (OH) ₃ Cl)	SM	1,4	-
C ₄ (Cu ₂ (OH) ₃ Cl)	SM	1,2	-
M ₁ (miclobutanil)	5,6	8,2	3,3
M ₂ (miclobutanil)	SM	14,4	-

^aSM: Sin medir

Tabla R-6. MOS para las etapas de preparación y aplicación.

La comparación de EDP de los trabajadores con los valores reportados en bibliografía es una tarea difícil como consecuencia de la variedad de diferentes expresiones disponibles para esta propiedad (masa de diferentes plaguicidas, volumen de solución pulverizada por unidad de tiempo, porcentaje del total de plaguicidas aplicados, etc). La EDP promedio ($30,8 \text{ mL.h}^{-1} \pm 6,7 \text{ mL.h}^{-1}$) encontrada para la aplicación mecanizada de clorpirifós con oxiclورو de cobre y miclobutanil en las parcelas de durazno fue notablemente menor que la EDP obtenida, en otros trabajos de investigación en Argentina (Flores et al., 2011; Hughes et al., 2006; Hughes et al., 2008; Ramos et al., 2010) para aplicaciones manuales de plaguicidas con mochila (Figura R-7).

La misma tendencia fue observada por Baldi et al. (2006), quien determinó que la media de la exposición dérmica en un día entero de trabajo era de 40,5 mg de ingrediente activo para los operadores de tractores y 68,8 mg para los aplicadores con mochila. Para los operadores de tractores, la media de la exposición dérmica durante una sola operación fue de 2,85 mg para la mezcla, 6,13 mg para la pulverización y 4,20 mg para las etapas de limpieza (Baldi et al., 2006). En el mismo sentido, Graham (2002) determinó que la exposición del cuerpo de un aplicador de mochila manual podría ser hasta cinco veces mayor en comparación con la exposición de un conductor de tractor para la misma concentración y volumen de plaguicida.



Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

^aExperiencias:

- 1-Maiz; captan; horticultura; campo abierto; Fuente: Tomado de Hughes et al., 2006.
- 2- Maiz; deltametrina; horticultura; campo abierto; Fuente: Tomado de Hughes et al., 2008.
- 3-Brócoli; deltametrina; horticultura; campo abierto; Fuente: Tomado de Hughes et al., 2008.
- 4-Flores; endosulfán/procimidone; floricultura; invernadero; Fuente: Tomado de Flores et al., 2011.
- 5-Tomate; deltametrina/procimidone; horticultura; Fuente: Tomado de Ramos et al., 2010.
- 6- Campos de durazneros; aplicación con tractor.

Figura R-7. Comparación entre los distintos valores de EDP para aplicaciones manuales en horticultura y floricultura versus aplicaciones con tractor en plantaciones de duraznos.

No se encontró un patrón de distribución predominante de plaguicidas en el cuerpo de los aplicadores (Figura R-6). Machado, Bassini y Aguiar (2000) informaron que cuando se usaban pulverizadoras con tractores para la aplicación de glifosato en plantaciones de eucalipto, las partes del cuerpo del conductor más expuestas eran el frente de los muslos, piernas, brazos y antebrazos. En el mismo sentido, Vitali et al. (2009) encontraron que en 10 de los 14 casos relacionados con la aplicación de plaguicidas con tractores, la contaminación de las manos fue el principal contribuyente

a la exposición dérmica considerando un ciclo completo de trabajo (mezcla, carga y aplicación). En esta investigación se encontró que la preparación de plaguicidas fue la operación más riesgosa (Tabla R-6). Esto también fue observado por otros autores (Leibally et al., 2008; Lonsway et al., 1997).

Es interesante indicar que todas las mediciones en campos de durazneros se realizaron con un pequeño tractor de asiento abierto. En este sentido, se ha informado que la exposición de los conductores del tractor en una cabina de aire acondicionado o una cabina de pilotaje simple no era significativamente inferior a la exposición del operador utilizando un tractor de asiento abierto (Rubino et al., 2012).

4.2.2. Resultados de deriva y plaguicida en suelos

Otra matriz afectada durante la aplicación de plaguicidas es el suelo. Se distinguen dos situaciones diferentes: el impacto del plaguicida sobre la parcela con durazneros (donde se realizó la aplicación) y sobre el suelo vecino alcanzado por la deriva. Para evaluar los dos casos, se localizaron un conjunto de muestreadores de tela de algodón en ambos suelos. En la Figura R-8 se muestra a modo de ejemplo el esquema de la ubicación de los paños de algodón para C_1 y C_2 . Para ver la disposición de muestreadores en las otras experiencias, ver la Figura M-13 en la Sección 3.5.5 de Materiales y Métodos.

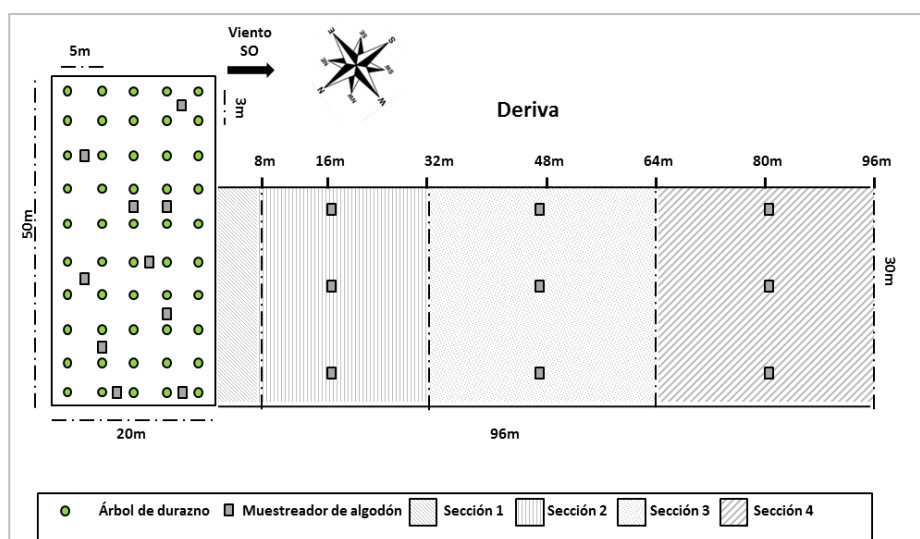


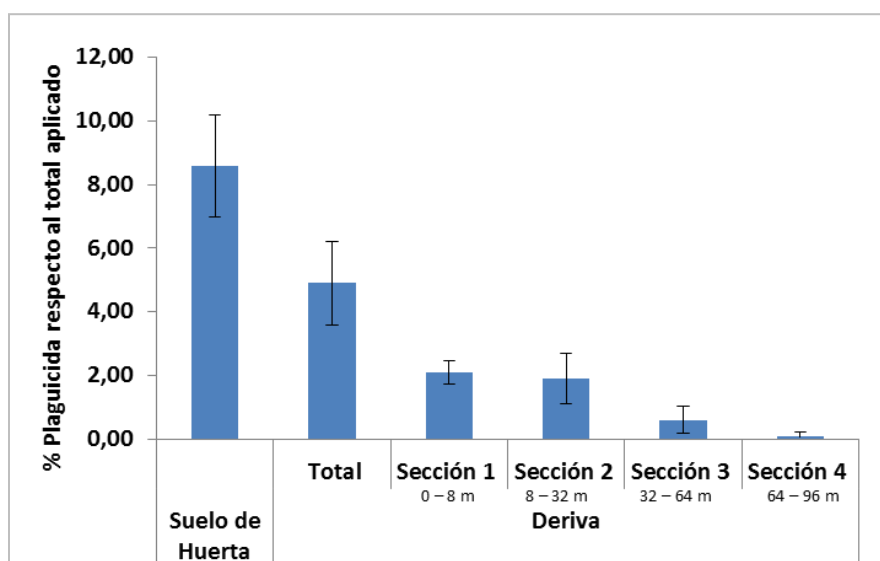
Figura R-8. Esquema de la ubicación de los paños muestreadores en las experiencias C_1 y C_2 .

En la Tabla R-7 se muestran los valores promedio de los porcentajes de clorpirifós (C_1 , C_2 , C_3 y C_4) y miclobutanil (M_1 y M_2), referidos al total de plaguicidas aplicado, encontrados en el suelo del huerto y en cada una de las secciones de deriva.

Experiencia	% Plaguicida $\pm$ Error. Estándar (respecto al total aplicado)					
	Suelo de Huerta	Deriva				
		Total	Sección 1	Sección 2	Sección 3	Sección 4
C_1	6,9	2,4	$1,7 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,2$	$0,1 \pm 0,1$	$0,03 \pm 0,02$
C_2	5,5	3,4	$1,3 \pm 0,7$	$1,6 \pm 1,3$	$0,4 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,1$
C_3	6,4	4,0	$1,5 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,9$	ND	$0,7 \pm 1,2$
C_4	5,8	3,2	$1,4 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,8$	$0,3 \pm 0,3$	ND
M_1	12,3	11,2	$2,9 \pm 1,1$	$5,8 \pm 3,1$	$2,6 \pm 2,2$	ND
M_2	14,8	5,3	$3,5 \pm 1,6$	$1,8 \pm 1,7$	ND	ND
Promedio	$8,6 \pm 1,6$	$4,9 \pm 1,3$	$2,1 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,8$	$0,6 \pm 0,4$	$0,1 \pm 0,1$

Tabla R-7. % Plaguicida promedio en cada sección (respecto al total aplicado) para C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , M_1 y M_2 .

El porcentaje promedio de plaguicidas encontrado en el suelo de la huerta fue de $8,6 \pm 1,6$ %, mientras que la deriva total fue de $4,9 \pm 1,3$ %. En todos los casos se encontraron cantidades detectables de plaguicidas hasta 80 m del borde de la parcela de duraznos donde se realizó la aplicación (Figura R-9).

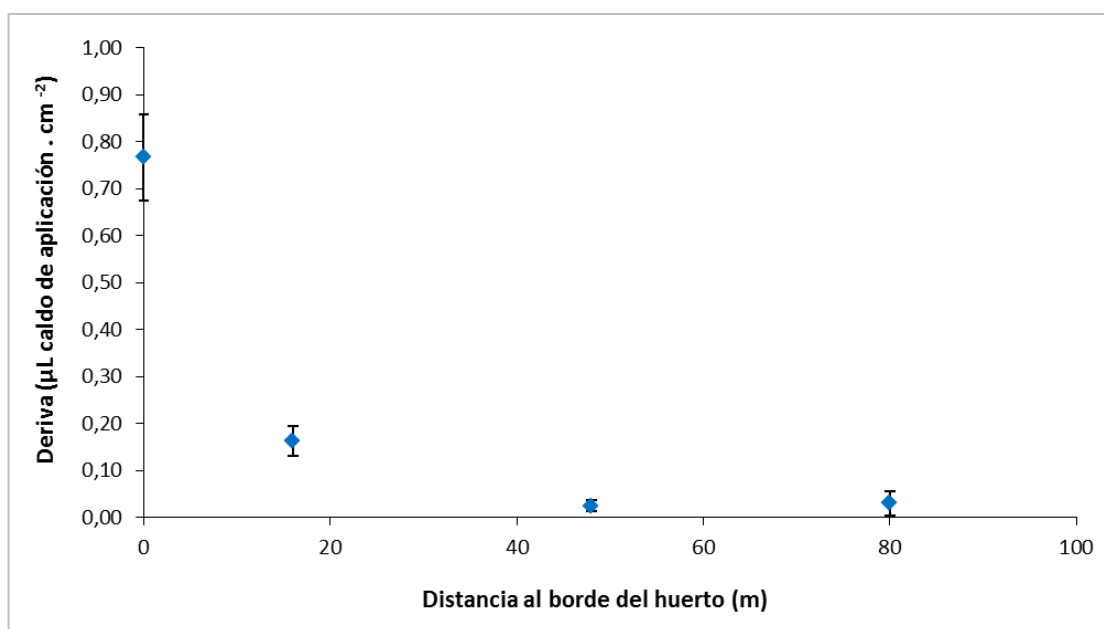


Las barras representan la media $\pm$ error estándar.

Figura R-9. % Plaguicida promedio en cada sección (respecto al total aplicado).

Estos valores fueron inferiores a la cantidad relativa de plaguicidas encontrada por Holland et al. (1997) durante una aplicación con pulverizadora mecánica, en un huerto de kiwis en Nueva Zelanda, donde el 16 % del plaguicida total aplicado quedó en el suelo del huerto. Glotfelty et al. (1990) informaron que después de la aplicación de diazinon usando también una pulverizadora mecánica en un huerto de durazneros, el suelo recibía dos o tres veces más insecticida que los árboles, lo que no ocurrió en esta investigación. Las cantidades relativas de clorpirifós, oxiclورو de cobre y miclobutanil encontradas en los suelos de las parcelas de durazneros donde se realizaron las aplicaciones fueron menores que las encontradas en suelos donde se realizaron aplicaciones manuales con mochila (Querejeta et al., 2012).

Para una comparación más fácil con los datos bibliográficos de deriva, en la Figura R-10 se muestran los promedios de la deriva de clorpirifós en C₁-C₄ (expresados como μL de caldo. cm^{-2}), en función de la distancia al borde de la parcela de duraznos donde se realizó la aplicación.



Los puntos representan la media $\pm$ error estándar

Figura R-10. Volumen promedio ($\mu\text{L}.\text{cm}^{-2}$) de la mezcla de plaguicidas que se encontró por fuera de la parcela rociada para los experimentos C₁, C₂, C₃ y C₄.

Con respecto a las cantidades relativas de plaguicida que derivaron fuera del suelo de la huerta, se encontró un valor promedio del 4,9 % $\pm$ 1,3 % del total de plaguicida aplicado. Holland et al. (1997) informaron una deriva total del 2 % para una aplicación de huerto de kiwis, con una distancia media de 26 m para el 50 % de la deriva. En este ensayo, la distancia media estimada para el

50 % de la disminución fue de alrededor de 10 m (Figura R-10). En todos los casos se encontraron cantidades detectables de clorpirifós hasta 80 m del borde del huerto (Tabla R-7). Bueno, Da Cunha y Santana (2016) estudiaron la influencia del uso de distintos tipos de boquillas en la deriva, en aplicaciones con tractor en campos de soja en Brasil. Encontraron residuos de plaguicida hasta los 50 m de la zona de aplicación, además determinaron que a mayor tamaño de gota generado por la boquilla, menor es la deriva (Bueno et al., 2016).

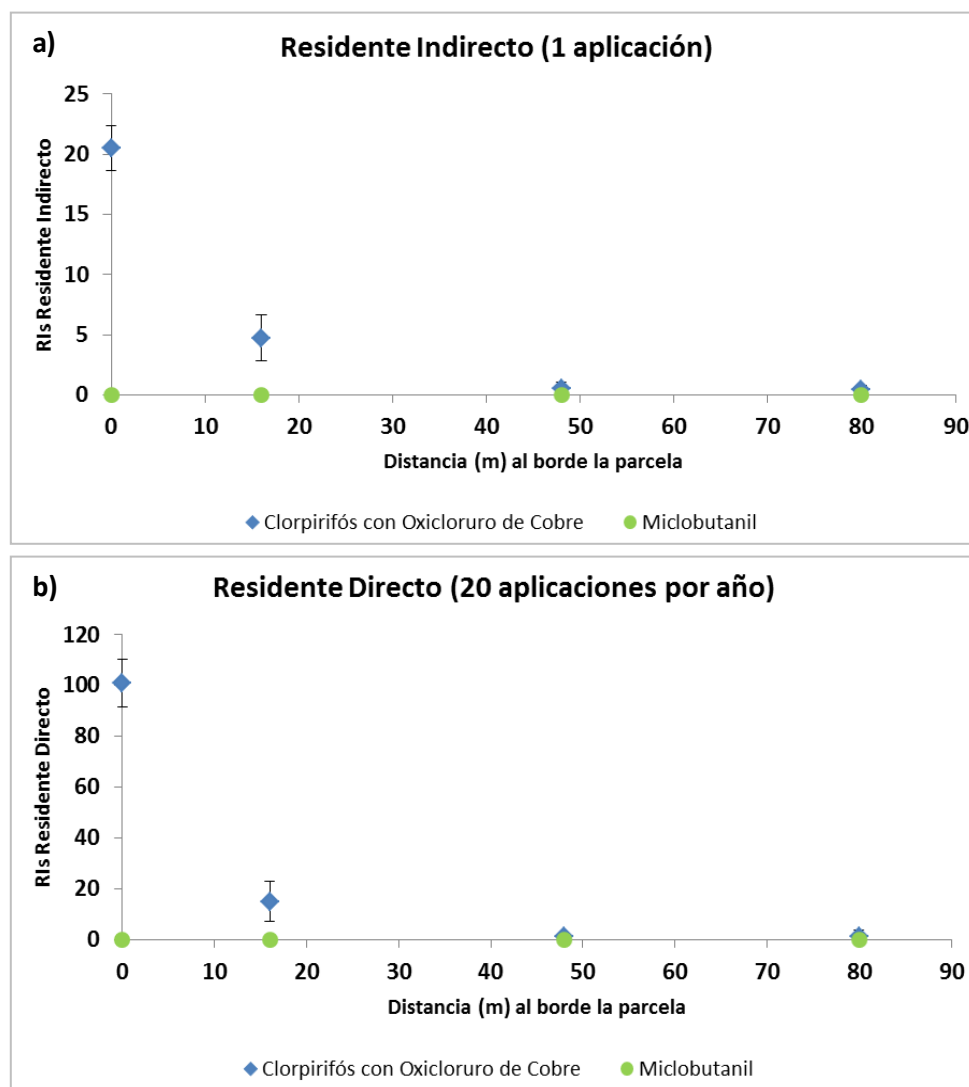
4.2.3. Indicadores de riesgo

Teniendo en cuenta los valores de deriva de plaguicidas desde el borde de la parcela de duraznos, se calcularon un conjunto de indicadores de riesgo para residentes indirectos (para una aplicación) y residentes directos (para la hipótesis de un total 20 aplicaciones al año) como se indica en la Sección 3.5.11 de Materiales y Métodos. En resumen, los RIs correlacionan la cantidad de plaguicida que se encontró en un determinado punto de la unidad de producción con los datos toxicológicos disponibles para seres humanos (por ejemplo AOEL). Contrariamente al MOS, en estos casos, si el $RI < 1$, la condición es segura.

En la Figura R-11 se muestran los RIs de residentes directos e indirectos medidos a diferentes distancias del borde de las parcelas de durazneros, para el caso de la aplicación simultánea de clorpirifós con oxiclورو de cobre y para la aplicación de miclobutanil.

El desarrollo de RIs es una tarea importante debido a la necesidad de establecer zonas de amortiguación de dimensiones aceptables a fin de disminuir la exposición general a los plaguicidas. Tomando en cuenta las descripciones de residentes indirectos y directos introducidas por Cunha et al. (2012), se calcularon, utilizando los valores de deriva experimental de esta investigación, los RIs en función a la distancia al borde del huerto (Figura R-11). El peor escenario fue en el borde de la producción ($x = 0$ m). Usando esta condición, el RI para residentes indirectos fue de $20,5 \pm 1,9$, considerando los efectos combinados de clorpirifós con oxiclورو de cobre y $0,105 \pm 0,005$ para el miclobutanil. Cunha et al. (2012) informaron valores de RIs, a 8 m de una frontera de producción de cítricos, de 1,1482 para clorpirifós y 0,0785 para oxiclورو de cobre, utilizando el modelo alemán para los valores de deriva (Ganzelmeier et al., 1995; Rautmann, Streloke y Winkler, 2001).

Respecto al RI de los residentes directos, se utilizó como hipótesis que éstos pudieron estar expuestos a 20 aplicaciones de plaguicidas en un año, obteniendo un RI de $101,0 \pm 9,2$ y de $1,4 \pm 2,2$ para el clorpirifós más oxiclورو de cobre a 0 m y 80 m respectivamente, del borde de las parcelas donde se aplicó. Estos resultados indican que a mayor distancia de la zona de aplicación hay condiciones más seguras.



Los puntos representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-11. Indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos en aplicaciones por un lado de clorpirifós con oxiclورو de cobre (a) y por otro de miclobutanil (b).

4.2.4. Conclusiones Preliminares

Se puede concluir que la EDP promedio del trabajador para el clorpirifós, el oxiclورو de cobre y miclobutanil en aplicaciones con tractor en campos de durazneros fue menor que las EDP previamente medidas para aplicaciones manuales de otros plaguicidas con mochila en invernaderos de hortalizas, flores y cultivos de campo abierto (Flores et al., 2011; Hughes et al., 2006; Hughes et al., 2008; Ramos et al., 2010). No se detectó ningún patrón particular de distribución de plaguicidas en el cuerpo del trabajador.

Las cantidades relativas de plaguicidas que alcanzaron el suelo de la huerta fueron menores que en estudios previamente reportados para aplicaciones mecanizadas (Glottfelty et al., 1990; Holland et al., 1997) y manuales (Querejeta et al., 2012). Si se compara con la deriva resultante de aplicaciones manuales de plaguicidas, el porcentaje de plaguicidas para la aplicación mecanizada fue similar pero alcanzó distancias mayores (hasta 80 m).

Se calcularon indicadores de riesgo para residentes directos e indirectos por un lado para aplicaciones de clorpirifós con oxiclورو de cobre y por otro para miclobutanil. Los escenarios más riesgosos fueron para el primer caso. En particular, se determinó que se necesitan zonas de amortiguación de al menos 48 m (condición $RI < 1$) para residentes directos e indirectos para estar en condiciones seguras para el caso de la aplicación conjunta de clorpirifós y oxiclورو de cobre.

4.3. ÉSTERES FTÁLICOS

4.3.1. Concentración de PAEs en distintos tipos de cubiertas plásticas por GC-ECD

En la Tabla R-8 se muestran los resultados obtenidos para la determinación de la concentración total de PAEs sobre cubiertas plásticas hortícolas en la zona de Moreno y La Plata por la técnica de derivatización a *N*-(2-cloroetil) ftalimida (Sección 3.6.5, Materiales y Métodos) utilizando un sistema GC-ECD. Las concentraciones de PAEs totales (Σ PAEs) varían ampliamente de acuerdo al tipo de película plástica. En la Tabla R-8 se resaltan en verde las muestras que dieron positivas en la determinación de Σ PAEs. En particular, los valores más altos de concentración se encontraron para EVA ($> 8,75$ mg PAEs.kg⁻¹ plástico) seguido del film de PE para túnel (FT: 1,45 mg PAEs.kg⁻¹ plástico) y del film de PE cristal para invernadero (FI) tomado de Moreno (0,69 mg PAEs.kg⁻¹ plástico).

Tipo de Cubierta Plástica ^a	Condición	Zona de Estudio	Σ PAEs (mg PAEs.kg ⁻¹ plástico)	n ^c
MN	En uso	Cuartel V -Moreno	ND ^b	9
MN	En uso	La Plata	ND	9
MNA	Acumulado	Cuartel V -Moreno	ND	3
MNV	Virgen	-	ND	3
FT	En uso	Cuartel V -Moreno	1,45	9
FI	En uso	Cuartel V -Moreno	0,69	3
FI	En uso	La Plata	ND	2
FIA	Acumulado	Cuartel V -Moreno	ND	3
EVA	Virgen	-	$> 8,75$	3
MR	Acumulado	Cuartel V -Moreno	ND	3
MR	Acumulado	La Plata	ND	3

^a MN: PE para mulching negro de 25 μ m de espesor, MNA: PE para mulching negro de 25 μ m de espesor abandonado, MNV: PE para mulching negro de 25 μ m de espesor sin uso, FT: Film PE para túnel, FI: Film PE cristal para invernadero, FIA: Film PE cristal para invernadero abandonado, EVA: Film PE EVA para invernadero, MR: Manguera de riego; ^b ND, no detectado; ^c n refiere al número de muestras o submuestras recolectadas en campo.

Tabla R-8. Concentración (mg.kg⁻¹) de PAEs en distintos tipos de cubiertas plásticas.

Las concentraciones de PAEs fueron no detectables, por este método, en todas las cubiertas de polietileno de mulching negro analizadas. Tampoco se detectaron PAEs en las muestras de manguera de riego.

Las concentraciones de PAEs totales encontradas en FT y en FI en esta investigación son menores a las halladas en bibliografía (Li et al., 2016; Wang et al., 2013; Zhou et al., 2012) salvo para el caso de EVA. No se detectaron, en este estudio, ésteres ftálicos en el film de PE para mulching negro. Wang et al. (2013) reportaron concentraciones de PAEs totales de $4,89 \pm 1,59 \text{ mg.kg}^{-1}$ en los films de polietileno utilizados para la construcción de túneles, de $50,8 \pm 18,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ en mulching negro y de $119,4 \pm 26,81 \text{ mg.kg}^{-1}$ para mulching blanco, siendo mayoritarios el DBP y el DEHP. Li et al. (2016) encontraron valores entre $3,66 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $30,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ en films de mulching negro y demostraron que el diisobutilftalato (DIBP), el DBP y el DEHP eran los más abundantes. Zhou et al. (2012) determinaron las concentraciones individuales de diversos PAEs en films de polipropileno (PP) y PE de diferentes espesores (0,06 mm; 0,08 mm y 0,10 mm) utilizados comúnmente en horti cultura en China (los autores no especifican con qué fin, si para mulching o construcción de invernaderos). Por ejemplo encontraron concentraciones de DMP entre $392,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ y 1240 mg.kg^{-1} ; entre $80,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $202,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de dietilftalato (DEP) y DBP; entre 1300 y $868,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ de diisooctilftalato (DIOP) y DEHP; concentraciones de didecilftalato (DDP) entre 1583 y 2732 mg.kg^{-1} en dichos films.

Las diferencias en cuanto a los valores de concentración entre esta investigación y la bibliografía podrían explicarse por la composición del material de las películas plásticas. El film utilizado para mulching en China es presumiblemente de forma mayoritaria cloruro de polivinilo (PVC) (Liu et al., 2014) al que se le agregan ftalatos para aumentar su flexibilidad y elasticidad (Chen et al., 2013). Para estos materiales la concentración de PAEs en productos plásticos terminados se encuentra en un rango de entre 10-60 % del peso final de los mismos (Hens y Caballos, 2003). En nuestro país la mayor parte de las películas plásticas agrícolas son de polietileno. La presencia de PAEs en las muestras analizadas, podría deberse a un efecto de contaminación cruzada en el proceso de extrusión o elaboración del plástico. Otro factor que podría explicar esto, sería un eventual desarrollo de corrientes de plásticos reciclados en las que el PE se mezclara por ejemplo, con PVC. En relación a esto, Fu y Du (2011) informaron la proporción de DEHP en diversos tipos de cubiertas plásticas utilizadas para la construcción de invernaderos, siendo casi cero en films de PE, alrededor de un 10,5 % en films de PVC+PE y de un 22,4 % en films de PVC.

4.3.2. Concentración de PAEs en suelos por GC-ECD

Se analizaron distintas muestras de suelo en contacto directo con las películas de mulching negro y film de polietileno para la construcción de túneles, en los cinturones hortícolas de Moreno y La Plata. No se detectaron PAEs en ninguno de los suelos analizados.

La aplicación de cubiertas plásticas para mulching es probablemente la principal fuente antropogénica de PAEs en suelos agrícolas (Wang et al., 2015). La importancia de la determinación de los PAEs en suelos, reside en que éstos pueden ser absorbidos por vegetales y por ende, al entrar en la cadena alimenticia, representarían un potencial riesgo para la salud de los seres humanos (Fu y Du, 2011). Wang et al. (2013) encontraron concentraciones de PAEs en suelo entre 0,15-9,68 mg.kg⁻¹, además determinaron que los valores dependen de los distintos modos de uso de películas plásticas. En dicha investigación, la ΣPAEs en suelos tomados de zonas en las que se usaron cubiertas plásticas fueron en términos relativos hasta un 568 % mayores que en suelos control sin uso de plástico. Esta idea también se refuerza con los valores de hasta 1232 mg.kg⁻¹ de PAEs encontrados en suelos de campos de algodón en China, donde se usaron por muchos años films de mulching (Guo y Wu, 2011). En la Tabla R-9, se resumen, a modo de ejemplo las concentraciones de DMP, DEP, DBP, bencilbutil ftalato (BBP), DEHP y DnOP encontradas en distintos tipos de suelos destinados a horticultura, en diversas partes del mundo.

Tipo de suelos	Zona de Estudio	DMP ^b	DEP	DBP	BBP	DEHP	DnOP	ΣPAEs (mg.kg ⁻¹)	Referencias
Invernadero	China	0,008	0,002	0,44	0,004	0,38	0,002	0,12-1,83	Li et al., 2016.
Horticultura	China	ND ^a -0,016	ND-0,018	ND-1,41	ND-0,041	0,034-9,03	ND-7,04	0,15-9,68	Wang et al., 2013.
Agricultura	España	-	-	-	-	1,00-63,00	-	-	Plaza-Bolanos et al., 2012.
Horticultura	China	0,002-0,101	0,002-0,114	0,013-0,285	0,000-0,358	0,028-4,17	0,000-9,78	0,05-10,4	Kong et al., 2012.
Horticultura	Holanda	-	-	0,06	-	0,031	-	-	Peijnenburg y Struijs, 2006.
Agricultura	Gran Bretaña	0,0001	0,0002-0,0009	0,079-0,008	0,0002-0,0008	0,022-0,076	0,012-0,014	-	Gibson et al., 2005.
Horticultura	China	ND	ND-1,2	1,1-4,3	ND	8,0-57,4	ND	9,7-58,9	Li et al., 2010.
Invernadero	China	ND	0,06-1,49	0,14-0,35	0,03-0,16	0,81-2,20	0,10-0,25	1,9-4,36	Chen et al., 2011.
Campos de Algodón	China	ND-3,01	ND-2,42	11,2-57,7	-	104-149	-	124-1232	Guo y Wu, 2011.

Fuente: Adaptado de Wang et al., 2013.

^a ND, no detectado. ^b -, no analizado. ^b Se consideraron los valores promedio para cada PAE.

Tabla R-9. Concentraciones de PAEs totales en suelo reportadas en otros trabajos de investigación.

4.3.3. Determinación de PAEs en las películas plásticas por GC-MS

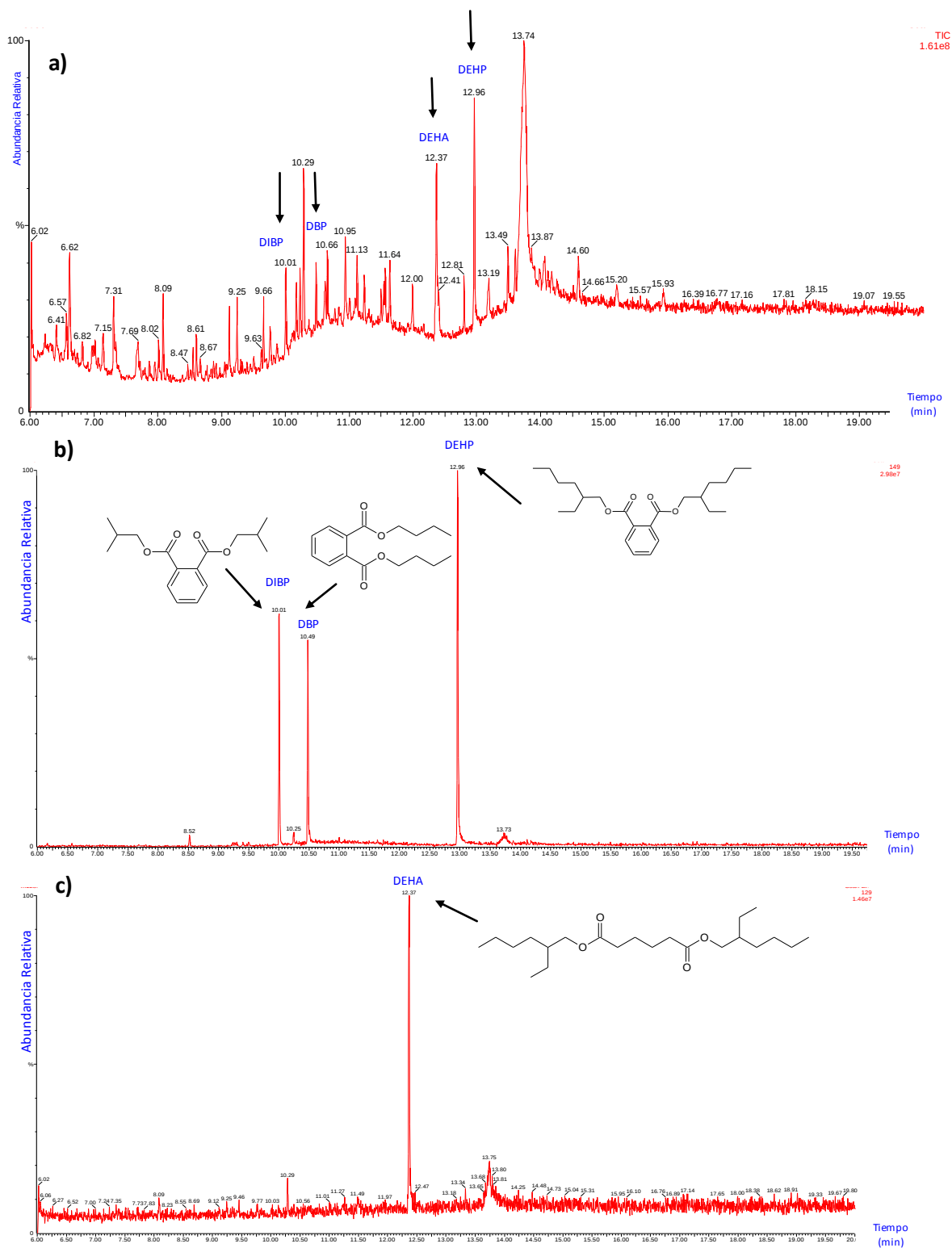
Los extractos de las muestras de FT, FI y EVA se analizaron por CG-MS con el objetivo de identificar cualitativamente los PAEs presentes en cada una de ellas.

En las Figuras R-12 a R-14 se muestran los TIC correspondientes a las corridas cromatográficas de las muestras de películas plásticas de polietileno que dieron positivas en ftalatos con el método de derivatización.

En FT, FI y EVA se encontraron los siguientes ftalatos: DBP ($t_r=10,49\text{min}$), diisobutilftalato (DIBP $t_r=10,01\text{min}$) y DEHP ($t_r=12,96\text{min}$). Estos resultados son coherentes con las determinaciones de PAEs totales por el método de la derivatización a ftalimida (Sección 4.3.1, Resultados). Tal como se mencionó en la sección anterior el DEHP, el DBP y el DIBP son los aditivos plastificantes más abundantes encontrados en las películas plásticas de PVC destinadas para horticultura.

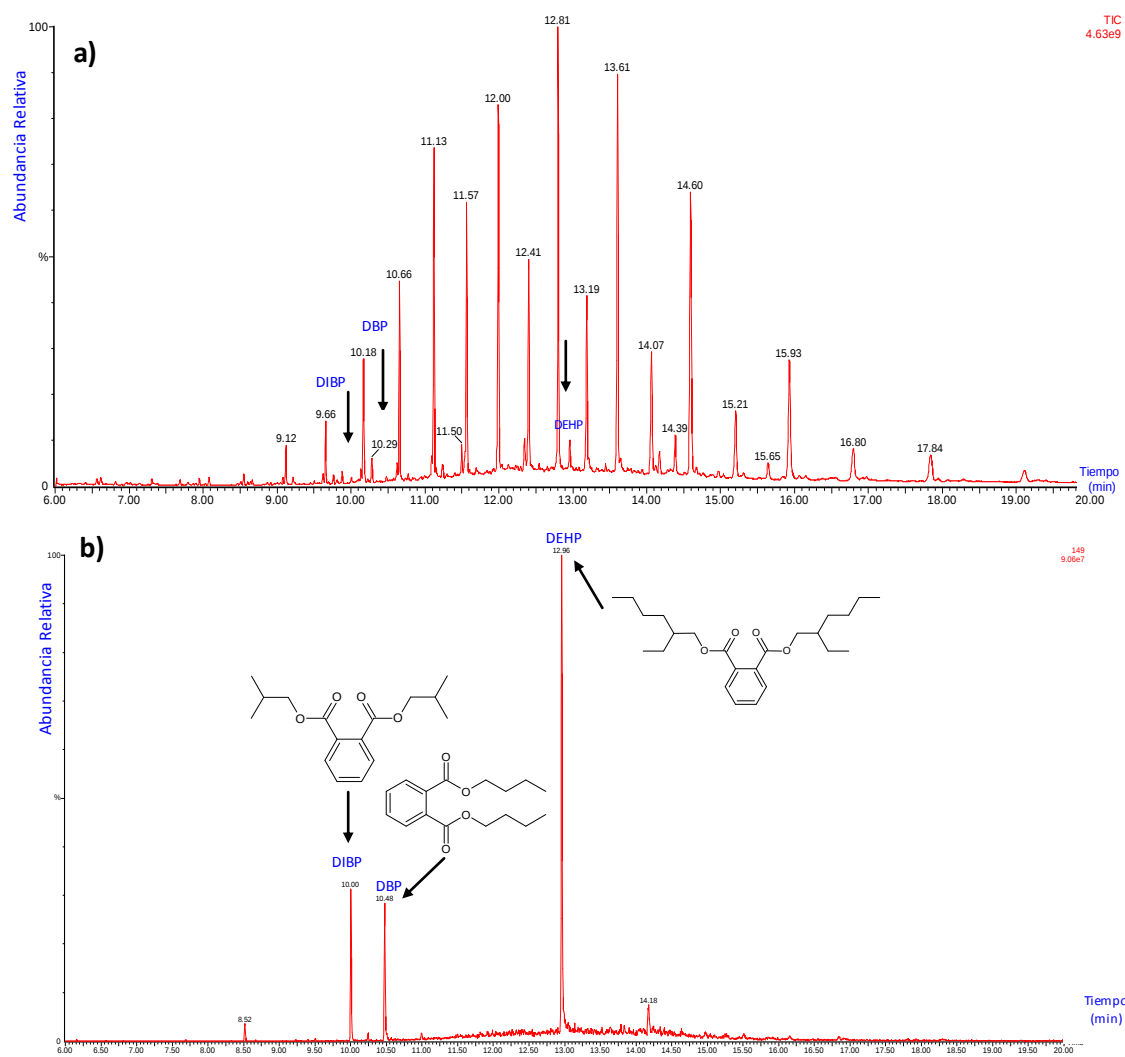
En FT también se encontró bis(2-etilhexil) adipato (DEHA $t_r=12,96\text{min}$). El DEHA es utilizado, en pequeñas concentraciones, en la producción de films de PVC (Fasano et al., 2012; Rahman y Brazel, 2004). No se encontraron en bibliografía registros de DEHA en suelos y plásticos utilizados en horticultura. Sin embargo, muchos estudios revelan que este plastificante suele estar presente en films de PVC utilizados para envolver alimentos (Goulas et al., 2007). En Argentina y otros países del mundo se suelen usar aceite de soja epoxidado en conjunto con el DEHA como aditivos plastificantes y estabilizantes para PVC (Audic, Reyx y Brosse, 2003) por lo que la presencia de DEHA en las muestras podría ser un indicio de que las películas de PE tienen además PVC.

En el Anexo 7.2 se muestran los espectros de masas de cada uno de los ftalatos encontrados, en las muestras de plásticos analizadas, junto con los espectros obtenidos de la biblioteca del NIST.



a) TIC; b) SIR $m/z=149$ uma/carga; c) SIR $m/z=129$ uma/carga.

Figura R-12. Resultados cromatográficos para el análisis por GC-MS del film de polietileno para construcción de túneles (FT) tomado de Moreno, Buenos Aires.



a) TIC; b) SIR m/z=149 uma/carga.

Figura R-13. Resultados Cromatográficos para el análisis por GC-MS del film de polietileno tipo cristal de invernadero (FI) tomado de Moreno, Buenos Aires.

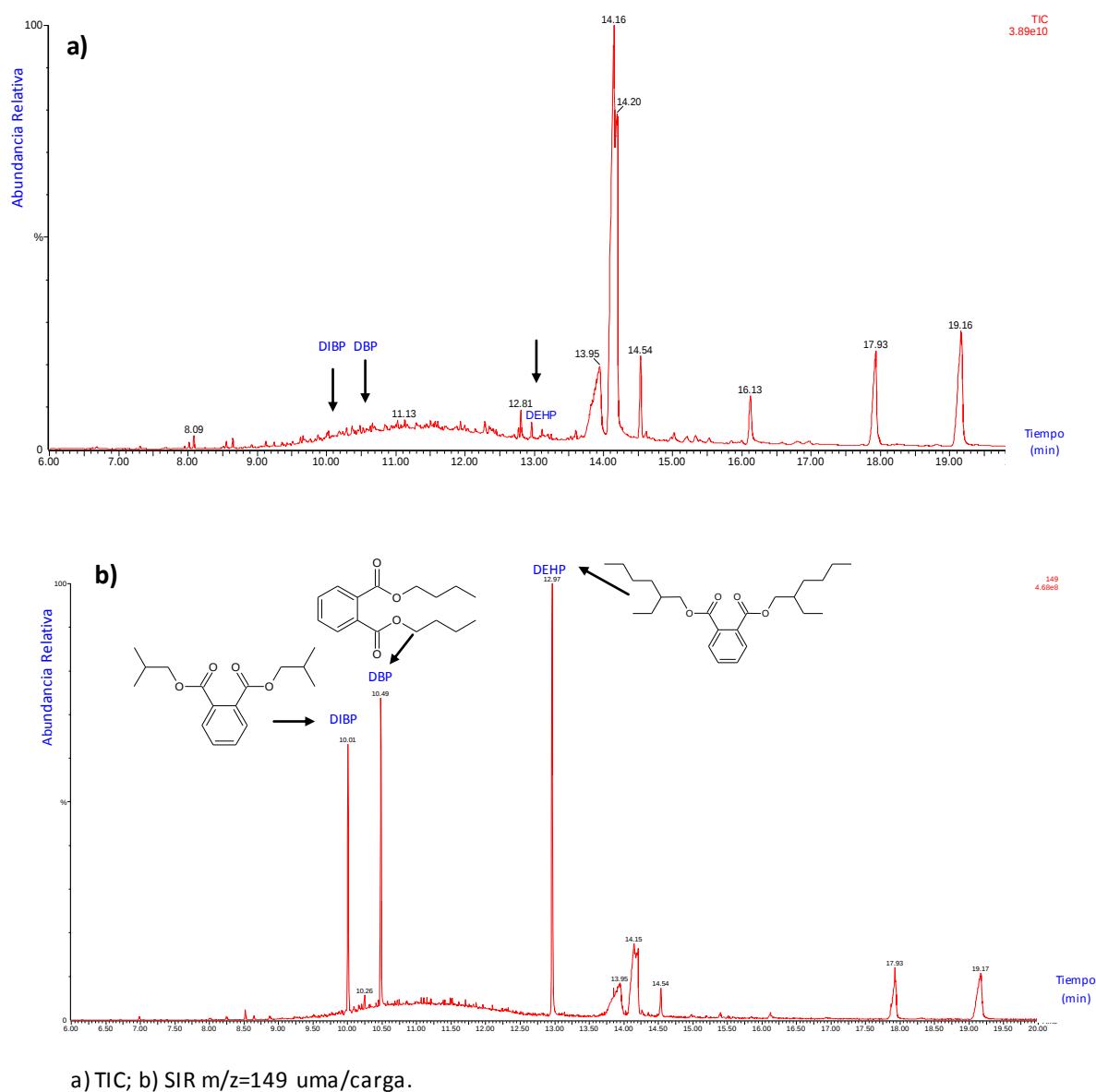


Figura R-14 .Resultados Cromatográficos para el análisis por GC-MS del film de polietileno (EVA) tomado de Moreno, Buenos Aires.

4.3.4. Estudio de la migración de ésteres ftálicos en películas plásticas agrícolas en diferentes condiciones de: temperatura, espesor y grado de solarización del film.

Los PAES no están unidos irreversiblemente a la matriz polimérica de los plásticos, sino que constituyen una fase libre, móvil y lixiviable, que puede conducir a la migración de los mismos desde el plástico al ambiente externo bajo ciertas condiciones (Balafas, Shaw y Whitfield, 1999; Colombani et al., 2009; Hens y Caballos, 2003). En este sentido, se entiende a la migración como el conjunto de procesos por los cuales un componente abandona el material que lo contiene hacia una fase líquida, gaseosa o sólida (Rahman y Brazel, 2004). En consecuencia, las películas o residuos plásticos presentes en los suelos podrían liberar PAEs que son potencialmente cancerígenos y mutagénicos (Fu y Du, 2011). Esto pone de manifiesto la posibilidad de la existencia de una contaminación ubicua de ftalatos en suelos destinados a agricultura en los que se usan películas plásticas (Chen et al., 2011; Ma, Chu y Xu, 2003). Teniendo en cuenta esto, se decidió estudiar las distintas variables que podrían condicionar o influir en el proceso migratorio de los ésteres ftálicos desde los plásticos hacia el suelo y la atmósfera. Con el objetivo de entender la dinámica ambiental de estos contaminantes, se hicieron estudios de transferencia de masa en microcosmos de suelo (Figura R-15) tal como se lo explicó en la Sección 3.6.7.2 de Materiales y Métodos. Las condiciones ensayadas se resumen en la Tabla M-15 (apartado 3.6.7.2 de Materiales y Métodos).

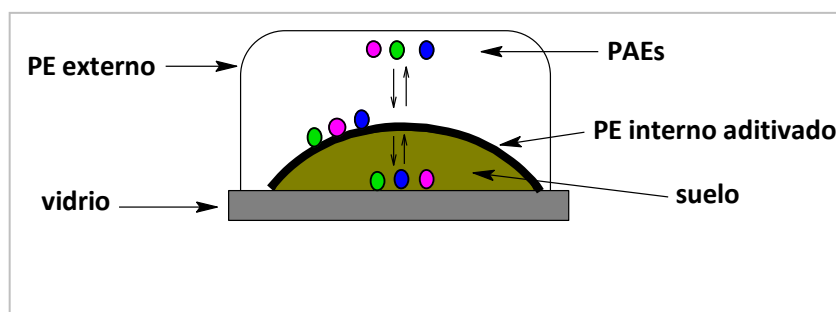


Figura R-15. Esquema del microcosmos empleado en los ensayos de migración

En las siguientes secciones se analizará para cada tipo de ftalato la influencia de la temperatura, el grado de solarización y el espesor de la película plástica en la migración hacia el suelo y la atmósfera. Para una mejor comprensión de los resultados en el Anexo 7.3 se muestran las cinéticas de migración de cada ftalato para los ensayos realizados. En todos los casos el balance de masas global para todos los tiempos de muestreo de cada ftalato estuvo entre un 70 % y un 110 %.

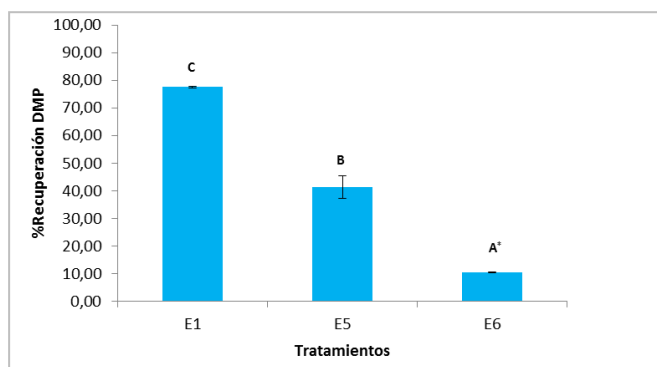
4.3.4.1. Efecto de la temperatura en la migración

A continuación se discute el efecto de la temperatura sobre los porcentajes de migración (expresados como % de recuperación) para los siguientes PAEs: DMP, DBP y DEHP. En la Figura R-15 se muestra un esquema del microcosmos empleado en los ensayos. Se considera que hubo mayor migración cuando el % de recuperación en el film PE interno fue menor. Consecuentemente, a mayor % de recuperación en el PE externo y el suelo, mayor migración hacia dichas matrices.

Para el análisis estadístico (ver Sección 7.4.3 del Anexo) se separaron los tratamientos en dos grupos, por un lado los ensayos realizados con mulching negro de 25 μm de espesor y por otro lado, todos los ensayos realizados con PE aditivado con EVA de 100 μm de espesor. En el primer caso, tanto para el DMP como para el DBP, se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, a las 6 h. Para el film de PE de 100 μm se realizó una comparación a las 6 h para el DMP y a las 24 h para el DBP. Para el caso del DEHP, ver la Sección 4.3.4.1.3 de Resultados y Discusión.

4.3.4.1.1. DMP

La velocidad de migración del DMP desde el mulching de 25 μm hacia el suelo, fue significativamente mayor a 50°C que a 20°C. Esto se evidencia en los % de recuperación de DMP menores en los ensayos realizados a 50°C (Figura R-16).



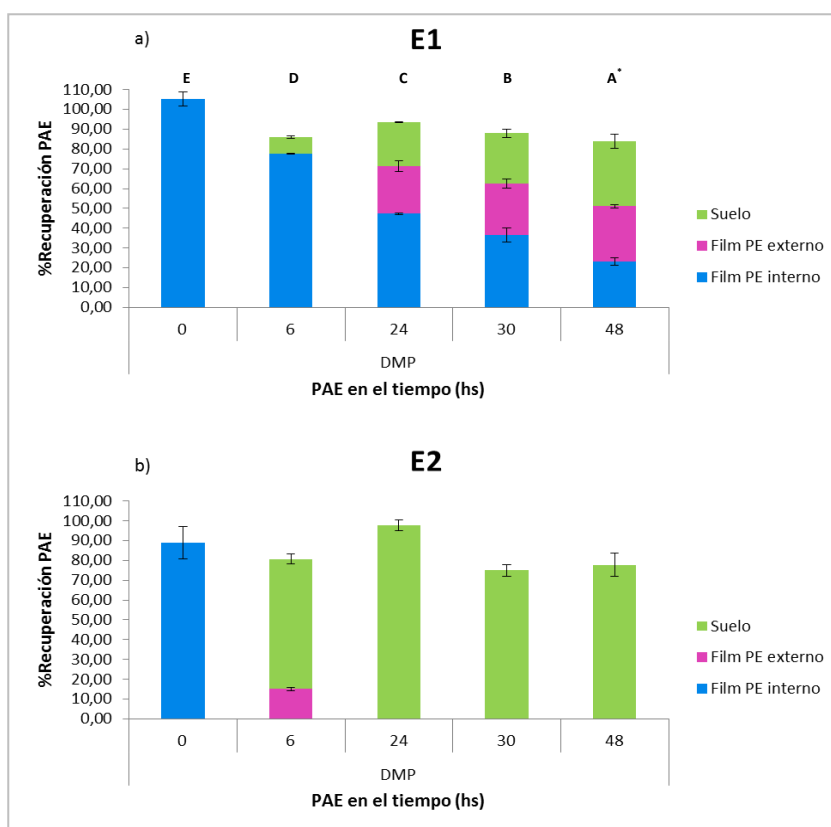
E1 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Sin solarizar-20°C); E5 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Solarizado 5 meses-20°C); E6 (Condiciones: Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0125$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-16. % Recuperación de DMP en los films internos de mulching de 25 μm de espesor para t=6 h.

En el caso del mulching negro de 25 μm de espesor a las 6 h de transcurrido el ensayo a 50°C (E2) no se encontró DMP en el film de PE interno, es decir migró completamente hacia el suelo y el film de PE externo (E2, Figura R-17b). Por otro lado, a 20°C se registró un valor de $77,1 \pm 0,2\%$ en el PE interno, que representa una reducción del 27,7 % respecto al tiempo inicial (E1, Figura R-17a).

En E1 las recuperaciones del DMP en el film de PE interno fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$) para todos los tiempo de muestreo, siendo éstas decrecientes a medida que aumentó el tiempo de exposición (E1, Figura R-17a). En paralelo, se registró un aumento gradual del DMP en el suelo. A 20°C la recuperación en dicha matriz, subió de un $8,6\% \pm 0,6\%$ a las 6 h a un $32,9\% \pm 3,4\%$ a las 48 h de estudio. A partir de las 24 h en adelante, se encontró DMP en el film de PE externo, siendo los valores constantes ($26,0\% \pm 1,8\%$) hasta las 48 h. En E2 todo el DMP sembrado en el PE interno migró directamente hacia el suelo. Si bien a las 6 h se registró un $15,0\% \pm 0,9\%$ en el PE externo, para los restantes tiempos de muestreo no se lo encontró.

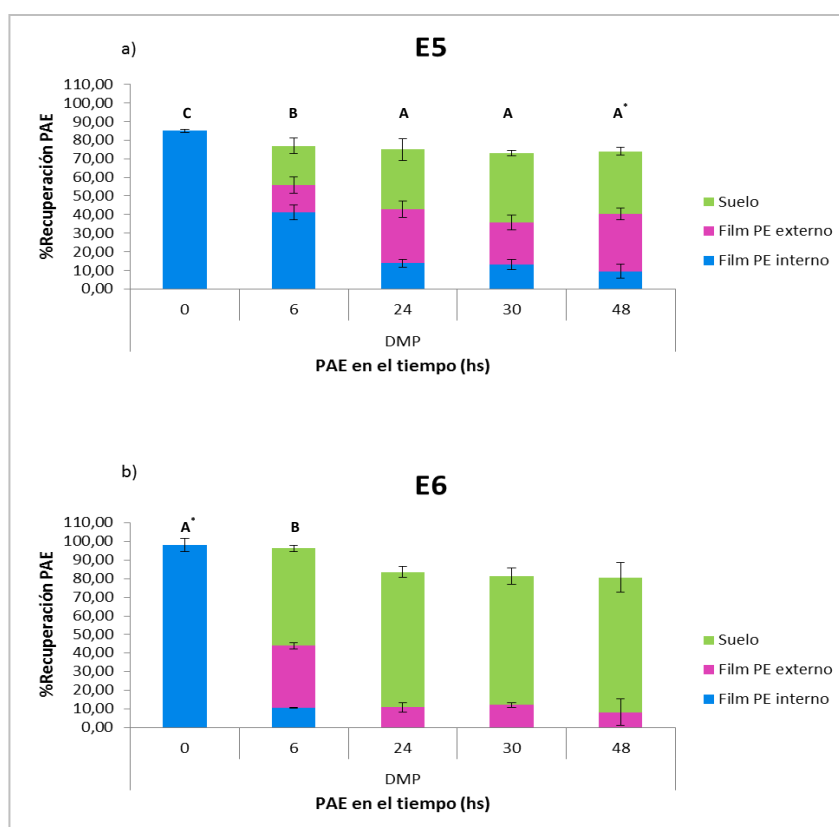


a) E1 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Sin solarizar-20°C); b) E2 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Sin solarizar-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-17. Migración del DMP en el tiempo para los tratamientos E1 y E2.

Tendencias similares se evidenciaron para el mulching negro de 25 μm de espesor solarizado durante 5 meses. Mientras que a 20 °C se encontró un 41,3 % $\pm$ 3,9 % de DMP en el film de PE interno, a 50°C hubo un 10,7 % $\pm$ 0,1 % (E5 y E6, Figura R-16). En E6 la migración hacia el suelo fue más rápida, hubo un cambio en el suelo de un 52,3 % $\pm$ 1,6 % a las 6 h a un 72,5 % $\pm$ 7,8 % a las 48 h, siendo constante a partir de las 24 h (E6, Figura R-18b). En E5 sólo se registraron recuperaciones en suelo entre 21,3 % $\pm$ 4,3 % a las 6 h y 33,7 % $\pm$ 2,4 % a las 48 h (E5, Figura R-18a). En cuanto al DMP colectado en el film de PE externo, en E5 a partir de las 24 h se mantuvo constante en 27,6 % $\pm$ 4,3 % mientras que a 50°C se registró una disminución de 33,4 % $\pm$ 1,6 % a un 8,2 % $\pm$ 7,3 % entre las 6 h y 48 h.

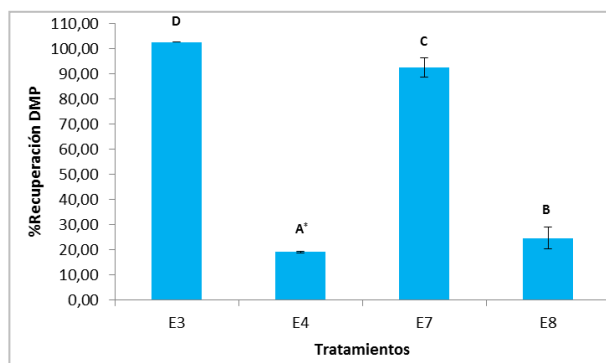


a) E5 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Solarizado 5 meses-20°C); b) E6 (Condiciones: Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-18. Migración del DMP en el tiempo para los tratamientos E5 y E6.

Cuando se consideró la película de PE de 100 μm como matriz plástica se verificó la misma tendencia que en la Figura R-16, la migración fue significativamente mayor ($p < 0,0167$) a 50°C que a 20°C (Figura R-19).

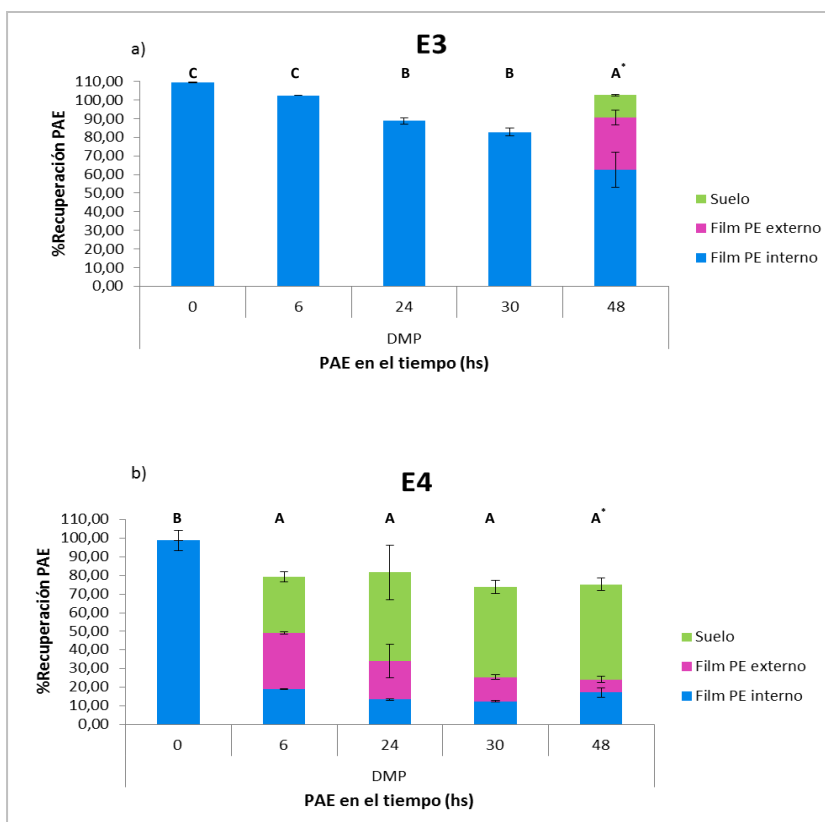


E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-20°C); E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-50°C); E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Solarizado 5 meses-20°C); E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Solarizado 5 meses-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0167$).

Figura R-19. % Recuperación de DMP en los films de PE EVA de 100 μm de espesor para $t=6$ h.

A 20°C (E3, Figura R-19) se encontró un 102,8 % $\pm$ 0,1 % de recuperación mientras que a 50°C (E4, Figura R-19) el valor fue de un 19,0 % $\pm$ 0,3 %. El fenómeno de migración fue más lento en E3 que en E4 (Figura R-20), pues en el primero, recién a las 48 h se encontraron un 28,1 % $\pm$ 4,0 % y un 12,1 % $\pm$ 0,5 % de DMP en el film de PE externo y en el suelo respectivamente, mientras que en E4 a partir de las 6 h hay DMP en ambas matrices. En cuanto a la recuperación en el film de PE externo en E4, ésta disminuye conforme avanza el tiempo.

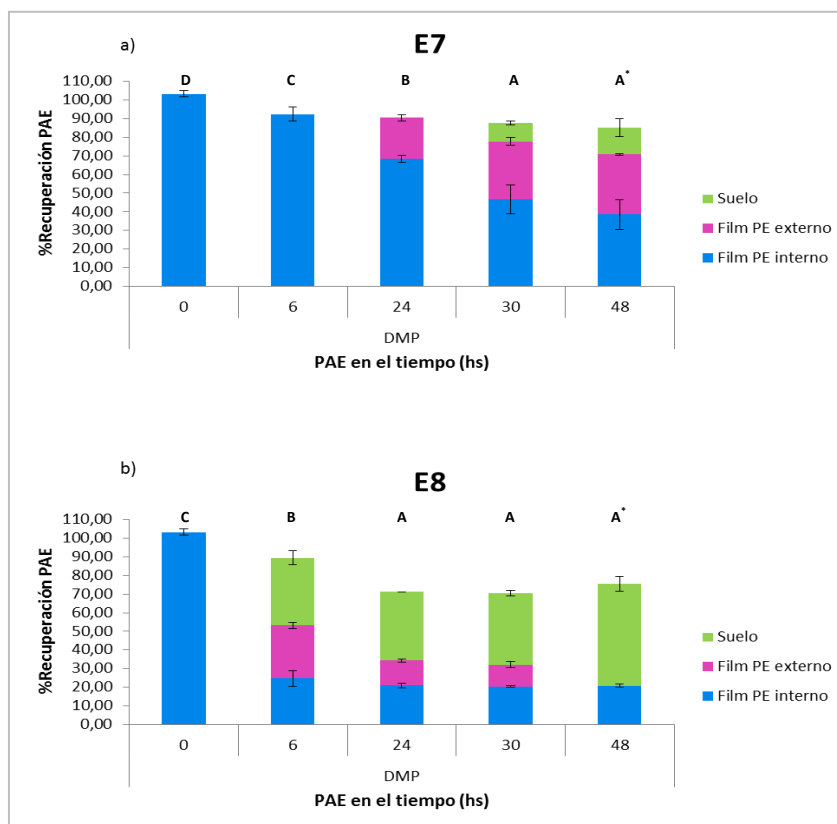


a) E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-20°C); b) E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-20. Migración del DMP en el tiempo para los tratamientos E3 y E4.

En el caso del film de PE aditivado con EVA, solarizado por 5 meses con un espesor de 100 μm (E8), a las 6 h del ensayo realizado a 50°C se encontró un $24,6\% \pm 4,4\%$ en el film interno, mientras que a 20°C (E7) se halló un $92,3\% \pm 3,8\%$ de DMP (E7 y E8, Figura R-19). En E8 a medida que avanzó el tiempo del ensayo disminuyó la recuperación de DMP en el film de PE externo de un $28,6\% \pm 1,7\%$ a las 6 h hasta casi cero a las 48 h. En simultáneo aumentó el DMP en suelo desde un $36,8\% \pm 0,1\%$ a las 6 h hasta un $54,7\% \pm 4,0\%$ a las 48 h del ensayo (E8, Figura R-21b). En E7 recién a las 30 h se encontró un $9,7\% \pm 1,1\%$ del ftalato en el suelo y a las 24 h un $22,1\% \pm 1,7\%$ en el film de PE externo (E7, Figura R-21a).



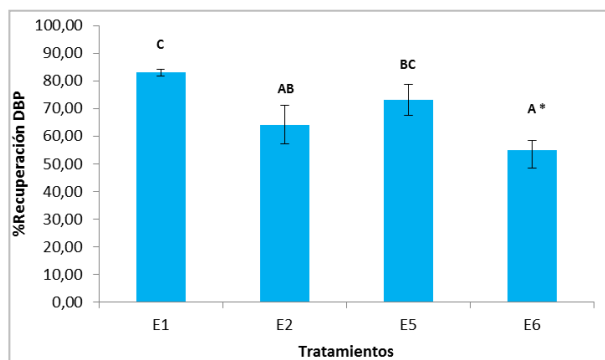
a) E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Solarizado 5 meses-20°C); b) E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-21. Migración del DMP en el tiempo para los tratamientos E7 y E8.

4.3.4.1.2. DBP

Para el caso de DBP se repite nuevamente la tendencia de que la velocidad de migración desde todos los tipos de film de PE internos estudiados, hacia el suelo, fue significativamente mayor ($p < 0,0025$) a 50°C que a 20°C. Específicamente, casi no se registró migración del DBP en los ensayos realizados a 20°C, salvo en E5 donde a las 6 h se encontró un 7,9 % $\pm$ 3,5 % en suelo. Se registraron diferencias significativas entre los ensayos hechos a 20°C y a 50°C para el mulching negro de 25 μ m de espesor a las 6 h (Figura R-22).

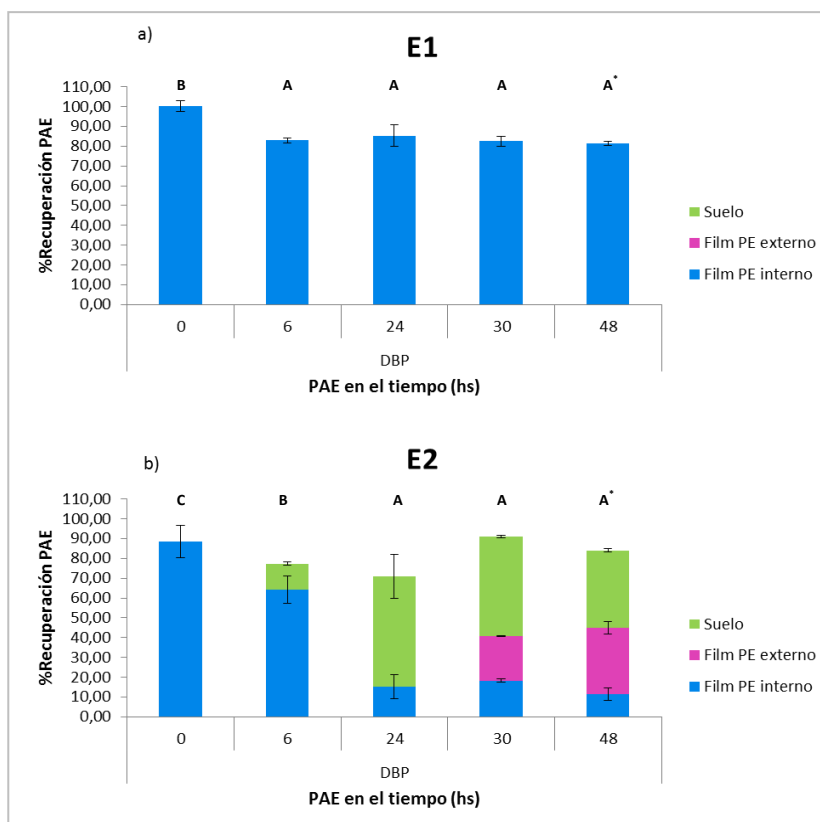


E1 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Sin solarizar-20°C); E2 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Sin solarizar-50°C); E5 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Solarizado 5 meses-20°C); E6 (Condiciones: Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0025$).

Figura R-22. % Recuperación de DBP en los films internos de mulching de 25 μm de espesor para $t=6$ h.

En particular, no se registró migración del DBP en todo el ensayo a 20°C (E1, Figura R-23a), mientras que en E2 (Figura R-23b) sí la hubo. A las 6 h se recuperó en mulching un 64,1 % $\pm$ 6,9 %, lo que implica que a mayor temperatura hay mayor migración del DBP. En E2 entre las 6 h y 24 h de ensayo disminuyó un 49,2 % la recuperación en el mulching negro, mientras que aumentó en suelo, encontrándose valores de 13,1 % $\pm$ 0,8 % a las 6 h y 55,6 % $\pm$ 11,1 % a las 24 h. Recién a partir de las 30 h se encontró DBP en el film de PE externo.

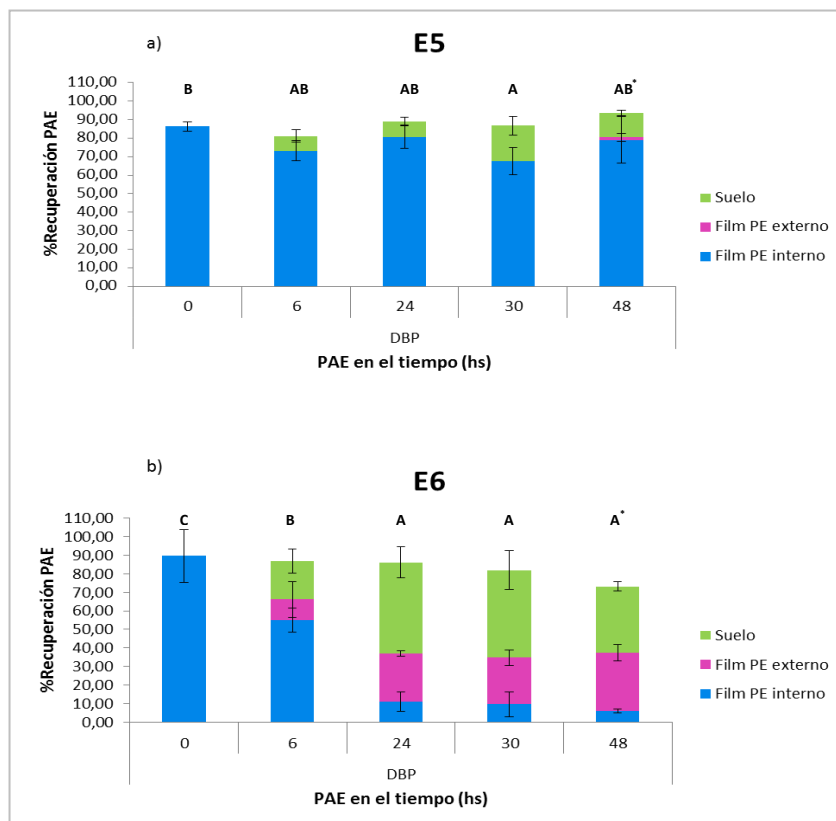


a) E1 (Condiciones: Mulching negro 25 μ m-Sin solarizar-20°C); b) E2 (Condiciones: Mulching negro 25 μ m-Sin solarizar-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-23. Migración del DBP en el tiempo para los tratamientos E1 y E2.

Una similar tendencia se encontró utilizando el mismo tipo de película plástica pero en este caso solarizada por 5 meses. Los porcentajes de recuperación fueron de 73,2 % $\pm$ 5,5 % a 20°C (E5, Figura R-22) y 55,1 % $\pm$ 6,6 % a 50°C (E6, Figura R-22). En E5 la migración del DBP fue muy poca, entre las 0 h y las 6 h disminuyó aproximadamente un 13,1 % la recuperación en el mulching pero aumentó en igual valor en el suelo, manteniéndose constante hasta el final del ensayo (E5, Figura R-24a). En el caso de E6 (Figura R-24b), a las 6 h se encontró el DBP en las tres matrices del microcosmos y se registró un aumento del mismo en el suelo de 20,7 % $\pm$ 6,4 % a 47,3 % $\pm$ 10,4 % a las 30 h. Entre las 24 h y 48 h, el DBP se mantuvo constante en el film de PE externo con un porcentaje de recuperación de 27,6 h $\pm$ 3,4 % (Figura R-24b).

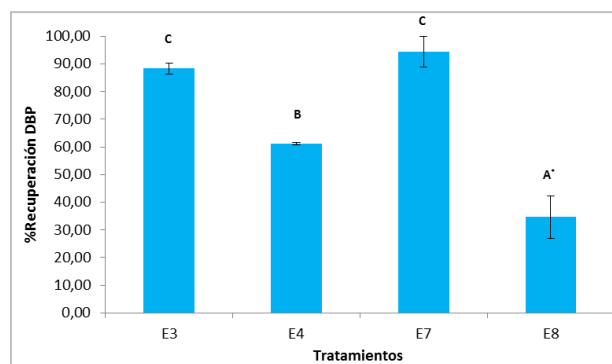


a) E5 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Solarizado 5 meses -20°C); b) E6 (Condiciones: Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-24. Migración del DBP en el tiempo para los tratamientos E5 y E6.

En el caso del film de PE aditivado con EVA de 100 μm de espesor, los % de recuperación del DBP en dicha película plástica a las dos temperaturas estudiadas fueron significativamente diferentes ($p < 0,0167$) a las 24 h (Figura R-25). A 20°C se encontró un 88,3 % $\pm$ 2,0 % de recuperación (E3, Figura R-25) mientras que a 50°C el valor fue de 61,3 % $\pm$ 0,4 % (E4, Figura R-25).

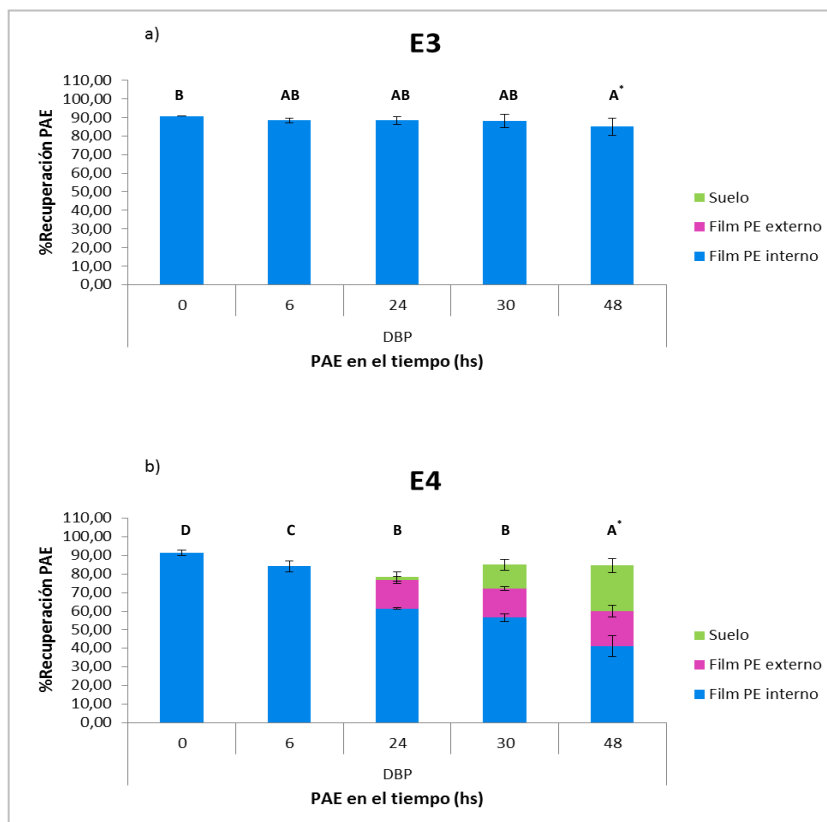


E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-20°C); E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-50°C); E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Solarizado 5 meses-20°C); E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Solarizado 5 meses-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0167$).

Figura R-25. % Recuperación de DBP en los films de PE EVA de 100 μm de espesor para $t=24$ h.

Mientras que en E3 no se registró migración del DBP (Figura R-26a), en E4 a partir de las 24 h aumentó el DBP en suelo de $1,8\% \pm 2,5\%$ a $24,6\% \pm 3,8\%$ a las 48 h. En el film de PE externo se mantuvo constante desde las 24 h hasta las 48 h (Figura R-26b).

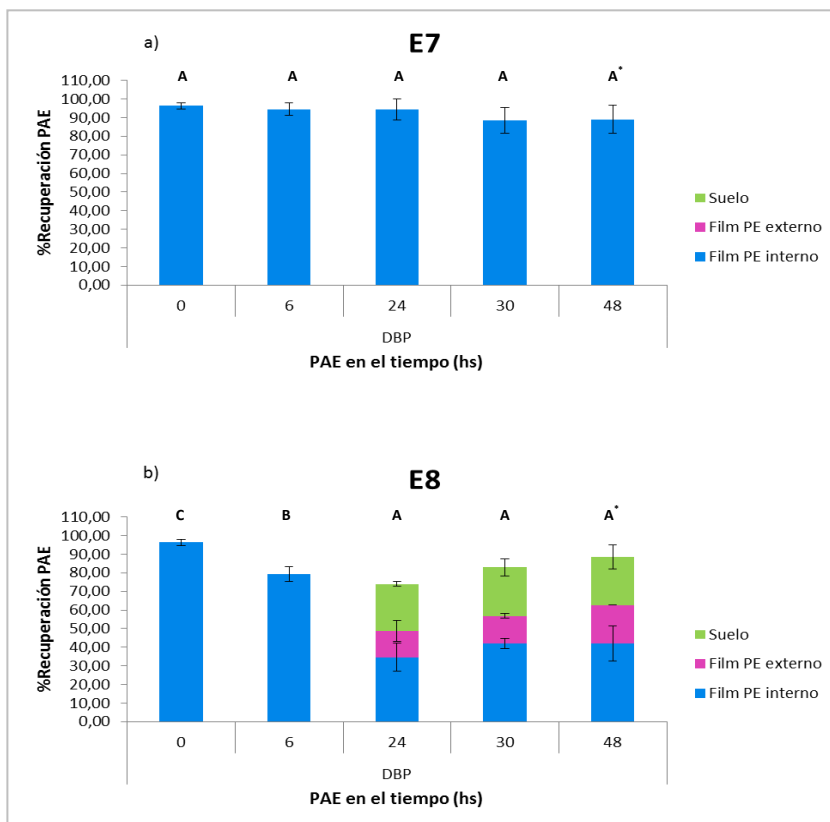


a) E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Sin solarizar-20°C); b) E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Sin solarizar-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-26. Migración del DBP en el tiempo para los tratamientos E3 y E4.

En el caso del film de PE aditivado con EVA, solarizado por 5 meses, de 100 μ m de espesor a las 24 h del ensayo realizado a 50°C se encontró un 34,6 % $\pm$ 1,2 % (E8, Figura R-25) en dicha matriz, mientras que a 20°C no hubo migración (E7, Figura R-27a). En E8, a partir de las 24 h el porcentaje de recuperación del DBP se mantuvo constante hasta el final del ensayo en cada matriz, siendo mayores los valores en el film de PE interno, seguido del suelo y luego el film de PE externo (E8, Figura R-27b).



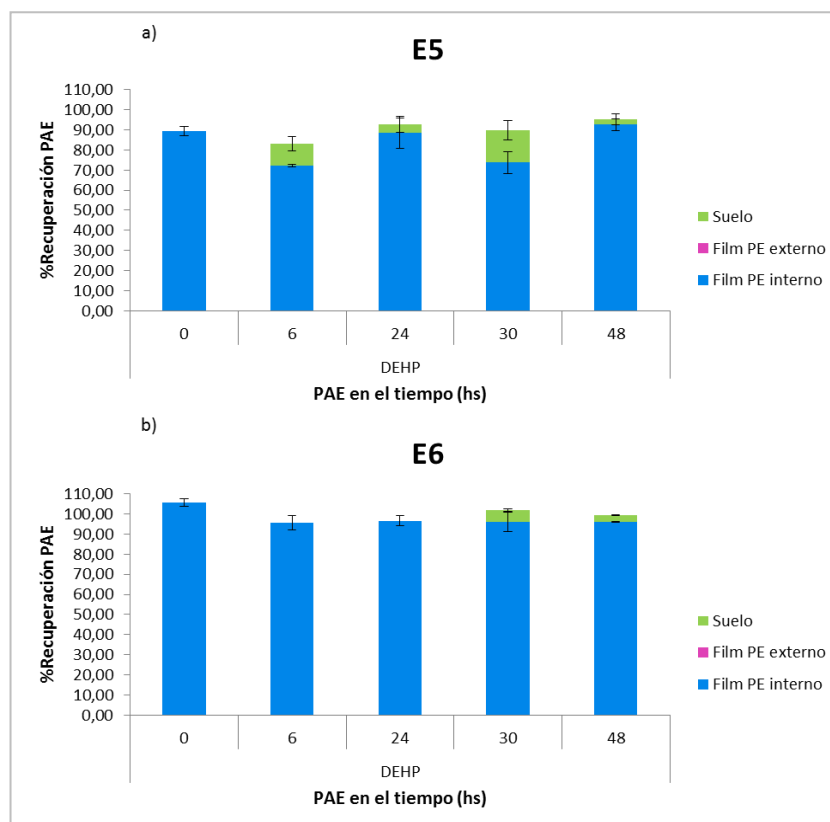
a) E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Solarizado 5 meses -20°C); b) E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 μ m-Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-27. Migración del DBP en el tiempo para los tratamientos E7 y E8.

4.3.4.1.3. DEHP

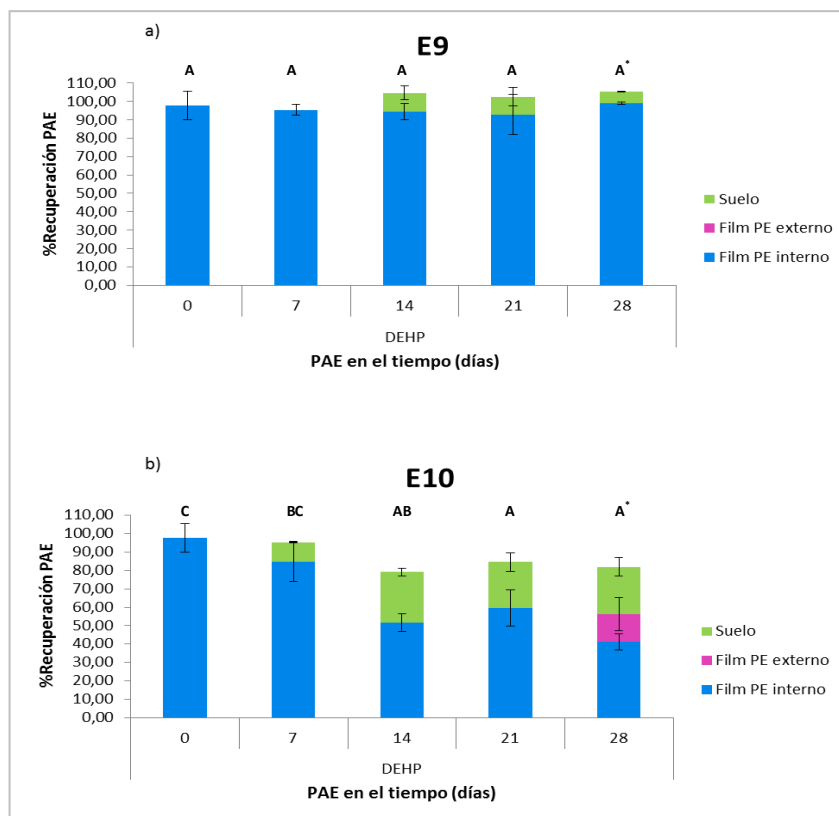
En los ensayos realizados a 48 h no hubo fenómenos de migración del DEHP (ver en la Sección 7.3.3 del Anexo las cinéticas de migración de los ensayos E1, E2, E3, E4, E7 y E8). Si bien en E5 y E6 (Figura R-28) algo se encontró en el suelo, no se detectó una clara tendencia.



a) E5 (Condiciones: Mulching negro 25 μm -Solarizado 5 meses-20°C), b) E6 (Condiciones: Mulching negro 25 μm - Solarizado 5 meses -50°C).

Figura R-28. Migración del DEHP en el tiempo para los tratamientos E5 y E6.

Por tal motivo, se decidió sólo repetir tales ensayos pero en un período de tiempo más extendido. A continuación se muestran los resultados obtenidos para E9 y E10, ambos realizados a un mes 28 días (Figura R-29).



a) E9 (Condiciones: Mulching 25 μ m-Solarizado 5 meses -20°C); b) E10 (Condiciones: Mulching 25 μ m-Solarizado 5 meses -50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los % de recuperación en el film de PE interno para cada tiempo de muestreo en un mismo ensayo ($p < 0,05$). Las barras representan la media $\pm$ desvío estándar.

Figura R-29. Migración del DEHP en el tiempo para los tratamientos E9 y E10.

A los 14 días de los ensayos hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de recuperación del DEHP en el film de PE interno. En E9 se recuperó un 94,4 % $\pm$ 3,2 % (Figura R-29a) y en E10 se encontró mucho menos DEHP (56,3 $\pm$ 3,4 %, Figura R-29b). Mientras que en E9 pareciera casi no haber migración, en E10 a partir de los 7 días se encuentra DEHP en suelo. La recuperación aumentó de un 10,7 % $\pm$ 0,4 % a los 7 días, hasta un 27,7 % $\pm$ 2,1 % a los 14 días y se mantuvo constante hasta los 28 días de ensayo (E10, Figura R-29b).

4.3.4.1.4. Tendencias sobre el efecto de la temperatura en la migración de los PAEs

En síntesis, los resultados indican que la migración de los tres ftalatos estudiados resultó mayor, tanto para los films internos de 25 μ m como de 100 μ m de espesor, cuando la temperatura

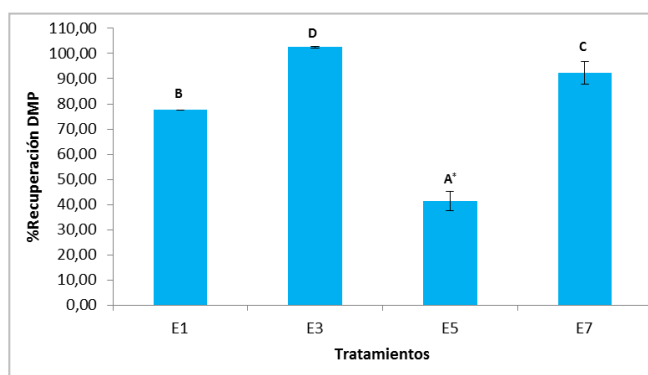
fue de 50°C. Esta tendencia resulta de especial interés puesto que en los meses de verano la temperatura superficial del mulching y del suelo aumentan notablemente, se han reportado valores de hasta 50 °C en mulching negro (Tarara, 2000) y hasta 45 °C en el suelo (Mbagwu, 1991).

4.3.4.2. Efecto del espesor y de la solarización de la película plástica en la migración

Para el análisis estadístico se separaron los resultados en dos grupos, por un lado los ensayos realizados a 50°C y por otro lado, todos los ensayos realizados a 20°C. Se compararon los % de recuperación promedio a las 6 h en el caso del DMP y a las 24 h en el caso del DBP (ver sección 7.4.4 del Anexo).

4.3.4.2.1. DMP

Como puede observarse en la Figura R-30, a 20°C hay diferencias significativas ($p < 0,025$) en el porcentaje de recuperación del DMP en el PE interno. Éste fue menor para los ensayos realizados con mulching negro de 25 µm de espesor y solarizado (E5, 41,3 % $\pm$ 3,9 %, Figura R-30), comparado con los ensayos con la misma película interna pero sin solarizar (E1, 77,1 % $\pm$ 0,2 %, Figura R-30). En los ensayos realizados con PE aditivado con EVA de 100 µm solarizado y sin solarizar los porcentajes de recuperación resultaron mayores que los ensayos equivalentes pero de menor espesor (102,8 % $\pm$ 0,1 % y 92,3 % $\pm$ 3,8 % respectivamente, E3, E7, Figura R-30).



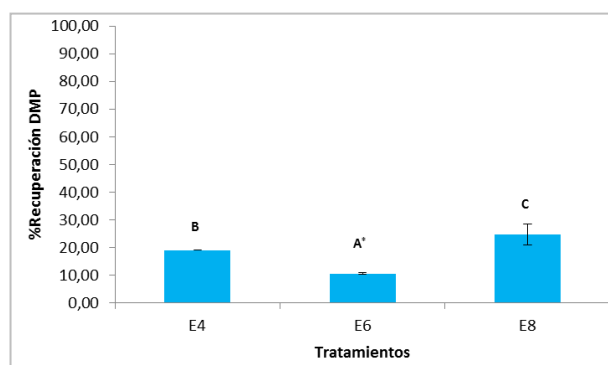
E1 (Condiciones: Mulching 25 µm -Sin solarizar-20°C); E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm -Sin solarizar-20°C); E5 (Condiciones: Mulching 25 µm-Solarizado 5 meses-20°C); E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm-Solarizado 5 meses-20°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,025$).

Figura R-30. % Recuperación de DMP en los films internos de PE EVA t=6 h a 20°C.

Si bien, las recuperaciones en E3 y en E7 difieren en el valor absoluto, en ninguno de los dos ensayos se registró migración a las 6 h, por lo que no se puede afirmar si el grado de solarización del PE aditivado con EVA de 100 μm influye en la migración del DMP. Los resultados a 20°C indican que hubo mayor migración para las películas plásticas solarizadas y de menor espesor.

En la Figura R-31 se puede observar que a 50°C hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de recuperación del DMP en el PE interno entre los distintos tratamientos realizados con películas de diferente espesor. Mientras que en E4 hay un 19,0 % $\pm$ 0,3 % en el ensayo equivalente pero con mulching de 25 μm (E2) no se encontró DMP. Si se comparan los tratamientos E6 y E8, la migración fue mayor para el primero (10,7 % $\pm$ 0,1 % y 25,5 % $\pm$ 4,4 % respectivamente, Figura R-31), indicando que cuanto más fina es la película interna mayor migración hay a 50°C.



E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Sin solarizar-50°C); E6 (Condiciones: Mulching 25 μm -Solarizado 5 meses-50°C); E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 μm -Solarizado 5 meses-50°C).

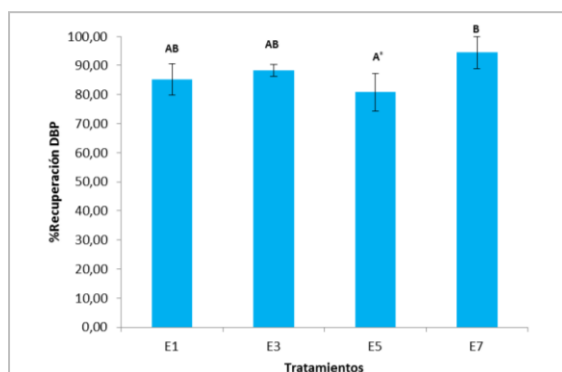
* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Figura R-31. % Recuperación de DMP en los films internos de PE EVA t=6 h a 50°C.

Para el DMP no se encontraron las mismas tendencias a 20°C y a 50°C cuando se analizó la influencia del grado de solarización de las películas plásticas en la migración. Tal vez esto pueda deberse a que el aumento de la temperatura del ensayo tenga un efecto más importante sobre la migración que la propia solarización. De esta forma, la solarización de la película plástica parecería ser un factor importante a temperaturas bajas pero su efecto disminuye a temperaturas altas.

4.3.4.2.2. DBP

En la Figura R-32 se puede observar que a 20°C no hubo migración del DBP ni en el tratamiento E1 ni en el tratamiento E3, por lo cual no se puede afirmar si el espesor es una variable crítica en esas condiciones. En cambio, cuando se utilizaron las mismas películas solarizadas, mientras que en E7 no hubo migración, si hubo una leve movilización del DBP hacia el suelo en el ensayo realizado con mulching negro de 25 µm de espesor solarizado (E5, Figura R-24a).



E1 (Condiciones: Mulching 25 µm -Sin solarizar -20°C); E3 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm -Sin solarizar -20°C); E5 (Condiciones: Mulching 25 µm -Solarizado 5 meses -20°C); E7 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm -Solarizado 5 meses -20°C).

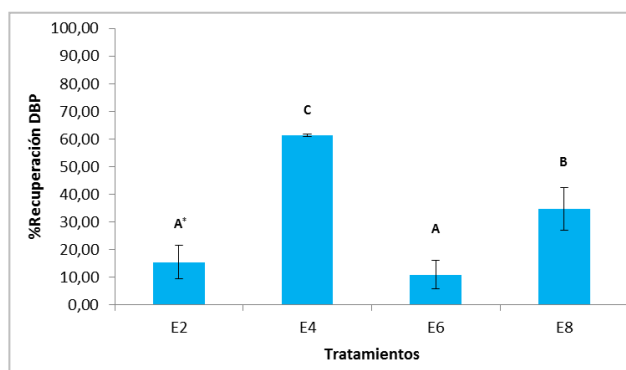
* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,025$).

Figura R-32. % Recuperación de DBP en los films internos de PE t=24 h a 20°C

El grado de solarización del mulching negro de 25 µm no influyó en el proceso de migración a 20°C si se comparan los tratamientos E1 y E5 (Figura R-32). Si bien no hay diferencias significativas entre los tratamientos, es interesante señalar que mientras que en E1 no hubo migración, en las condiciones E5 se encontraron valores entre las 24 h y 48 h de $8,2 \% \pm 2,2 \%$ y $13,1 \% \pm 1,5 \%$ (Figura R-24a).

En cuanto a los ensayos realizados a 50°C se encontraron diferencias significativas a las 24 h ($p < 0,05$) en la recuperación en películas internas con diferente espesor (Figura R-33). Específicamente, en todos los casos estudiados, la migración fue mayor para el film de PE de 25 µm tanto solarizado como sin solarizar, respecto del film de 100 µm en idénticas condiciones. Los valores fueron de $15,4 \% \pm 6,1 \%$ en E2, de $61,3 \% \pm 0,4 \%$ en E4, de $10,9 \% \pm 5,2 \%$ en E6 y $34,6 \% \pm 7,7 \%$ en E8 (Figura R-33).

A 50°C no hubo diferencias significativas a las 24 h, entre E2 y E6 (Figura R-33). Para el film de PE de 100 µm, a 20°C el espesor de la película no pareciera ser una variable crítica puesto que no hubo migración ni en el tratamiento E3 ni en E7. En cambio a 50°C, sí hubo diferencias significativas para el PE de 100 µm en cuanto al grado de solarización. Mientras que a las 24 h en E4 se recuperó un 61,3 % $\pm$ 0,4 %, en las condiciones de E8 el valor fue de 34,6 % $\pm$ 7,7 % (Figura R-33).



E2 (Condiciones: Mulching 25 µm-Sin solarizar-50°C); E4 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm -Sin solarizar-50°C); E6 (Condiciones: Mulching 25 µm-Solarizado 5 meses-50°C); E8 (Condiciones: Film PE EVA 100 µm-Solarizado 5 meses-50°C).

* Letras distintas implican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Figura R-33. % Recuperación de DBP en los films internos de PE t=24 h a 50°C.

4.3.4.2.3. DEHP

En los ensayos que se realizaron con una duración de 48 h no hubo migración del DEHP. Por lo que, en tales condiciones, el espesor y grado de solarización no serían variables críticas en el proceso de migración del DEHP. Sería conveniente a futuro, repetir los ensayos a tiempos más largos (por ejemplo un mes) para analizar posibles tendencias que ahora no se ven por los tiempos empleados.

4.3.4.3. Influencia del analito en el proceso de migración

Con el objetivo de estudiar la influencia de la estructura química de los PAEs sobre la migración desde las cubiertas plásticas se realizaron una serie de ensayos en las mismas condiciones para los tres PAEs diferentes: DMP, DBP y DEHP. Los resultados obtenidos indican que la migración desde el plástico depende fuertemente del tipo de ftalato estudiado. Mientras que el DMP migró

desde el film de PE interno hacia el suelo y el film de PE externo en casi todos los ensayos realizados a 20°C, el DBP y el DEHP o bien no lo hicieron o fue muy poca la tasa de migración (E1, Figuras R-17a y R-23a; E3, Figuras R-20a y R-26a; E5 Figuras R-18a, R-24a y R-28a; E7, Figuras R-21a y R-27a.). Si bien en E5 se encontró algo de DBP en suelo, este valor fue mucho menor que para el DMP.

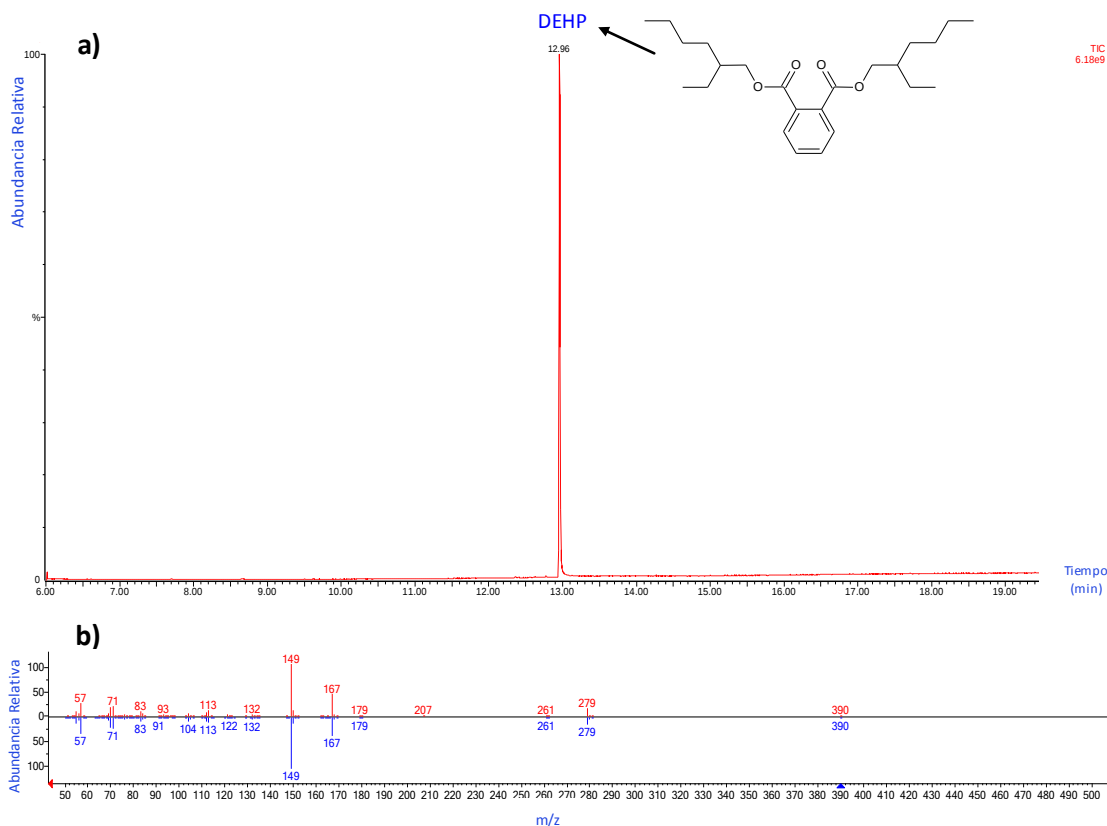
En los ensayos realizados a 50°C se evidencia la misma tendencia, por ejemplo en E2 (Figura R-17b) a las 6hs todo el DMP migró hacia el suelo y el film PE externo, mientras que sólo migró un $13,1 \% \pm 0,8 \%$ de DBP hacia el suelo en iguales condiciones (Figura R-23b). En E4 (Figura R-20b) y E8 (Figura R-21b) a las 6hs se encontró DMP en las tres matrices estudiadas y recién se registró migración del DBP a las 24 hs (Figuras R-26b y R-27b). Si bien en E6 a las 6 h hubo migración de DMP (Figura R-18b) y DBP (Figura R-24b), éste último lo hizo en menor proporción, pues los porcentajes de recuperación en suelo fueron de $52,3 \% \pm 1,6 \%$ y $20,7 \pm 6,4 \%$ respectivamente.

En el caso del DEHP, se logró movilizarlo a los 7 y a los 14 días de los ensayos realizados a 20°C y 50°C respectivamente, ambos de un mes de duración. Es interesante señalar que a mayor cadena carbonada del éster, la migración resultó ser más lenta. Esto puede explicarse teniendo en cuenta que el DMP es más volátil que el DBP y el DEHP, según la tendencia de sus respectivas presiones de vapor: $2,0 \times 10^{-3}$ mmHg, $2,7 \times 10^{-5}$ mmHg y $1,0 \times 10^{-7}$ mmHg a 25°C (Staples et al., 1997).

4.3.5. Estudio de la migración de DEHP en films de PVC

Con la intención de evaluar la potencial migración de un ftalato cuando ya está incorporado a la matriz plástica, se hizo un ensayo de microcosmos parecido a los descritos en la Sección 3.6.7.2 de Materiales y Métodos, pero utilizando como película interna un film de PVC de 100 μ m de espesor.

Se determinó por GC-MS que dicha película contiene DEHP. En la Figura R-34 se muestra el cromatograma TIC del extracto del film de PVC con el correspondiente espectro de masas para el tiempo de retención de 12,96 min del DEHP.

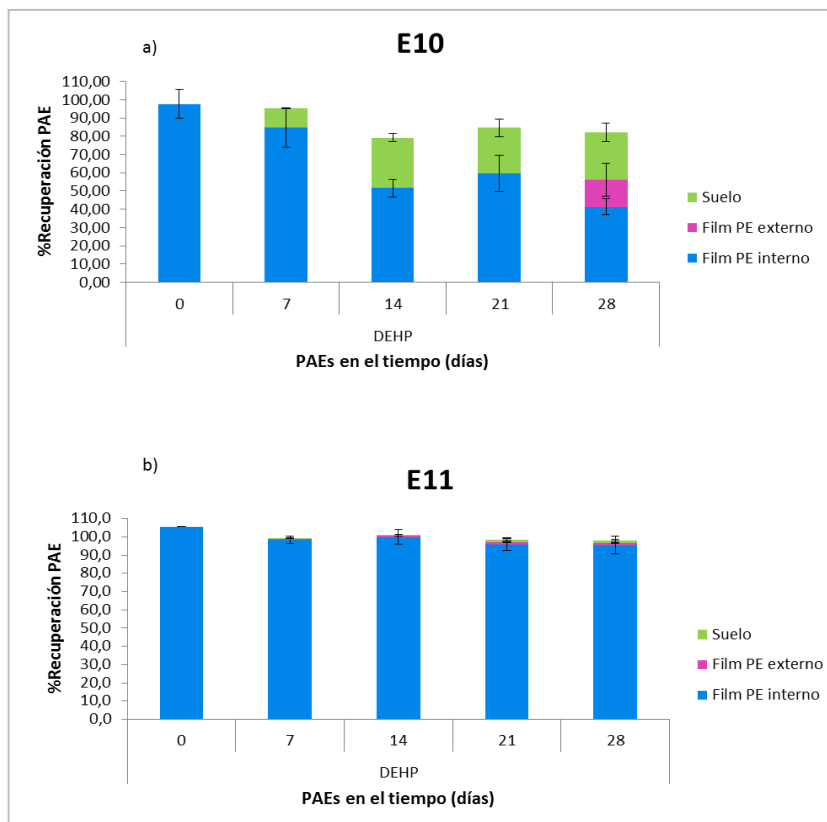


a) TIC; b) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=12,96$ min y en azul el espectro de masas del DEHP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.

Figura R-34. Resultados Cromatográficos para el análisis por GC-MS del film de PVC de 100 μm de espesor.

A diferencia del resto de los ensayos (E1-E10) en E11 la masa inicial de DEHP en el film interno es aproximadamente 225 veces mayor. Esto se debe a que no se sembró una cantidad determinada del ftalato, sino que el mismo está incorporado, de fábrica, a la matriz del film de PVC. No es menor mencionar que en todos los ensayos de migración se utilizaron las mismas dimensiones de las películas plásticas (ancho y largo).

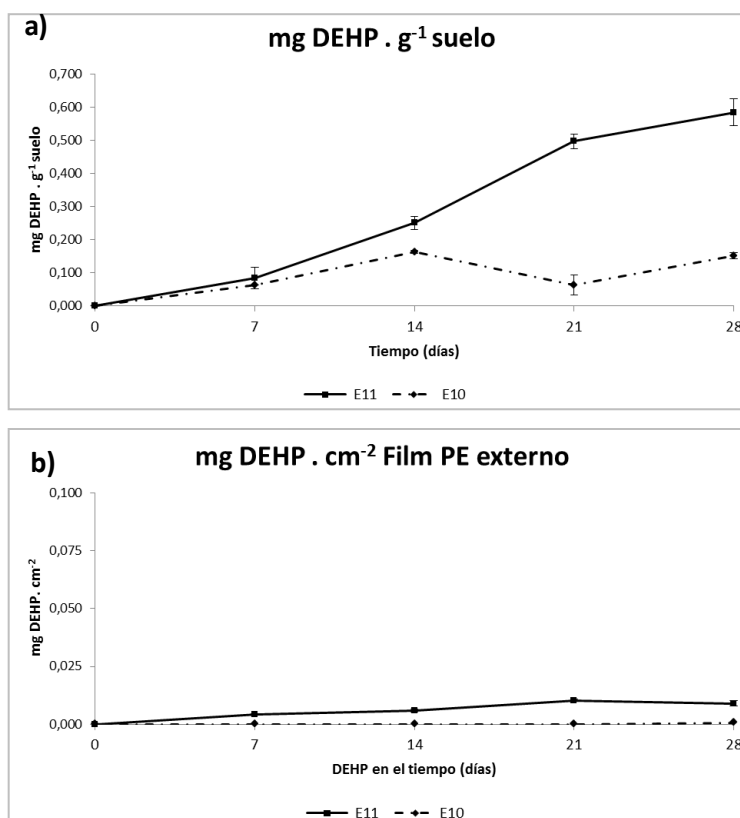
Los resultados parecieran indicar que en E11 no hubo migración (Figura R-35). Una posible explicación de este hecho podría atribuirse al espesor del film interno, pues mientras en E10 se utilizó mulching negro de 25 μm solarizado, en E11 se utilizó un film de PVC de 100 μm .



a) E10 (Condiciones: Mulching 25 μm -Solarizado 5 meses -50°C); b) E11 (Condiciones: Film PVC 100 μm -Sin solarizar -50°C).

Figura R-35. Migración del DEHP en el tiempo para los tratamientos E10 y E11.

Sin embargo si se comparan las masas relativas de DEHP en cada matriz (Figura R-36) se evidencia una mayor tasa de migración en E11 que en E10. Mientras que a los 28 días del ensayo realizado con film de PVC se encontraron $0,58 \pm 0,04 \text{ mg DEHP. g}^{-1}$ de suelo, la masa hallada en el suelo del ensayo E10 fue seis veces menor (Figura R-36a). Además, las masas de DEHP encontradas en el film de PE externo fueron aproximadamente un 10 % mayores en E11 que en E10 (Figura R-36b). Una posible explicación de estos resultados podría atribuirse a la cantidad inicial del DEHP en la película plástica, pues a mayor masa mayor migración en términos relativos.



a) mg DEHP. g⁻¹ de suelo. b) mg DEHP. cm⁻² de Film de PE externo. E10 (Condiciones: Mulching 25 µm-Solarizado 5 meses -50°C), E11 (Condiciones: Film PVC 100 µm-Sin solarizar -50°C). Los puntos representan la media ± desvío estándar.

Figura 36. Masa de DEHP encontrada en el suelo y film PE externo, a lo largo del tiempo, para los tratamientos E10 y E11.

4.3.6. Conclusiones Preliminares

Wang et al. (2016) estudiaron la influencia de los residuos plásticos hortícolas en la presencia de PAEs en los suelos. Para ello, pusieron en contacto diferentes masas de mulching negro y blanco con suelo a lo largo de 60 días. Las concentraciones iniciales de PAEs totales en el mulching negro y blanco fueron de 157,0 mg.kg⁻¹ y 233,0 mg.kg⁻¹, mientras que luego de 60 días de estar en contacto con el suelo, estos valores disminuyeron hasta 57,2 mg.kg⁻¹ y 79,7 mg.kg⁻¹ respectivamente. Específicamente, luego del período de ensayo, encontraron en orden decreciente de concentración en los plásticos, DnOP, DEHP, DBP, DEP, BBP y finalmente DMP. Estos autores encontraron concentraciones crecientes de PAEs en los suelos en contacto directo con las cubiertas plásticas, habiendo una correlación positiva entre la cantidad de PAEs totales en suelo y la masa de películas

plásticas utilizada. Estos resultados son consistentes con los mostrados en las secciones anteriores, en donde es claro que existe una migración de los ftalatos desde las películas plásticas hacia el suelo y además la misma no sólo está condicionada por factores como la temperatura, grado de solarización y espesor de la película plástica, sino que también por el tipo de PAE. Si bien en este trabajo de tesis no se estudió la influencia de la masa del plástico en la presencia de los ftalatos, las tendencias respecto a la variable tiempo encontradas en el trabajo de Wang et al. (2016) son similares. Fu y Du (2011) estudiaron la influencia de los distintos tipos de films, utilizados para la construcción de invernaderos, en la absorción de DEHP en las plantas. Sus resultados indicaron que a mayor espesor de la película plástica, menor altura del invernadero y cuanto más nuevo fuese el mismo, mayor era la concentración de DEHP que se encontró en las plantas. Si bien estos autores no detallan las condiciones de temperatura ni tiempos de muestreo, en cuanto al espesor de las películas plásticas sus resultados son contrarios a los obtenidos en este trabajo de tesis. Probablemente esto se deba a que utilizaron films de PVC cuyo contenido de DEHP aumenta conforme aumenta el espesor, por ende a mayor grosor, mayor concentración del ftalato en las plantas. La absorción de DEHP decrece cuando se cultiva en invernaderos más viejos, esto se debe a que a medida que pasa el tiempo el ftalato se desprende de las películas plásticas hacia el ambiente, por lo que el contenido de DEHP en el invernadero es mayor cuando éste es nuevo y luego va disminuyendo en el tiempo (Fu y Du, 2011). A futuro, se podrían realizar ensayos de migración usando películas plásticas solarizadas que ya contengan el ftalato incorporado a su matriz, como es en el caso de las cubiertas de PVC, para corroborar los resultados obtenidos por Fu y Du (2011). En cuanto a la masa inicial de ftalatos en las películas plásticas los resultados de Fu y Du (2011) correlacionan con las tendencias encontradas en E11 (Figura R-36). También, sería interesante realizar ensayos de migración variando la masa inicial de ftalatos sembrados en la superficie del PE. Con respecto a la variable temperatura, los resultados encontrados en este trabajo de tesis son coherentes con los publicados por Zhang et al. (2015). Estos autores estudiaron la contaminación de suelos con PAEs en distintas estaciones del año y determinaron mayor concentración de ftalatos en los suelos en el verano. Una posible explicación de este hecho la atribuyeron a que el aumento en la temperatura ambiente podría favorecer la transferencia de los PAEs desde el mulching hacia el suelo (Zhang et al., 2015).

Una cuestión que es importante señalar es que en condiciones ambientales, en forma simultánea a los fenómenos de migración se producen otros tipos de procesos como: la degradación química, fotoquímica y microbiológica de los PAEs, que complejizan la dinámica de estos

contaminantes. Estos aspectos no han sido abordados en esta investigación, habiéndose eliminado como variables de estudio en los distintos ensayos.

Otro aspecto relacionado con el impacto ambiental de la utilización de las cubiertas plásticas es el hecho de que pueden actuar como potenciales colectores de plaguicidas en el suelo (Ramos et al., 2015). Los resultados de este trabajo indican que para el caso de los PAEs las cubiertas plásticas no funcionarían como “colectores” (ya que los PAEs estarían en su matriz) sino como vectores de distribución ambiental. En consecuencia, resultaría de especial interés desarrollar medidas para reciclar las películas plásticas para evitar la acumulación de los contaminantes emergentes en el suelo (Wang et al., 2016).

CONCLUSIONES GENERALES Y PROYECCIONES A FUTURO

5. CONCLUSIONES GENERALES Y PROYECCIONES A FUTURO

5.1. La influencia del formulado en la EMP

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis doctoral confirman la hipótesis inicial de que el tipo de formulación del plaguicida es una variable crítica en el proceso de exposición de las manos en la etapa de preparación de los caldos. Específicamente se demostró que la EMP fue mayor cuando se manipularon formulaciones líquidas que cuando se usaron formulaciones sólidas. En el primer caso, la ruptura del sello de aluminio y el color parecieran ser factores claves en la contaminación. Si se comparan los resultados obtenidos para los sólidos, se evidenció mayor EMP cuando se usaron polvos que cuando se manipularon formulaciones tipo granuladas.

Estos resultados dan cuenta de la necesidad de seguir realizando análisis cuantitativos que sirvan para evaluar estrategias para modular el riesgo de exposición de los trabajadores a los plaguicidas. Si bien las formulaciones se optimizan para obtener el mejor comportamiento físico-químico cuando se aplican, la exposición manual potencial de la persona que prepara los caldos de aplicación debe ser un factor a tenerse en cuenta al momento de diseñar y aprobar un envase comercial. En particular, tal como se demostró en esta investigación, sería conveniente el desarrollo de formulaciones granuladas para todos los plaguicidas. En caso de no ser posible, sería recomendable incorporar a las formulaciones líquidas un trazador coloreado inocuo y lavable, para alertar al operador en el momento de la preparación. Una opción para reducir la EMP al romper los sellos de aluminio, sería el diseño de una tapa a rosca que permita cortar el sello de manera segura sin utilizar otro tipo de dispositivo adicional (como cucharas, navajas, etc.) que agregue un factor más de contaminación.

No es menor mencionar la importancia de la capacitación continua, a los productores y sus empleados, sobre los riesgos y cuidados básicos que hay que tener cuando se manipulan los plaguicidas. Sería interesante, para complementar los resultados de esta investigación, poder realizar a futuro ensayos toxicológicos donde se evalúe la influencia del tipo de formulación en la absorción dérmica de los principios activos. Para ello, se podrían realizar ensayos de EMP parecidos a los realizados en este trabajo de tesis pero usando formulaciones sólidas (granulado /polvo) y líquidas, de distintas viscosidades, pero con igual concentración de un principio activo real. Además sería conveniente estudiar la absorción dérmica de los principios activos cuando se utilizan mezclas de plaguicidas con coadyudantes.

5.2. EDP e indicadores de riesgo para aplicaciones con pulverizadoras

Se midió el impacto de la aplicación mecanizada de clorpirifós, oxidloruro de cobre y miclobutanil en un pequeño huerto de durazneros, en humanos (trabajadores, espectadores y residentes) y en el suelo productivo. La exposición dérmica potencial (EDP) de los trabajadores (conductores de tractores) fue de $30,8 \text{ mL.h}^{-1} \pm 6,7 \text{ mL.h}^{-1}$, sin distribución específica de plaguicidas en el cuerpo de los trabajadores. Sin embargo, en los ensayos realizados se demostró que las instancias de mezcla y carga de los tres plaguicidas fueron más riesgosas que la etapa de aplicación. Es decir, las manos son las más afectadas en el proceso global de preparación y aplicación de los plaguicidas. Probablemente esto se deba al contacto directo con las formulaciones que de por sí son mucho más concentradas en los principios activos que los caldos de aplicación. Estos resultados enfatizan la importancia de estudiar la influencia del tipo de formulación comercial del plaguicida en la exposición manual potencial, tal como se discutió en la Sección 4. 1.

Todas las aplicaciones con clorpirifós resultaron inseguras ($\text{MOS} < 1$), mientras que para los restantes plaguicidas fueron seguras ($\text{MOS} > 1$). El plaguicida encontrado en el suelo de la parcela rociada varió entre el 5,5 % y el 14,8 % del clorpirifós, el oxidloruro de cobre y el miclobutanil total aplicados. La deriva se midió experimentalmente, encontrando valores en el rango de 2,4 % a 11,2 % del total de plaguicidas aplicados. Utilizando estos valores de deriva, se calcularon los RIs para residentes (para 20 aplicaciones) para el clorpirifós más el oxidloruro de cobre y para los tratamientos de miclobutanil a diferentes distancias del borde del cultivo. Mientras que para las aplicaciones de miclobutanil los RIs dieron por debajo de 1 (condición segura), para el clorpirifós y el oxidloruro de cobre se determinó que se necesitan al menos 48m de distancia desde el borde de la parcela rociada para estar en condiciones seguras.

Los resultados de esta investigación podrían complementarse realizando ensayos en los que se estudie el efecto de las boquillas y el tipo de formulación del plaguicida, en la deriva. Estos estudios son necesarios para poder desarrollar más modelos de predicción sobre el riesgo ecotoxicológico que las aplicaciones de plaguicidas implican. En este sentido, sería interesante generar bases de datos de los RIs para distintos organismos vivos (terrestres y acuáticos), plaguicidas y condiciones de aplicación. Tal como afirman Cunha et al. (2012), si esa información estuviese disponible para los productores, sería una estrategia clave para una correcta elección del tipo de plaguicida y aplicación con el objetivo final de disminuir el impacto de los plaguicidas sobre el ambiente.

En síntesis el estudio general de los riesgos para la salud ocupacional asociados a la manipulación de los plaguicidas (Sumon et al., 2016), la determinación de los factores que afectan la exposición del trabajador, el análisis de las mejores condiciones de trabajo que maximizan la seguridad de los operadores (Tsakiris et al., 2014) y el desarrollo de modelos de exposición para residentes (van der Berg et al., 2016) son cuestiones importantes en la agenda a tratar sobre el impacto de los plaguicidas.

5.3. Las cubiertas plásticas y los ésteres ftálicos

Se encontraron PAEs en algunas de las cubiertas plásticas muestreadas en huertas de la zona de Moreno. En particular, se hallaron DBP, DIBP, DEHA y DEHP, siendo éste último el más abundante. Si bien las películas plásticas son presumiblemente de PE, el hecho de haber encontrado PAEs, quizás sea un indicio de que se trate de plásticos reciclados con PVC.

Con respecto al estudio de las variables que influyen en la migración de los PAEs desde las cubiertas plásticas hacia el ambiente, los resultados de esta investigación indicaron una mayor tasa de migración en los ensayos realizados a 50°C con films de PE de menor espesor. También se determinó que la estructura química del PAE modula el proceso de migración, puesto que en iguales condiciones la migración fue más rápida para el DMP, luego para el DBP y finalmente para el DEHP. En los ensayos de migración realizados con film de PVC, se evidenció que la concentración inicial de PAEs en la película plástica también es una variable importante.

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis doctoral, sumados al hecho de la creciente incorporación de residuos plásticos al suelo, son una alerta para concientizar sobre la necesidad de pensar en estrategias de reciclado de dichas películas plásticas. El problema reside en que las mismas podrían funcionar como vectores de distribución de estos aditivos hacia el ambiente. Para complementar estos resultados sería conveniente relevar más información sobre la naturaleza química de las películas plásticas destinadas a la horticultura. Para ello, habría que realizar más muestreos de los plásticos que se venden y comercializan para horticultura en nuestro país.

En cuanto a los ensayos de migración sería útil estudiar las tendencias con otros ftalatos y aditivos que potencialmente podrían estar en las matrices plásticas. Sería conveniente hacer los ensayos para DEHP para períodos de exposición más largos, como ser 3 meses. Si bien la solarización de las películas plásticas no fue un factor relevante en el proceso de migración, se podrían ampliar estos resultados solarizando plásticos que ya tengan incorporado en su matriz a los PAEs. Además se

abriría un nuevo campo al estudiar los procesos de fotodegradación y degradación microbiana de los ésteres ftálicos en cubiertas plásticas agrícolas. Finalmente es posible realizar ensayos de toxicidad en organismos bioindicadores para evaluar los efectos ecotoxicológicos de los PAEs y sus productos de degradación sobre el suelo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

- Abdi, H. (2010). Holm's Sequential Bonferroni Procedure. En Salkind, N. (Ed.), *Encyclopedia of Research Design* (pp. 1-8). Thousand Oaks, CA: Sage.
- Albertsson, A. C. (1980). The shape of the biodegradation curve for low and high density polyethenes in prolonged series of experiments. *European Polymer Journal*, 16(7), 623–630. [https://doi.org/10.1016/0014-3057\(80\)90100-7](https://doi.org/10.1016/0014-3057(80)90100-7)
- Aparicio, V., De Gerónimo, E., Hernández Guijarro, K., Pérez, D., Portocarrero, R. y Vidal, C. (2015). Los plaguicidas pgregados al suelo y su destino en el ambiente. INTA Ediciones (1a Edición).
- Aragón, A. (2005). *Dermal exposure to pesticides in Nicaragua: A quantitative and qualitative approach*. Stockholm, Sweden: Karolinska University Press.
- ArgenBio, ASA, CASAFE. (2013). *Manual para Periodistas: biotecnología, semillas y productos fitosanitarios*. Recuperado de: <http://www.casafe.org/pdf/2015/DOCUMENTOS/Manual-para-periodistas-web.pdf>
- Arkatkar, A., Arutchelvi, J., Bhaduri, S., Uppara, P. V. y Doble, M. (2009). Degradation of unpretreated and thermally pretreated polypropylene by soil consortia. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(1), 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.06.005>
- Ashton, K., Holmes, L. y Turner, A. (2010). Association of metals with plastic production pellets in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 60(11), 2050–2055. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.014>
- Atabila, A., Phung, D. T., Hogarh, J. N., Osei-Fosu, P., Sadler, R., Connell, D. y Chu, C. (2017). Dermal exposure of applicators to chlorpyrifos on rice farms in Ghana. *Chemosphere*, 178, 350–358. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.062>
- Audic, J. L., Reyx, D. y Brosse, J. C. (2003). Migration of additives from food grade polyvinyl chloride (PVC) films: Effect of plasticization by polymeric modifiers instead of conventional plasticizers. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(5), 1291–1299. <https://doi.org/10.1002/app.12240>
- Aust, G., Wilkinson, S., Dunn, M., Glass, R. y Williams, F. (2007). Influence of formulation on the dermal absorption of pesticide actives at spray dilution concentrations. *Toxicology*, 231(2–3), 111–112. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.11.036>

B

- Badii, M. H. y Varela, S. (2008). Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente. *Culcyt /Toxicología de Insecticidas*, (28), 5–17.
- Balafas, D., Shaw, K. y Whitfield, F. (1999). Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chemistry*, 65(3), 279–287. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00240-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00240-4)
- Baldi, I., Lebailly, P., Jean, S., Rougetet, L., Dulaurent, S. y Marquet, P. (2006). Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 16(2), 115–124. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500443>
- Barbado, J.L y Sato, E. A. (2008). Manual para el Operador de depósitos de Productos Fitosanitarios. (1º Ed.). Buenos Aires, Argentina: CASAFE.

- Baskaran, S., Kookana, R., y Naidu, R. (1999). Degradation of bifenthrin, chlorpyrifos and imidacloprid in soil and bedding materials at termiticidal application rates. *Pesticide Science*, 55, 1222-1228.
- Bedmar, F. (2011). ¿Qué son los plaguicidas?. *Revista Ciencia Hoy*, 21(122), 11-16.
- Belcher, S.E., Jerram, N., y Hunt, J.C.R. (2003). Adjustment of a turbulent boundary layer to a canopy of roughness elements. *The Journal of Fluid Mechanics*, 488, 369-398.
- Berenstein, G., Nasello, S., Beiguel, E., Flores, P., Di Schiena, J., Basack, S., Hughes, E.A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2017). Human and soil exposure during mechanical chlorpyrifos, myclobutanil and copper oxychloride application in a peach orchard in Argentina. *Science of the Total Environment*, 586, 1254–1262. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.129>
- Berger, S., Kim, Y., Kettering, J. y Gebauer, G. (2013). Plastic mulching in agriculture—friend or foe of NO₂ emissions?. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 167, 43–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2013.01.010>.
- Bläsing, M. y Amelung, W. (2018). Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of the Total Environment*, 612, 422–435. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.086>
- Brodhagen, M., Peyron, M., Miles, C. y Inglis, D. A. (2014). Biodegradable plastic agricultural mulches and key features of microbial degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1039–1056. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6267-5>
- Bueno, M. R., da Cunha, J. P. A. R. y de Santana, D. G. (2016). Assessment of spray drift from pesticide applications in soybean crops. *Biosystems Engineering*, 154, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.10.017>

C

- Cabrini, S. M. y Calcaterra, C. P. (2016). Modeling economic-environmental decision making for agricultural land use in Argentinean Pampas. *Agricultural Systems*, 143, 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2015.12.016>
- Cai, Q. Y., Mo, C. H., Wu, Q. T., Katsoyiannis, A. y Zeng, Q. Y. (2008). The status of soil contamination by semivolatile organic chemicals (SVOCs) in China: A review. *Science of the Total Environment*, 389(2–3), 209–224. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.026>
- Capello, V. y Fortunato, N. (2013). *Plaguicidas en el territorio bonaerense información toxicológica, ecotoxicológica y comportamiento ambiental*. Buenos Aires, Argentina: Organismo Provincial para el desarrollo sostenible.
- Capri, E., Alberici, R., Glass, C. R., Minuto, G. y Trevisan, M. (1999). Potential operator exposure to procymidone in greenhouses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4443–4449. <https://doi.org/10.1021/jf990175w>
- Cao, L., Chen, B., Zheng, L., Wang, D., Liu, F. y Huang, Q. (2015). Assessment of potential dermal and inhalation exposure of workers to the insecticide imidacloprid using whole-body dosimetry in China. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 27(C), 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.07.018>
- Cartwright, C. D., Thompson, I. P. y Burns, R. G. (2000). Degradation and impact of phthalate plasticizers on soil microbial communities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(5), 1253–1261. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190506>
- CASAFE. (2007). Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. Tomos I y II. Décimotercera edición- Versión Digital ISBN: 978-987-21871-3-2. Inscripción CESSI. Buenos Aires, Argentina: CASAFE.

- Caseley, J.C. (1994). Chapter 10: Herbicides. En R. Labrada, J.C. Caseley, y C. Parker. *Weed Management for Developing Countries* (181-221). Rome, Italy: FAO.
- CE. (2009). Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo para un Uso Sostenible de Plaguicidas (128/2009/CE). Diario Oficial de la Unión Europea. Recuperado de: http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/Directiva_2009_128_CE_MARCO_ACTUACION_PLAGUICIDAS_tcm7-282499.pdf.
- Chalker-Scott. (2007). Impact of Mulches on Landscape Plants and the Environment-A Review. *Journal of Environmental Horticulture*, 25(4), 239–249.
- Chambers, J., Levi, P. y Churchill, S. (1992). *Organophosphates: chemistry, fate, and effects*. Academic Press San Diego.
- Chen, Y.S., Luo, Y.M., Zhang, H.B. y Song, J. (2011). Preliminary study on PAEs pollution of greenhouse soil. *Acta Pedologica Sinica*, 48, 516-522.
- Chen, Y., Wu, C., Zhang, H., Lin, Q., Hong, Y. y Luo, Y. (2013). Empirical estimation of pollution load and contamination levels of phthalate esters in agricultural soils from plastic film mulching in China. *Environmental Earth Sciences*, 70(1), 239–247. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-2119-8>
- Chou, K. y Wright, R. O. (2006). Phthalates in food and medical devices. *Journal of Medical Toxicology*, 2(3), 126–135. <https://doi.org/10.1007/BF03161027>
- Cid, R. (2014). *Aplicación eficiente de productos fitosanitarios*. INTA Ediciones. Recuperado de: <https://inta.gob.ar/documentos/aplicacion-eficiente-de-fitosanitarios-plaguicidas-quimicos-composicion-y-formulaciones-etiquetado-clasificacion-toxicologica-residuos-y-metodos-de-aplicacion>. (Fecha de acceso: 9/ 05/17).
- Clarke, S. (1996). Recycling Farm Plastic Films (Original Factsheet). Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ontario, Canada.
- Colombani, J., Herbette, G., Rossi, C., Jousset-Dubien, C., Labed, V. y Gilardi, T. (2009). Leaching of plasticized PVC: effect of irradiation. *J. Appl. Polym. Sci.*, 112, 1372–1377
- Cox, C. y Surgen, M. (2006). Unidentified inert ingredients in pesticides: Implications for human and environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 114(12), 1803–1806.
- <https://doi.org/10.1289/ehp.9374>
- Cunha, J. P., Chueca, P., Garcerá, C. y Moltó, E. (2012). Risk assessment of pesticide spray drift from citrus applications with air-blast sprayers in Spain. *Crop Protection*, 42, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.06.001>

D

- Da Silva, A., Sinfort, C., Tinetti, C., Pierrot, D. y Huberson, S. (2006). A lagrangian model for spray behaviour within vine canopies. *Aerosol Science*, 37(5), 658 – 674. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2005.05.016>.
- Damalas, C. A. y Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>

- Damalas, C. A. y Abdollahzadeh, G. (2016). Farmers use of personal protective equipment during handling of plant protection products: Determinants of implementation. *Science of the Total Environment*, 571, 730–736. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.042>
- de Jong, F. M. W., de Snoo, G. R. y van de Zande, J. C. (2008). Estimated nationwide effects of pesticide spray drift on terrestrial habitats in the Netherlands. *Journal of Environmental Management*, 86(4), 721–730. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.12.031>
- De Schampheleire, M., Nuyttens, D., Baetens, K., Cornelis, W., Gabriels, D. y Spanoghe, P. (2009). Effects on pesticide spray drift of the physicochemical properties of the spray liquid. *Precision Agriculture*, 10(5), 409–420. <https://doi.org/10.1007/s11119-008-9089-6>.
- Derksen, R.C., Zhu, H., Fox, R.D., Brazee, R.D. y Krause, C.R. (2007). Coverage and drift produced by air induction and conventional hydraulic nozzles used for orchard applications. *Transactions of the ASABE*, 50(5), 1493–1501.
- Díaz-Pérez, J. C. (2010). Bell pepper (*Capsicum annum* L.) grown on plastic film mulches: Effects on crop microenvironment, physiological attributes, and fruit yield. *HortScience*, 45(8), 1196–1204.
- Dirección Provincial de Estadística. (2005). Censo Hortícola Florícola de la provincia de Buenos Aires 2005. Ministerio de Economía. Buenos Aires La Provincia. Recuperado de: <http://www.estadistica.ec.gba.gov.ar/dpe/Estadistica/chfba/censohort.htm> (Fecha de acceso: 17/6/17).
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C. W. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Duis, K. y Coors, A. (2016). Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

E

- European Food Safety Authority.(2010). EFSA. 8, 1682–1765.
- European Food Safety Authority. (2014). EFSA. 12, 3640–3674.
- Endalew, A.M., Debaer, C., Rutten, N., Vercammen, J., Delele, M.A., Ramon, H., Nicolai, B.M. y Verboven, P. (2010). A new integrated CFD modelling approach towards air-assisted orchard spraying. Part I. Model development and effect of wind speed and direction on sprayer airflow. *Computers and Electronics in Agriculture*, 71(2), 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2009.11.007>.
- Erkekoglu, P. y Kocer-Gumusel, B. (2014). Genotoxicity of phthalates. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 24(9), 616–626. <https://doi.org/10.3109/15376516.2014.960987>
- Espí, E., Salmerón, A., Fontecha, A., García, Y. y Real, A. I. (2006). Plastic Films for Agricultural Applications. *Journal of Plastic Film y Sheeting*, 22(2), 85–102. <https://doi.org/10.1177/8756087906064220>

F

- Fan, Y., Ding, R., Kang, S., Hao, X., Du, T., Tong, L. y Li, S. (2016). Plastic mulch decreases available energy and evapotranspiration and improves yield and water use efficiency in an irrigated maize cropland. *Agricultural Water Management*, 179, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.08.019>

- FAO. (2006). *Código Internacional de Conducta para la distribución y utilización de Plaguicidas*. Versión Revisada. Roma, Italia: FAO.
- Farooq, M. y Salyani, M. (2004). Modeling of spray penetration and deposition on citrus tree canopies. *Transactions of the ASABE*, 47 (5), 619-627.
- Fasano, E., Bono-Blay, F., Cirillo, T., Montuori, P. y Lacorte, S. (2012). Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging. *Food Control*, 27(1), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.005>
- Fenske, R. A. (1993). Dermal Exposure Assessment Technique. *Ann. Occup. Hyg.*, 37(6), 687 - 706.
- Fernícola, N. A. G. (1985). Toxicología De Los Insecticidas Organoclorados. *Bol OfSanit Panam*, 98(l), 10–19.
- Flores, A. P. (2013). *Determinación de la exposición a plaguicidas de los productores hortícolas y florícolas*. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de General Sarmiento. Buenos Aires, Argentina.
- Flores, A. P., Berenstein, G. A., Hughes, E. A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2011). Pesticide risk assessment in flower greenhouses in Argentina: The importance of manipulating concentrated products. *Journal of Hazardous Materials*, 189(1–2), 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.02.028>
- Frias, J. P. G. L., Sobral, P. y Ferreira, A. M. (2010). Organic pollutants in microplastics from two beaches of the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 60(11), 1988–1992. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.030>
- Fu, X. y Du, Q. (2011). Uptake of di-(2-ethylhexyl) phthalate of vegetables from plastic film greenhouses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(21), 11585–11588. <https://doi.org/10.1021/jf203502e>

G

- Ganzelmeier, H., Rautmann, D., Spangenberg, R., Streloke, M., Herrmann, M. y Wenzelburger, H.J. (1995). *Studies on the Spray Drift of Plant Protection Products*. Blackwell Wissenschafts, Verlag GmbH, Berlin.
- Gao, B., Tao, C., Ye, J., Ning, J., Mei, X., Jiang, Z., ... She, D. (2013). Measurement of operator exposure to chlorpyrifos. *Pest Management Science*, 70(4), 636–641. <https://doi.org/10.1002/ps.3601>
- Garreyn, F., Vagenende, B. y Steurbaut, W. (2007). Harmonized Environmental Indicators for Pesticides Risk Occupational Indicators: Operator, Workers and Bystander. Report Financed by the EU Sixth Framework Programme, Contact Number SSPEC-CT-2003-501977, HAIR, Ghent.
- Garthe, J.W., Lawrence, M.J. y Buckmaster, D.R. (2004). Producing Solid Fuel from Non-Recyclable Agricultural Plastics. *Applied Engineering in Agriculture*, 26(2), 217- 223.
- Giam, C. S., Chan, H. S., Hammargren, T. F., Neff, G. S., y Stalling, D. L. (1976). Confirmation of Phthalate Esters from Environmental Samples by Derivatization. *Analytical Chemistry*, 48(1), 78–80. <https://doi.org/10.1021/ac60365a059>.
- Gibson, R., Wang, M.J., Padgett, E. y Beck, A.J. (2005). Analysis of 4-nonylphenols, phthalates and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. *Chemosphere*, 61 (9), 1336–1344. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.072>.
- Gil, E., Gallart, M., Balsari, P., Marucco, P., Almajano, M.P. y Llop, J. (2015). Influence of wind velocity and wind direction on measurements of spray drift potential of boom sprayers using drift test bunch. *Agricultural and Forest Meteorology*, 202, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.12.002>.

- Gil, Y. y Sinfort, C. (2005). Emission of pesticides to the air during sprayer application: A bibliographic review. *Atmospheric Environment*, 39(28), 5183–5193. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.05.019>
- Gil, Y., Sinfort, C., Brunet, Y., Polveche, V. y Bonicelli, B. (2007). Atmospheric loss of pesticides above an artificial vineyard during air-assisted spraying. *Atmospheric Environment*, 41(14), 2945–2957. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.12.019>.
- Glotfelty, D.E., Schomburg, C.J., McCheney, M.M., Sagebiel, J.C. y Seiber, J.N. (1990). Studies of distribution, drift and volatilization of Diazinon resulting from spray application to a dormant peach orchard. *Chemosphere*, 21, 1303–1314. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(90\)90146-K](https://doi.org/10.1016/0045-6535(90)90146-K)
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., ... Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327, 812–818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
- Gómez-Hens, A. y Aguilar-Caballeros, M. P. (2003). Social and economic interest in the control of phthalic acid esters. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 22(11), 847–857. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01201-9](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01201-9)
- González, F. J. E., Cano, M. L. C., Vidal, J. L. M., Glass, C. R. y Márquez, M. C. (1999). Analytical method for assessing exposure of greenhouse applicators to procymidone by gas chromatography and whole body dosimetry. *Chromatographia*, 50(5–6), 293–298. <https://doi.org/10.1007/BF02490831>
- González-Sánchez, C., Martínez-Aguirre, A., Pérez-García, B., Martínez-Urreaga, J., de la Orden, M.U. y Fonseca-Valero, C. (2014). Use of residual agricultural plastics and cellulose fibers for obtaining sustainable eco-composites prevents waste generation. *J. Clean. Prod.* 83, 228–237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.07.061>.
- Gordon, G. G., Foshee, W. G., Reed, S. T., Brown, J. E. y Vinson, E. L. (2008). The effects of colored plastic mulches and row covers on the growth and yield of okra. *Hort Technology*, 20, 322–338. <https://doi.org/10.1080/19315260802215830>
- Goulas, A. E., Zygoura, P., Karatapanis, A., Georgantelis, D. y Kontominas, M. G. (2007). Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): kinetic and penetration study. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 585–591. : <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.10.003>
- Graham, M. (2002). Operator exposure to pesticides. *Pestic. Outlook*, 233–237. <http://dx.doi.org/10.1039/b211168n>.
- Guo, D.M. y Wu, Y. (2011). Determination of phthalic acid esters of soil in south of Xinjiang cotton fields. *Arid Environmental Monitoring*, 25, 76–79.

H

- Ham, J. M., Kluitenberg, G. J. y Lamont, W. J. (1993). Optical Properties of Plastic Mulches Affect the Field Temperature Regime. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(2), 188–193. <https://doi.org/http://journal.ashspublications.org/content/118/2/188.short>
- Hankett, J. M., Collin, W. R. y Chen, Z. (2013). Molecular structural changes of plasticized PVC after UV light exposure. *The Journal of Physical Chemistry*, 117(50), 16336–44. <https://doi.org/10.1021/jp409254y>

- He, L., Gielen, G., Bolan, N. S., Zhang, X., Qin, H., Huang, H. y Wang, H. (2014). Contamination and remediation of phthalic acid esters in agricultural soils in China: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 519–534. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0270-1>
 - Herzfeld, D. y Sargent, K. (2011). Chapter 4: Pesticide Formulations. En: *Private Pesticide Applicator Training Manual* (19th Edition, pp. 85-108). University of Minnesota – Extension. Recuperado de: <https://www.extension.umn.edu/agriculture/pesticide-safety/ppatmanual.html> (Fecha de acceso: 15/ 05/17).
 - Hofman, V. y Solseng, E. (2001). Reducing Spray Drift. North Dakota State University. Recuperado de: <https://www.ag.ndsu.edu/publications/crops/reducing-spray-drift/ae1210.pdf> (Fecha de acceso: 12/11/17).
 - Holland, P.T., Maber, J.F., May, W.A. y Malcolm, C.P. (1997). Drift from orchard spraying. Proc. 50th N. Z. Plant Protection Conf, pp. 112–118.
 - Hongjun, Y., Wenjun, X., Qing, L., Jingtao, L., Hongwen, Y. y Zhaohua, L. (2013). Distribution of phthalate esters in topsoil: A case study in the Yellow River Delta, China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(10), 8489–8500. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3190-7>
 - Hughes, E., Zalts, A., Ojeda, J., Flores, A. P., Glass, R. C. y Montserrat, J. M. (2006). Analytical method for assessing potential dermal exposure to captan, using whole body dosimetry, in small vegetable production units in Argentina. *Pest Management Science*, 62, 811 – 818. <https://doi.org/10.1002/ps.1232>.
 - Hughes, E. A., Flores, A. P., Ramos, L. M., Zalts, A., Richard Glass, C. y Montserrat, J. M. (2008). Potential dermal exposure to deltamethrin and risk assessment for manual sprayers: Influence of crop type. *Science of the Total Environment*, 391(1), 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.09.034>
 - Hussain, I. y Halim, H. (2003). Plastics in agriculture. En A. L. Andrady (Ed.), *Plastics and the Environment* (pp. 185–209). John Wiley and Sons. <https://doi.org/10.1080/02508068908692112>
- I
- Informes de Cadena de Valor. (2016). Petroquímica-Plástica. Subsecretaría de Planificación Económica. Dirección Nacional de Planificación Sectorial. Año 1(10). Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas de la Nación. Recuperado de: www.economia.gob.ar/peconomica/docs/SSPE_Cadenas%20de%20Valor_Petroquimica%20-%20Plastica.pdf (Fecha de acceso: 5/9/17).
 - Inocenti, M.C. (octubre, 2014). *Plasticultura y Medio ambiente. Reciclado y Valorización de Residuos Plásticos Agrícolas*. Trabajo presentado en formato oral en el Primer Congreso Internacional de Silo Bolsa. Organizado por INTA Mar del Plata - Balcarce.
 - IPCS. (2014). *Environmental Health Criteria 242: Dermal Exposure. International Programme on Chemical Safety*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
 - ISO. (2005). *International Standard Equipment for Crop Protection and Methods for Field Measurement of Spray Drift. ISO/FDIS 22866*. Geneva, Switzerland: ISO. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc242.pdf> (Fecha de acceso: 26/10/17).

K

- Kara, B. y Atar, B. (2013). Effects of mulch practices on fresh ear yield and yield components of sweet corn. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(3), 281–287. <https://doi.org/10.3906/tar-1206-48>
- Kim, E., Lee, J., Sung, J., Lee, J., Shin, Y. y Kim, J. (2014). Exposure and risk assessment for operator exposure to insecticide acetamiprid during water melon cultivation in greenhouse using whole body dosimetry. *Korean J. Pest. Sci.*, 18, 247–257.
- Kong, S., Ji, Y., Liu, L., Chen, L., Zhao, X., Wang, J., ... Sun, Z. (2012). Diversities of phthalate esters in suburban agricultural soils and wasteland soil appeared with urbanization in China. *Environmental Pollution*, 170, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.06.017>
- Koutny, M., Lemaire, J. y Delort, A. M. (2006). Biodegradation of polyethylene films with prooxidant additives. *Chemosphere*, 64(8), 1243–1252. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.060>
- Krueger, M. C., Harms, H. y Schlosser, D. (2015). Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(21), 8857–8874. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6879-4>
- Kruijne, R., Deneer, J., Lahr, J. y Vlamming, J. (2011). HAIR 2010 Documentation, Calculating Risk Indicators Related to Agricultural Use of Pesticides within the European Union. Alterra, Wageningen.
- Krzan, A., Hemjinda, S., Miertus, S., Corti, A. y Chiellini, E. (2006). Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer Degradation and Stability*, 91(12), 2819–2833. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2006.04.034>

L

- Lamont, W. J. (1993). Plastic Mulches for the Production of Vegetable Crops. *Hort Technology*, 3(1), 35–39.
- Lamont, W. J. (2005). Plastics: Modifying the microclimate for the production of vegetable crops. *HortTechnology*, 15(3), 477–481.
- Leibally, P., Bouchart, V., Baldi, I., Lecluse, Y., Heutte, N., Gislard, A. y Malas, J.P. (2008). Exposure to pesticides in open-field farming in France. *Ann. Occup. Hyg.* 1–3.
- Lesmes-Fabian, C., García-Santos, G., Leuenberger, F., Nuyttens, D. y Binder, C. R. (2012). Dermal exposure assessment of pesticide use: The case of sprayers in potato farms in the Colombian highlands. *Science of the Total Environment*, 430, 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.019>
- Levitan, L. y Barros, A. (2003). Recycling Agricultural Plastics in New York State. Environmental Risk Analysis Program Cornell University, 1–35. Recuperado de: <http://cwmi.css.cornell.edu/recyclingagplastics.pdf> (Fecha de acceso: 14/9/17).
- Li, B., Qian, Y., Bi, E., Chen, H. y Schmidt, T. C. (2010). Sorption behavior of phthalic acid esters on reference soils evaluated by soil column chromatography. *Soil, Air, Water*, 38(5–6), 425–429. <https://doi.org/10.1002/clen.200900241>
- Li, C., Chen, J., Wang, J., Han, P., Luan, Y., Ma, X. y Lu, A. (2016). Phthalate esters in soil, plastic film, and vegetable from greenhouse vegetable production bases in Beijing, China: Concentrations, sources, and risk assessment. *Science of the Total Environment*, 568, 1037–1043. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.077>

- Linders, J.J.H.B. (2001). *Modelling of Environmental Exposure and Risk*. Netherlands: Springer Science + Business Media Dordrecht.
- Links, I., Jagt, K. E. Van Der, Christopher, Y., Lurvink, M., Schinkel, J., Tielemans, E. y Hemmen, J. J. Van. (2007). Occupational exposure during application and removal of antifouling paints. *Annals of Occupational Hygiene*, 51(2), 207–218. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mel074>
- Liu, E. K., He, W. Q. y Yan, C. R. (2014). “White revolution” to “white pollution”—agricultural plastic film mulch in China. *Environmental Research Letters*, 9, 1–3. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/9/9/091001>
- Lonsway, J.A., Byers, M.E., Dowla, H.A., Panemangalore, M. y Antonius, G.F. (1997). Dermal and respiratory exposure of mixers/sprayers to acephate, methamidophos, and endosulfan during tobacco production. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 59, 179–186. <https://doi.org/10.1007/s001289900462>
- Lu, J. L. (2009). Total pesticide exposure calculation among vegetable farmers in benguet, Philippines. *Journal of Environmental and Public Health*. <https://doi.org/10.1155/2009/412054>

M

- Ma, L.L., Chu, S.G. y Xu, X.B. (2003). Phthalate residues in greenhouse soil from Beijing suburbs, People's Republic of China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71, 394-399.
- Machado-Neto, J.G., Bassini, A.J. y Aguiar, L.C. (2000). Safety of working conditions of glyphosate applicators on eucalypts forest using knapsack and tractor powered sprayers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64(3), 309–315. <https://doi.org/10.1007/s001280000001>
- Machado-Neto, J. G. (2001). Determination of safe work time and exposure control need for pesticide applicators. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(1), 20–26. <https://doi.org/10.1007/s001280086>
- Machera, K., Goumenou, M., Kapetanakis, E., Kalamarakis, A. y Glass, C. R. (2003). Determination of potential dermal and inhalation operator exposure to malathion in greenhouses with the whole body dosimetry method. *Annals of Occupational Hygiene*, 47(1), 61–70. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mef097>
- Mbagwu, J.S.C. (1991). Influence of different mulch materials on Soil Temperature, Soil Water Content and Yield of Three Cassava Cultivars. *J.Sci.Food Agriculture*, 54,569-577. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540408>
- McKenzie, C.L., Lapointe, S. L. y Duncan, L. W. (2001). Landscape fabric as a physical barrier to neonate *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, 84(4), 721–722. Recuperado de: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2s2.0035691433ypartnerID=40ymd5=1bda9885d1c48a64def578042bfa696b>
- Maski, D. y Durairaj, D. (2010). Effects of charging voltage, application speed, target height, and orientation upon charged spray deposition on leaf abaxial and adaxial surfaces. *Crop Protection*, 29(2), 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.10.006>
- Matthews, G.A. (2008). Attitudes and behaviours regarding use of crop protection products - A survey of more than 8500 smallholders in 26 countries. *Crop Protection*, 27, 834-846. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.10.013>
- Melgarejo-García, J. (2011). Capítulo 11: Fungicidas. En *Manejo integrado de enfermedades* (193-202). Revista ventana al campo.

- Moon, J., Park, S., Kim, E., Lee, H. y Kim, J. (2013). Exposure and Risk Assessment of Operators to Insecticide Acetamiprid during Treatment on Apple Orchard. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 31(April), 239–245. <https://doi.org/10.1007/s13765-012-0016-1>
- Moreno, J., Falcó, V.J., Oltra, M.T. y Jiménez, R. (2008). The requirement for the inclusion of formulation efficacy trials in pesticide preregistration evaluations. *Pest Management Science*, 64, 527 – 535. doi: 10.1002/ps.1536.

N

- Narváez Valderrama, J. F., Palacio Baena, J. A. y Molina Pérez, F. J. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestion y Ambiente*, 15(3), 27–38.
- Nuyttens, D., Braekman, P., Windey, S. y Sonck, B. (2009). Potential dermal pesticide exposure affected by greenhouse spray application technique. *Pest Management Science*, 65(7), 781–790. <https://doi.org/10.1002/ps.1755>
- Nuyttens, D., De Schamphelre, M., Baetens, K., Brusselman, E., Dekeyser, D. y Verboven, P. (2011). Drift from field crop sprayers using an integrated approach: results of a five-year study. *Transactions of the ASABE*, 54(2), 403-408.

O

- OECD, Organisation for Economic Co-operation and development. (1997). Guidance Document for the Conduct of Studies of Occupational Exposure to Pesticides During Agricultural Application. Paris, France: Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 9; OCDE/GD(97)148. Disponible en: [http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=ocde/gd\(97\)148](http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=ocde/gd(97)148) (Fecha de acceso: 26/10/17).
- Ohtake, Y., Kobayashi, T., Itoh, S., Asabe, H., Yabuki, M., Murakami, N. y Ono, K. (1998). Studies on Bio-Degradation of LDPE-Observation of LDPE Films Scattered in Agricultural Fields or in Garden Soil. *Polymer Degradation and Stability*, 60, 79–84. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00032-3)
- Otake, Y., Kobayashi, T., Ashabe, H., Murakami, N. y Ono, K. (1995). Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinylchloride and urea- formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *J Appl Polym. Sci*, 56, 1789–1796. <https://doi.org/10.1002/app.1995.070561309>

P

- Pant, N., Pant, A., Shukla, M., Mathur, N., Gupta, Y. y Saxena, D. (2011). Environmental and experimental exposure of phthalate esters: the toxicological consequence on human sperm. *Human and Experimental Toxicology*, 30(6), 507–514. <https://doi.org/10.1177/09603271110374205>
- Park, E.K., Hannaford-Turner, K. y Lee, H.J. (2009). Use of personal protective equipment in agricultural workers under hot and humid conditions. *Industrial Health*, 47, 200–201. <https://doi.org/10.2486/indhealth.47.200>
- Peijnenburg, W. J. G. M. y Struijs, J. (2006). Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63(2), 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.07.023>

- Pesticide Properties Database. 2017. Univ. Hertfordshire. Disponible en: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es>. (Fecha de acceso: 19/ 03/17).
- Pina, J. I. (2012). *Clasificación Toxicológica y Etiquetado de Productos Fitosanitarios. Criterios Regulatorios Locales e Internacionales*. ILSI Argentina (Vol. 3).
- Piola, L. (2011). *Ensayos ecotoxicológicos para la evaluación del impacto de plaguicidas en suelos agrícolas de Argentina*. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires, Argentina. Recuperado de: Biblioteca Digital de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires.
- Plaza-Bolanos, P., Padilla-Sanchez, J.A., Garrido-Frenich, A., Romero-Gonzalez, R. y Martinez-Vidal, J.L., 2012. Evaluation of soil contamination in intensive agricultural areas by pesticides and organic pollutants: south-eastern Spain as a case study. *J. Environ. Monit.* , 14(4), 1182–1189. <http://dx.doi.org/10.1039/C2em10993j>.
- Popenorf, W. y Selim, M. (1995). Exposures while applying commercial disinfectants. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 5, 1111–1120.
- Pórfido, O.D. (2013). *Los plaguicidas en la República Argentina*. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación.

Q

- Querejeta, G.A., Ramos, L.M., Flores, A.P., Hughes, E.A., Zalts, A. y Montserrat, J.M. (2012). Environmental pesticide distribution in horticultural and floricultural periurban production units. *Chemosphere* , 87, 566–572. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.074>
- Querejeta, G. A., Ramos, L. M., Hughes, E. A., Vullo, D., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2014). Environmental fate of trifluralin, procymidone, and chlorpyrifos in small horticultural production units in Argentina. *Water, Air, and Soil Pollution* , 225(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-014-1952-7>

R

- Rahman, M. y Brazel, C. S. (2004). The plasticizer market: An assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges. *Progress in Polymer Science* (Oxford), 29(12), 1223–1248. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2004.10.001>
- Ramos, L. M., Querejeta, G. A., Flores, A. P., Hughes, E. A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2010). Potential Dermal Exposure in greenhouses for manual sprayers: Analysis of the mix/load, application and re-entry stages. *Science of the Total Environment* , 408(19), 4062–4068. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.020>
- Ramos, L., Berenstein, G., Hughes, E. A., Zalts, A. y Montserrat, J. M. (2015). Polyethylene film incorporation into the horticultural soil of small periurban production units in Argentina. *Science of the Total Environment* , 523, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.142>
- Rautmann, D., Streloke, M. y Winkler, R. (2001). New basic drift values in the authorisation procedure for plant protection products. In R. Forster, y M. Streloke (Eds.), Workshop on risk assessment and risk mitigation measures in the context of the authorization of plant protection products (WORMM). Berlin-Dahlem: Mitt. Biol. Bundesanst. LandForstwirtschaft. Heft 381.

- Reporte de Infoagro. (2010) .La situación actual de la plasticultura en la Argentina. Recuperado de: http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/plasticultura_en_argentina.htm (Fecha de acceso: 10/2/17).
- Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A. y Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene - A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 88, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014>
- Riley, W. J., McKone, T. E. y Hubal, E. A. C. (2004). Estimating Contaminant Dose for Intermittent Dermal Contact: Model Development, Testing, and Application. *Risk Analysis*, 24(1), 73–85. <https://doi.org/10.1111/j.0272-4332.2004.00413.x>
- Rillig, M. C. (2012). Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the soil?. *Environmental Science and Technology*, 46, 6453–6454. <https://doi.org/10.1021/es302011r>
- Ríos, S. y Pellizari, C. (2016). Marco Legal. En M. Jäguer (Ed.), *Gobernabilidad, percepción y efectos del uso de agroquímicos en la región metropolitana de Buenos Aires. Presunta contaminación por el uso inadecuado de agroquímicos*, (pp. 15-43). Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de la Matanza.
- Rubino, M.R., Mandic-Rajcevic, S., Ariano, E., Alegakis, A., Bogni, M., Brambilla, G., De Paschale, G., Firmi, A., Minoia, C., Micoli, G., Salvi, S., Sottani, C., Somaruga, C., Turci, R., Vellere, F., Tsatsakis, A. y Colosio, C. (2012). *Toxicol. Lett.* , 210, 189–197.

S

- Santana, V.T, Gonçalves, S.P.C, Agnelli, J.A.M. y Martins-Franchetti, S.M. (2012). Biodegradation of a Polylactic Acid/Polyvinyl Chloride Blend in Soil. *Journal of Applied Polymer Science*, 125, 536–540. <https://doi.org/10.1002/app.35685>
- Scarascia-Mugnozza, G., Sica, C. y Russo, G. (2011). Plastic Materials in European Agriculture: Actual Use and Perspectives. *Journal of Agricultural Engineering*, 42(3), 15–28. <https://doi.org/10.4081/jae.2011.3.15>
- Shi, L. K., Zhang, M. M. y Liu, Y. L. (2016). Concentration and survey of phthalic acid esters in edible vegetable oils and oilseeds by gas chromatography-mass spectrometry in China. *Food Control*, 68, 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.027>
- Sivan, A. (2011). New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(3), 422–426. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013>
- Stainier, C., Destain, M.F., Schiffers, B. y Lebeu, F. (2006). Droplet size spectra and drift effect of two phenmedipham formulations and four adjuvants mixtures. *Crop Protection*, 25(12), 1238–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.03.006>.
- Staples, C. A., Peterson, D. R., Parkerton, T. F. y Adams, W. J. (1997). The Environmental Fate of Phthalate Esters: A literature Review. *Chemosphere*, 35(4), 667–749. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00195-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00195-1).
- Steinmetz, Z., Wollmann, C., Schaefer, M., Buchmann, C., David, J., Tröger, J., ... Schaumann, G. E. (2016). Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation. *Science of the Total Environment*, 550, 690–705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.153>
- Sumon, K.A., Rico, A., Ter Hordst, M.M.S., Van der Brink, P.J., Haque, M.M. y Rashid, H. (2016). Risk assessment of pesticides used in rice-prawn concurrent systems in Bangladesh. *Sci. Total Environ.*, 568, 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.014>

T

- Tarara, J. M. (2000). Microclimate modification with plastic mulch. *Hort Science*, 35(2), 169–180.
- Tomenson, J. A. y Matthews, G. A. (2009). Causes and types of health effects during the use of crop protection chemicals: Data from a survey of over 6,300 smallholder applicators in 24 different countries. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 82(8), 935–949. <https://doi.org/10.1007/s00420-009-0399-4>
- Transparency Market Research (2013). Agricultural Films (LDPE, LLDPE, HDPE, EVA/EBA, Reclaims and Others) Market for Greenhouse, Mulching and Silage Applications. Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast.
- Tsai, M. Y., Elgethun, K., Ramaprasad, J., Yost, M. G., Felsot, A. S., Hebert, V. R. y Fenske, R. A. (2005). The Washington aerial spray drift study: Modeling pesticide spray drift deposition from an aerial application. *Atmospheric Environment*, 39 (33), 6194–6203. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.07.011>
- Tsakirakis, A.N., Kasiotis, K.M., Charistou, A.N., Arapaki, N., Tsatsakis, A., Tsakalof, A. y Machera, K. (2014). Dermal y inhalation exposure of operators during fungicide application in vineyards. Evaluation of overall performance. *Sci. Total Environ.*, 470-471, 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.021>

U

- USEPA (United States Environmental Protection Agency). (2007). Dermal exposure assessment: a summary of EPA approaches. National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. Washington DC, United States: EPA 600/R-07/040F. Disponible en: http://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=469581 (Fecha de acceso: 10/10/2017).
- USEPA. (2012). Guidelines for Using Mulches and Weed Barriers.
- USEPA. (2013). Electronic Code of Federal Regulations: Title 40-Protection of Environment, Part 23-Steam Electric Power Generating Point Source Category. Appendix A to Part 423-126, Priority Pollutants. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/granule/CFR-2012-title40-vol30/CFR-2012-title40-vol30-part423>. (Fecha de acceso: 28/12/17)

V

- van der Berg, F., Jacobs, C.M.J., Butler Ellis, M.C., Spanoghe, P., Doan Ngoc, K. y Fragkoulis, G. (2016). Modelling exposure of workers, residents and bystanders to vapour of plant protection products after application to crops. *Sci. Total Environ.*, 573, 1010–1020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.180>
- Van Wezel, A. P., van Vlaardingen, P., Posthumus, R., Crommentuijn, G. H. y Sijm, D. T. H. M. (2000). Environmental Risk Limits for Two Phthalates, with Special Emphasis on Endocrine Disruptive Properties. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46(3), 305–321. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1930>
- Velzeboer, I., Kwadijk, C. J. A. F. y Koelmans, A. A. (2014). Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes. *Environmental Science and Technology*, 48(9), 4869–4876. <https://doi.org/10.1021/es405721v>
- Vitali, M., Protano, C., Del Monte, A., Ensabella, F. y Guidotti, M. (2009). Operative modalities and exposure to pesticides during open field treatments among a group of agricultural subcontractors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 57(1), 193–202. <https://doi.org/10.1007/s00244-008-9225-3>

W

- Wang, J., Luo, Y., Teng, Y., Ma, W., Christie, P. y Li, Z. (2013). Soil contamination by phthalate esters in Chinese intensive vegetable production systems with different modes of use of plastic film. *Environmental Pollution*, 180, 265–273. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.05.036>
- Wang, J., Chen, G., Christie, P., Zhang, M., Luo, Y. y Teng, Y. (2015). Occurrence and risk assessment of phthalate esters (PAEs) in vegetables and soils of suburban plastic film greenhouses. *Science of the Total Environment*, 523, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.101>
- Wang, J., Lv, S., Zhang, M., Chen, G., Zhu, T., Zhang, S., ... Luo, Y. (2016). Effects of plastic film residues on occurrence of phthalates and microbial activity in soils. *Chemosphere*, 151, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.076>
- Wang, M. y Rautmann, D. (2008). A simple probabilistic estimation of spray drift factors determining spray drift and development. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 2617-2626.
- Wang, Z., Wang, J., Richter, H., Howard, J. B., Carlson, J. y Levendis, Y. A. (2003). Comparative Study on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Light Hydrocarbons, Carbon Monoxide, and Particulate Emissions from the Combustion of Polyethylene, Polystyrene, and Poly (vinyl chloride). *Energy and Fuels* 2003, 17(2), 999–1013. <https://doi.org/10.1021/ef020269z>
- WHO. (1982). *Field surveys of exposure to pesticides. Standard protocol*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Wolansky, M. J. (2011). ¿Qué son los plaguicidas?. *Revista Ciencia Hoy*, 21(122), 23-29.
- World Health Organization. (2010). *The Who Recommended Classification of Pesticides By Hazard and Guidelines To Classification 2009*. World Health Organization. <https://doi.org/ISBN 978 92 4 154796 3>
- Wu, Y., Huang, F., Jia, Z., Ren, X. y Cai, T. (2017). Response of soil water, temperature, and maize (*Zea may* L.) production to different plastic film mulching patterns in semi-arid areas of northwest China. *Soil and Tillage Research*, 166, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.10.012>

X

- Xia, X., Yang, L., Bu, Q. y Liu, R. (2011). Levels, Distribution, and Health Risk of Phthalate Esters in Urban Soils of Beijing, China. *Journal of Environment Quality*, 40(5), 1643. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0032>
- Xie, Z., Ebinghaus, R., Temme, C., Lohmann, R., Caba, A. y Ruck, W. (2007). Occurrence and air-sea exchange of phthalates in the arctic. *Environmental Science and Technology*, 41(13), 4555–4560. <https://doi.org/10.1021/es0630240>

Y

- Yang, F., Wang, M. y Wang, Z. (2013). Sorption behavior of 17 phthalic acid esters on three soils: Effects of pH and dissolved organic matter, sorption coefficient measurement and QSPR study. *Chemosphere*, 93(1), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.081>
- Yi, C. (2008). Momentum transfer within canopies. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 47, 262-275. <https://doi.org/10.1175/2007JAMC1667.1>

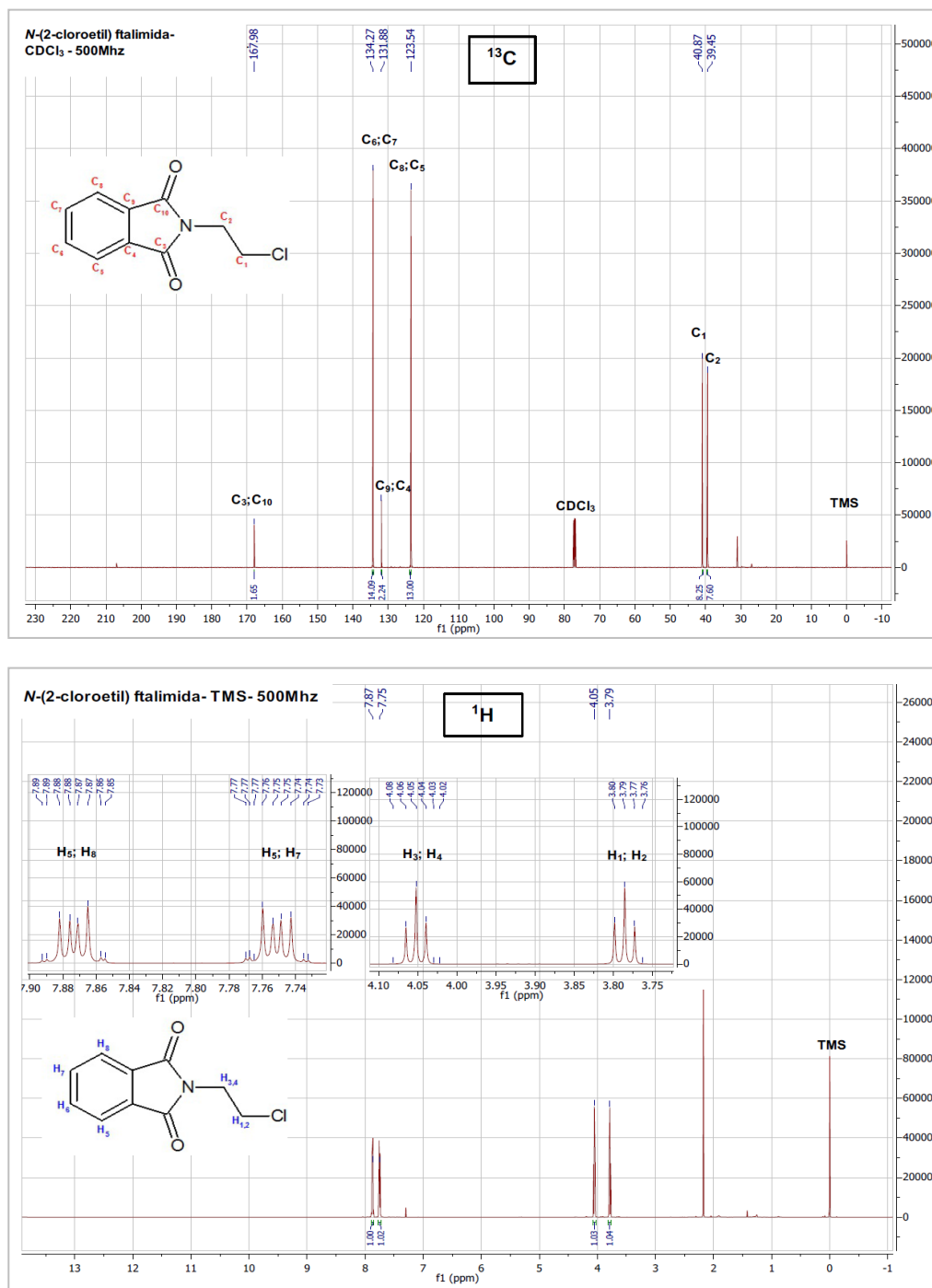
Z

- Zhang, Y., Wang, P., Wang, L., Sun, G., Zhao, J., Zhang, H. y Du, N. (2015). The influence of facility agriculture production on phthalate esters distribution in black soils of northeast China. *Science of the Total Environment*, 506–507, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.075>
- Zhou, X., Shao, X., Shu, J. J., Liu, M. M., Liu, H. L., Feng, X. H. y Liu, F. (2012). Thermally stable ionic liquid-based sol-gel coating for ultrasonic extraction-solid-phase microextraction-gas chromatography determination of phthalate esters in agricultural plastic films. *Talanta*, 89, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.001>
- Zou, Yun, A. T. y Cai, Min, A. T. (2009). Determination of Phthalate Concentration in Toys and Children's Products. *Agilent Report*, 9.

ANEXOS

7. ANEXOS

7.1. Espectros de RMN - 500 MHz de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida

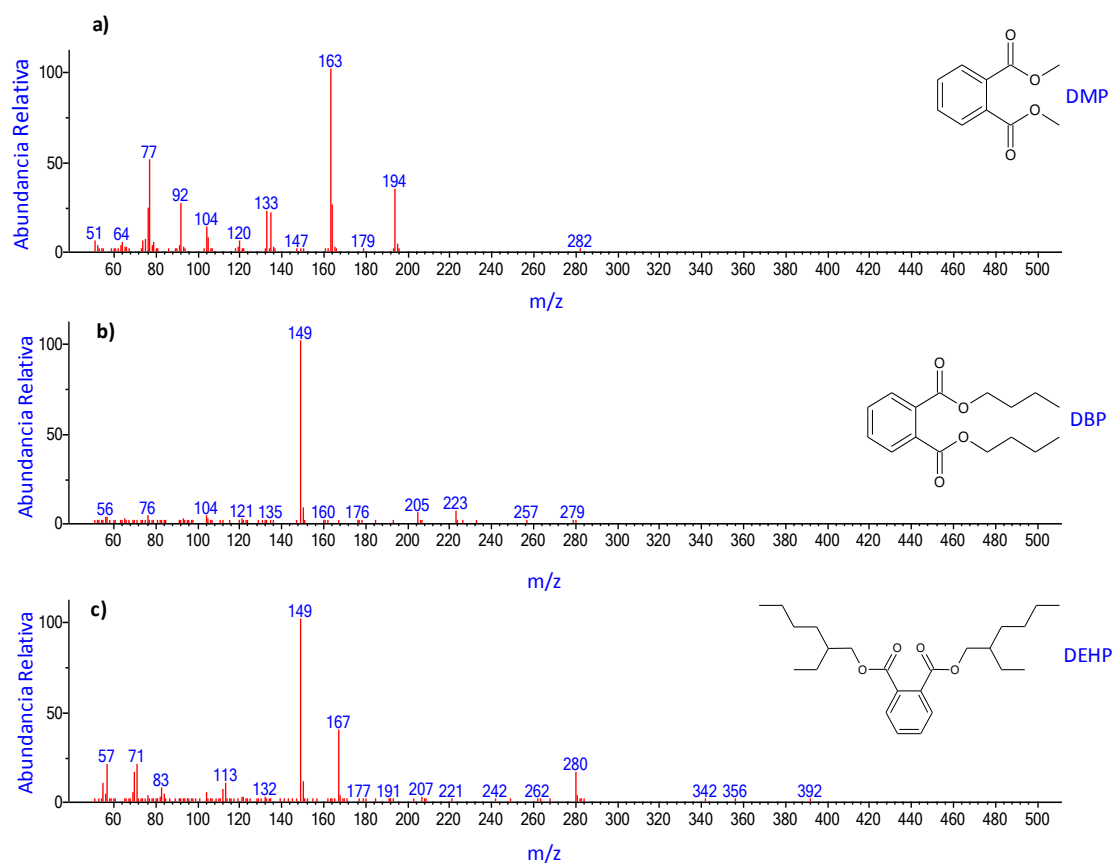


^{13}C RMN (CD Cl₃): (δ , ppm) 131,8 (C₄ y C₉); 134,3 (C₆ y C₇); 167,9 (C₃ y C₁₀).

^1H RMN (CD Cl₃): (δ , ppm) 3,79 (t, 2H, H₁ y H₂); 4,05 (t, 2H, H₃ y H₄); 7,75 (m, 2H, H₆ y H₇); 7,87 (m, 2H, H₅ y H₈).

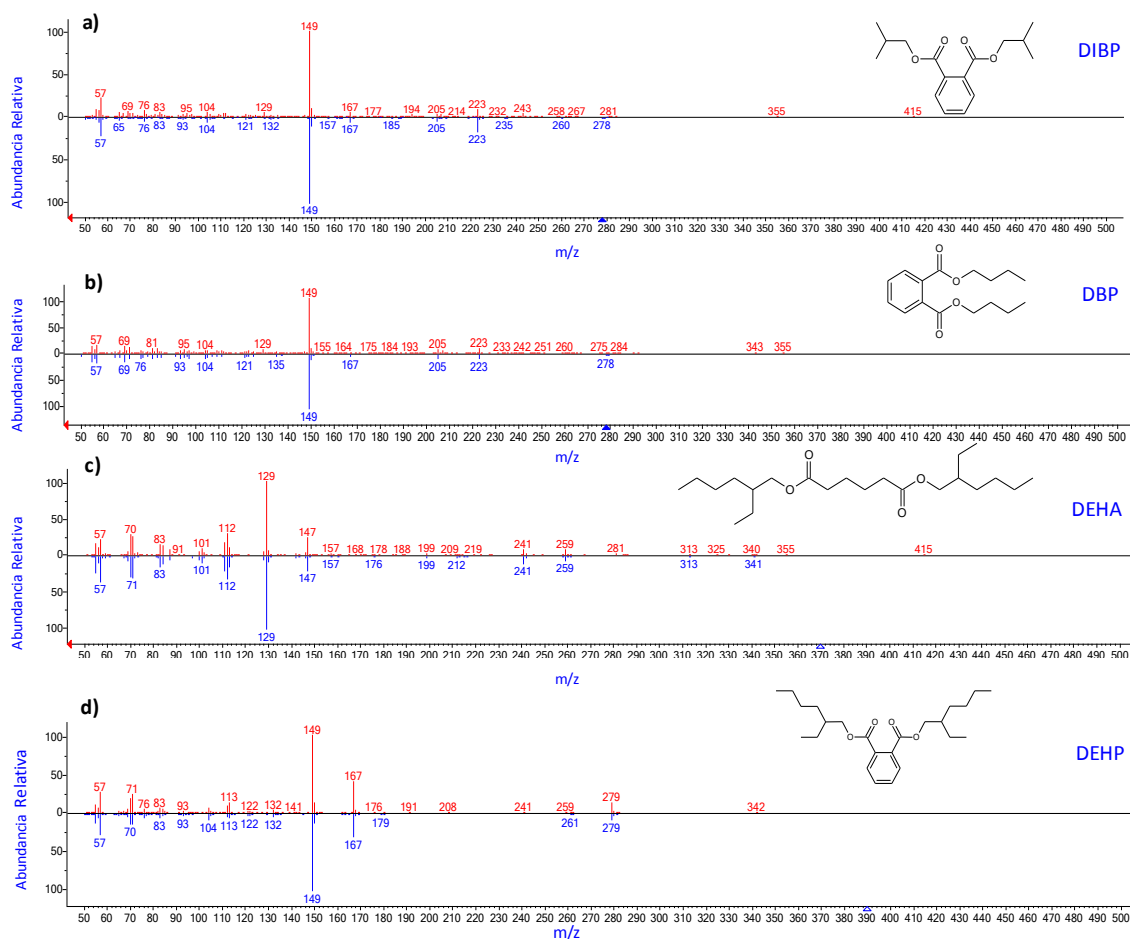
Figura A-1. Espectros de RMN-500 Mhz para ^1H y ^{13}C de la *N*-(2-cloroetil) ftalimida.

7.2. Resultados cromatográficos obtenidos por GC-MS



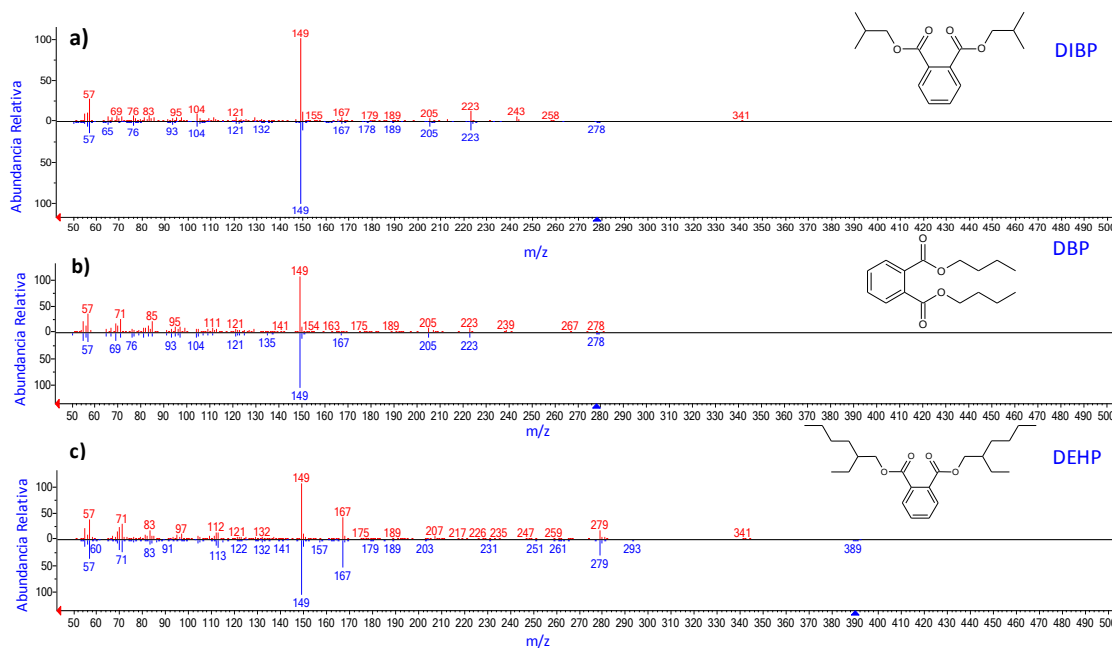
- a) Espectro de masas correspondiente al DMP $t_r=7,66$ min, obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- b) Espectro de masas correspondiente al DBP $t_r=10,47$ min, obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- c) Espectro de masas correspondiente al DEHP $t_r=12,96$ min, obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.

Figura A-2. Espectros de masa de un patrón de 50 ppm de DMP, DBP y DEHP.



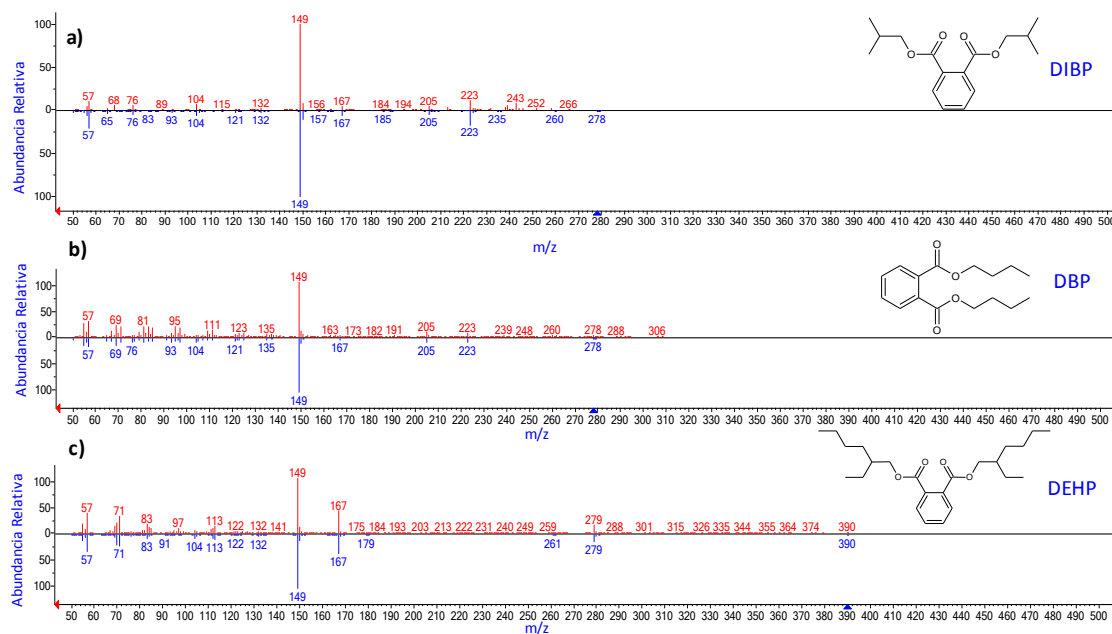
- a) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,01$ min y en azul el espectro de masas del DIBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- b) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,49$ min y en azul el espectro de masas del DBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- c) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=12,37$ min y en azul el espectro de masas del DEHA obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- d) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=12,96$ min y en azul el espectro de masas del DEHP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.

Figura A-3. Espectros de masa de los picos del TIC del film de polietileno para construcción de túneles (FT) tomado de Moreno, Bs.As.



- a) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,01\text{min}$ y en azul el espectro de masas del DIBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- b) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,49\text{ min}$ y en azul el espectro de masas del DBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- c) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=12,96\text{ min}$ y en azul el espectro de masas del DEHP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.

Figura A-4. Espectros de masa de los picos del TIC del film de polietileno tipo cristal de invernadero (FI) tomado de Moreno.



- a) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,01\text{min}$ y en azul el espectro de masas del DIBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- b) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=10,49\text{min}$ y en azul el espectro de masas del DBP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.
- c) En rojo se muestra el espectro de masas correspondiente al $t_r=12,97\text{min}$ y en azul el espectro de masas del DEHP obtenido de la biblioteca de espectros de masa del NIST.

Figura A-5. Resultados Cromatográficos para el análisis por GC-MS del film de polietileno virgen aditivado con EVA (EVA).

7.3. Cinéticas de migración

7.3.1. DMP

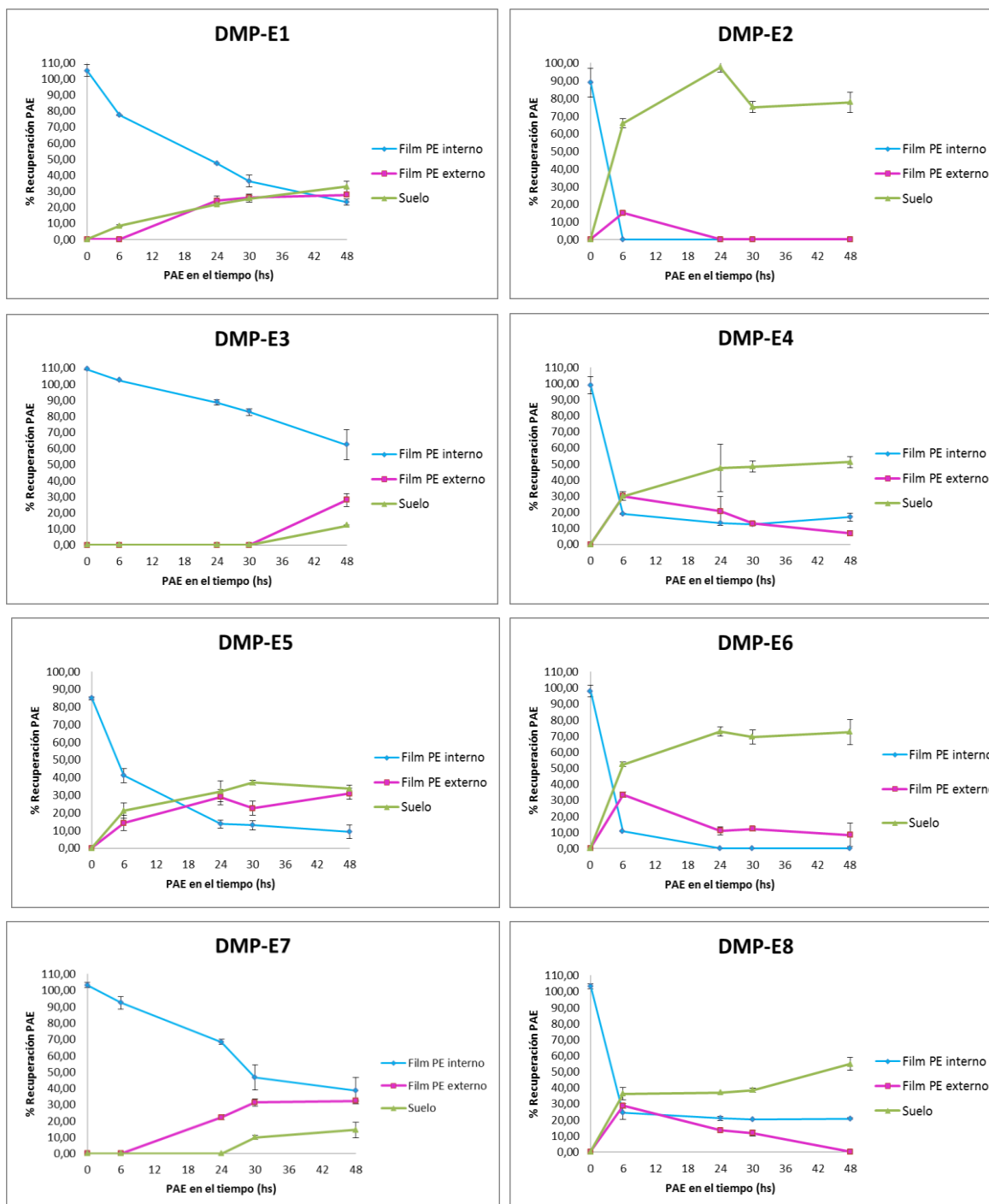


Figura A-6. Cinéticas de migración de todos los ensayos realizados a 48 h para el DMP.

7.3.2. DBP

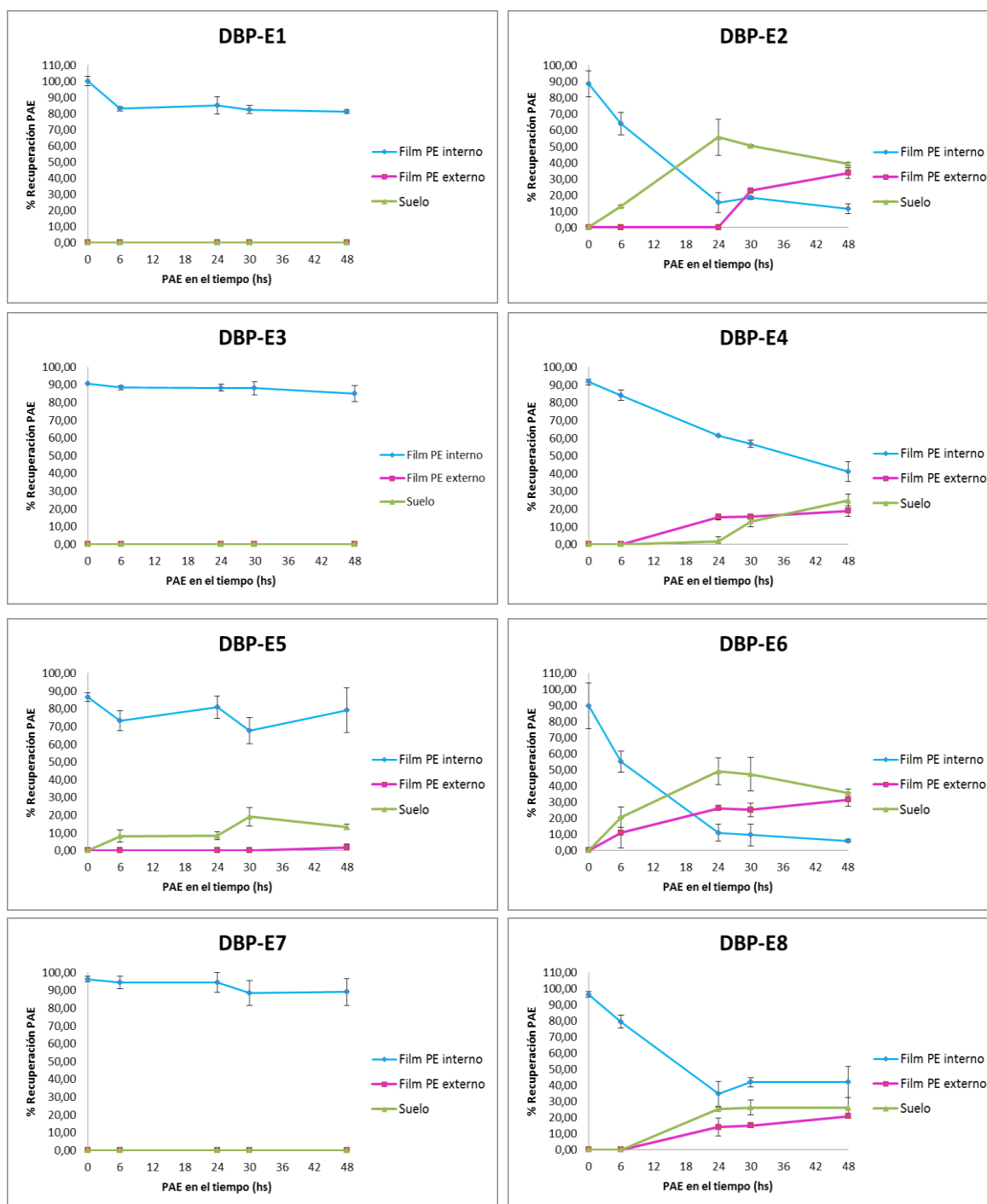


Figura A-7. Cinéticas de migración de todos los ensayos realizados a 48 h para el DBP.

7.3.3. DEHP

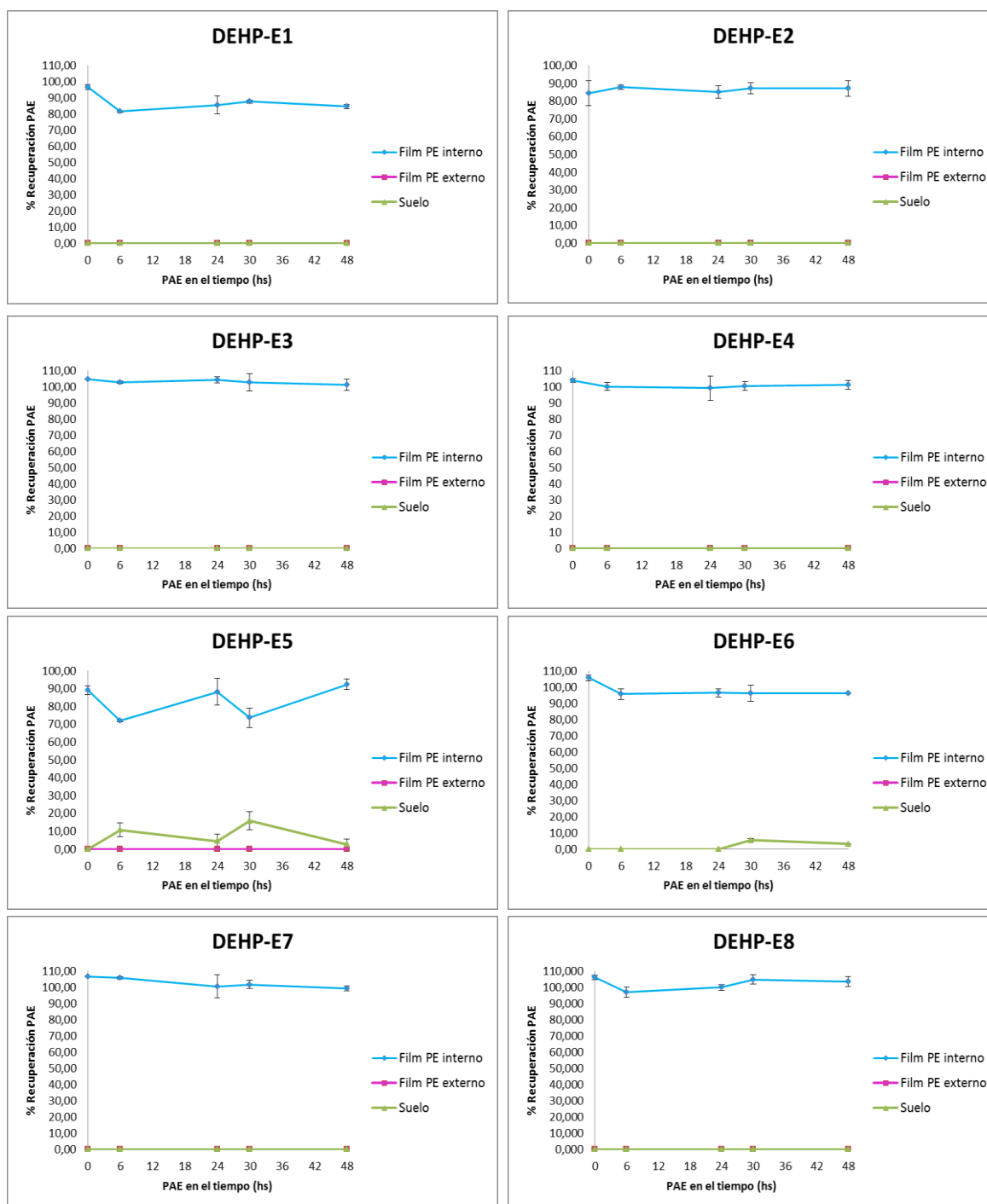


Figura A-8. Cinéticas de migración de todos los ensayos realizados a 48 h para el DEHP.

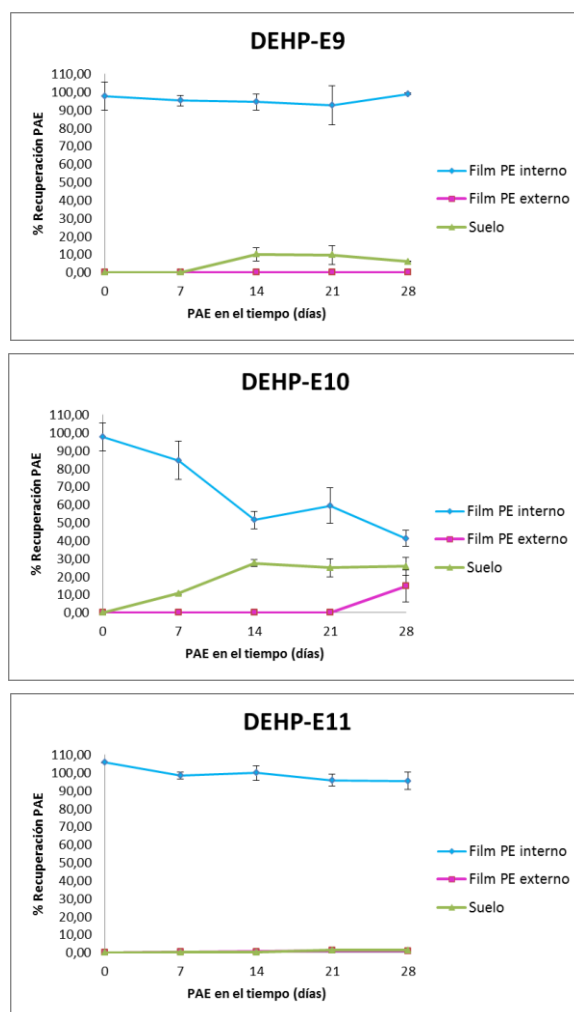


Figura A-9. Cinéticas de migración de todos los ensayos realizados a 28 días para el DEHP.

7.4. Tratamiento estadístico de los resultados

7.4.1. Influencia del tipo de actividad y la formulación en la EMP

Se realizó un ANOVA de un factor para observar el efecto de los tratamientos HFS, HFL y FFL sobre la exposición manual potencial expresada, en este caso, como el log (% EMP). Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del log (% EMP) para cada uno de los tratamientos. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
log EMP	23	0,79	0,77	51,14	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16,25	2	8,13	37,18	<0,0001
trat	16,25	2	8,13	37,18	<0,0001
Error	4,37	20	0,22		
Total	20,62	22			

Tabla A-1. ANOVA.

7.4.2. EMP para ensayos realizados a escala de laboratorio

El nivel de significación ($\alpha = 0,05$) de cada prueba estadística detallada en esta sección se ajustó con el método secuencial de Bonferroni para un total de 8 pruebas (Abdi, 2010). Para cada ANOVA realizado se detallará el valor $\alpha_{\text{corregido}}$ utilizado.

7.4.2.1. Influencia del sello de aluminio en el % EMP

Ensayos realizados con Azul Brillante, copita de medición de 15 mL y botellas de 250 mL (Ensayo 1 vs Ensayo 2):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,0100$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del sello (I: intacto; r: roto) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP). Se demostró que no existen diferencias significativas ($p > 0,01$) en las medias del % EMP dependiendo del estado del sello.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Total	27	0,19	0,16	92,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,07	1	0,07	6,05	0,0211
Trat	0,07	1	0,07	6,05	0,0211
Error	0,28	25	0,01		
Total	0,35	26			

Tabla A-2. ANOVA.

Ensayos realizados con fenolftaleína, copita de medición de 15 mL y botellas de 250 mL (Ensayo 10 vs Ensayo 11):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0071$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del sello (i: intacto; s: sin sello) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP). Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0071$) en las medias del % EMP dependiendo del estado del sello. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Total	20	0,52	0,50	65,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,64	1	1,64	19,69	0,0003
trat	1,64	1	1,64	19,69	0,0003
Error	1,50	18	0,08		
Total	3,14	19			

Tabla A-3. ANOVA.

Ensayos realizados con fenolftaleína, copita de medición de 15 mL y botellas de 1000 mL (Ensayo 12 vs Ensayos 13 y 14):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0250$

Se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para observar la influencia del sello (i: intacto; r: roto; s: sin sello) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP). Se demostró que las diferencias entre las medianas del % EMP para cada tipo de sello no son estadísticamente significativas ($p > 0,0250$).

Prueba de Kruskal Wallis						
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H p
%EMP	i	10	0,32	0,30	0,29	3,77 0,1415
%EMP	r	10	0,37	0,36	0,30	
%EMP	s	10	0,27	0,52	0,00	

Tabla A-4. Prueba de Kruskal Wallis.

7.4.2.2. Influencia del tamaño de la botella en el % EMP

Ensayos realizados con Azul Brillante, copita de medición de 15 mL, botellas de 250 mL y 1000 mL (Ensayo 1 vs Ensayo 8):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0166$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del tamaño de la botella (250 mL y 1000 mL) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP) al manipular soluciones de Azul Brillante. No hay diferencias significativas ($p > 0,0166$) en las medias del % EMP dependiendo del tamaño de la botella.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
total	22	0,14	0,10	88,00	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,04	1	0,04	3,25	0,0867
trat	0,04	1	0,04	3,25	0,0867
Error	0,26	20	0,01		
Total	0,30	21			

Tabla A-5. ANOVA.

Ensayos realizados con fenolftaleína, copita de medición de 15 mL, botellas de 250 mL y 1000 mL (Ensayo 10 vs Ensayo 12):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0083$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del tamaño de la botella (250 mL y 1000 mL) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP) al manipular soluciones incoloras. Se demostró que no existen diferencias significativas ($p > 0,0083$) en las medias del % EMP dependiendo del tamaño de la botella.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
total	20	0,32	0,28	60,10	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,83	1	0,83	8,45	0,0094
trat	0,83	1	0,83	8,45	0,0094
Error	1,77	18	0,10		
Total	2,60	19			

Tabla A-6. ANOVA.

7.4.2.3. Influencia del dispositivo de medición el % EMP

Ensayos realizados con Azul Brillante, sello intacto, copita de medición de 15 mL, tubo Falcon de 50 mL y bomba dosificadora (Ensayos 1, 4 y 6):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,05$

Se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para observar la influencia del dispositivo de medición (c: copita; t: tubo; b: bomba) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP). Se demostró que las diferencias entre las medianas del % EMP para cada tipo dispositivo de medición no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Prueba de Kruskal Wallis						
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H p
EMP	b	10	0,20	0,18	0,15	0,09 0,9571
EMP	c	13	0,17	0,13	0,16	
EMP	t	4	0,16	0,10	0,16	

Tabla A-7. Prueba de Kruskal Wallis.

7.4.2.4. Influencia del color en el % EMP

Ensayos realizados con Azul Brillante y fenolftaleína, sello intacto y copita de medición de 15 mL (Ensayos 1 y 10):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,0063$

Se realizó la transformación tipo raíz cuadrada a la variable % EMP puesto que no se cumplía el supuesto de homogeneidad de varianzas con los datos sin transformar.

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del color (ab: Azul Brillante; ph: fenolftaleína) sobre la raíz cuadrada de la exposición manual potencial porcentual (% EMP). Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0063$) en las medias de la raíz de % EMP dependiendo del color de la formulación. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RAIZ tot	23	0,61	0,59	33,32	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,20	1	1,20	33,29	<0,0001
trat	1,20	1	1,20	33,29	<0,0001
Error	0,76	21	0,04		
Total	1,95	22			

Tabla A-8. ANOVA.

Ensayos realizados con Azul Brillante y fenolftaleína, copita de medición de 15 mL, botellas de 1000 mL con sello intacto (Ensayo 8 vs Ensayo 12):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,0125$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del color (ab: Azul Brillante; ph: fenolftaleína) sobre la exposición manual potencial porcentual (% EMP) al manipular botellas de 1000 mL. Se demostró que no existen diferencias significativas ($p > 0,0125$) en las medias de la % EMP dependiendo del color de la formulación.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
tot	18	0,22	0,17	105,42	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,14	1	0,14	4,59	0,0479
trat	0,14	1	0,14	4,59	0,0479
Error	0,48	16	0,03		
Total	0,62	17			

Tabla A-9. ANOVA.

7.4.3. Efecto de la temperatura en la migración de los PAEs

El nivel de significación ($\alpha=0,05$) de cada prueba estadística detallada en las secciones 7.4.3.1 y 7.4.3.2 se ajustó con el método secuencial de Bonferroni para un total de 4 pruebas (Abdi, 2010). Para cada ANOVA realizado se detallará el valor $\alpha_{\text{corregido}}$ utilizado.

7.4.3.1. DMP

DMP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 μm de espesor a 20 °C y 50°C (Tratamientos: E1, E2, E5, E6):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0125$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia de la temperatura (20 °C y 50°C) en la migración del DMP en los ensayos E1, E5 y E6. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 6 h. Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0125$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo de la temperatura. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Rec	9	0,99	0,99	5,47	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6621,75	2	3310,88	596,38	<0,0001
Trat	6621,75	2	3310,88	596,38	<0,0001
Error	33,31	6	5,55		
Total	6655,06	8			

Tabla A-10. ANOVA.

DMP-Ensayos realizados con PE aditivado con EVA de 100 μm de espesor a 20 °C y 50°C (Tratamientos: E3, E4, E7, E8):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0167$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia de la temperatura (20 °C y 50°C) en la migración del DMP en los ensayos E3, E4, E7 y E8. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 6 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0167$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo de la temperatura. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Rec	11	1,00	1,00	1,68	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15963,72	3	5321,24	5915,43	<0,0001
Trat	15963,72	3	5321,24	5915,43	<0,0001
Error	6,30	7	0,90		
Total	15970,02	10			

Tabla A-11. ANOVA.

7.4.3.2. DBP

DBP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 μ m de espesor a 20 °C y 50°C (Tratamientos: E1, E2, E5, E6):

α corregido=0,0025

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia de la temperatura (20 °C y 50°C) en la migración del DBP en los ensayos E1, E2, E5 y E6. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 6 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0025$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo de la temperatura. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Recup	12	0,84	0,78	8,03	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1292,70	3	430,90	14,09	0,0015
Trat	1292,70	3	430,90	14,09	0,0015
Error	244,66	8	30,58		
Total	1537,36	11			

Tabla A-12. ANOVA.

DBP-Ensayos realizados con PE aditivado con EVA de 100 µm de espesor a 20 °C y 50°C (Tratamientos: E3, E4, E7, E8):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,0167$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia de la temperatura (20 °C y 50°C) en la migración del DBP en los ensayos E3, E4, E7 y E8. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 24 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0167$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo de la temperatura. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Recup	12	0,99	0,98	4,91	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6781,98	3	2260,66	192,86	<0,0001
Trat	6781,98	3	2260,66	192,86	<0,0001
Error	93,77	8	11,72		
Total	6875,75	11			

Tabla A-13. ANOVA.

7.4.3.3. DEHP

DEHP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 µm de espesor, solarizado por 5 meses a 20 °C y 50°C (Tratamientos: E9 y E10):

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia de la temperatura (20 °C y 50°C) en la migración del DEHP en los ensayos E9 y E10. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a los 14 días.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DEHP dependiendo de la temperatura. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Recup	6	0,92	0,90	8,88	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2177,80	1	2177,80	48,57	0,0022
Trat	2177,80	1	2177,80	48,57	0,0022
Error	179,35	4	44,84		
Total	2357,14	5			

Tabla A-14. ANOVA.

7.4.4. Efecto del espesor y la solarización del PE interno en la migración de los PAEs

El nivel de significación ($\alpha=0,05$) de cada prueba estadística detallada en las secciones 7.4.4.1 y 7.4.4.2 se ajustó con el método secuencial de Bonferroni para un total de 4 pruebas (Abdi, 2010). Para cada ANOVA realizado se detallará el valor $\alpha_{\text{corregido}}$ utilizado.

7.4.4.1. DMP

DMP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 μm de espesor y film de PE de 100 μm de espesor a 20 °C (Tratamientos: E1, E3, E5, E7):

$\alpha_{\text{corregido}}=0,0250$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del espesor y grado de solarización de las películas plásticas en la migración del DMP, en los ensayos E1, E3, E5 y E7. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 6 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0250$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tratamiento. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias:

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
%Rec	12	0,99	0,99	3,58	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6502,54	3	2167,51	274,69	<0,0001
Trat	6502,54	3	2167,51	274,69	<0,0001
Error	63,13	8	7,89		
Total	6565,66	11			

Tabla A-15. ANOVA.

DMP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 µm de espesor y film de PE de 100 µm de espesor a 50 °C (Tratamientos: E2, E4, E6 y E8):

α corregido=0,05

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del espesor y grado de solarización de las películas plásticas en la migración del DMP, en los ensayos E4, E6 y E8 (No se incluyen los valores de E2 porque todos dieron cero). Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 6 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tratamiento. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
%Rec	8	1,00	1,00	1,96	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	271,10	2	135,55	1145,12	<0,0001
Trat	271,10	2	135,55	1145,12	<0,0001
Error	0,59	5	0,12		
Total	271,70	7			

Tabla A-16. ANOVA.

7.4.4.2. DBP

DBP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 µm de espesor y film de PE de 100 µm de espesor a 20 °C (Tratamientos: E1, E3, E5 y E7):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,0250$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del espesor y grado de solarización de las películas plásticas en la migración del DMP, en los ensayos E1, E3, E5 y E7. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 24 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,0250$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tratamiento. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Rec	12	0,67	0,55	4,90	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	297,64	3	99,21	5,43	0,0248
Trat	297,64	3	99,21	5,43	0,0248
Error	146,19	8	18,27		
Total	443,83	11			

Tabla A-17. ANOVA.

DBP-Ensayos realizados con mulching negro de 25 µm de espesor y film de PE de 100 µm de espesor a 50 °C (Tratamientos: E2, E4, E6 y E8):

$\alpha_{\text{corregido}} = 0,05$

Se realizó un ANOVA de un factor para observar la influencia del espesor y grado de solarización de las películas plásticas en la migración del DMP, en los ensayos E2, E4, E6 y E8. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio, en el film de PE interno, de los ensayos a las 24 h.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tratamiento. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Rec	12	0,96	0,95	15,86	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4730,72	3	1576,91	67,17	<0,0001
Trat	4730,72	3	1576,91	67,17	<0,0001
Error	187,81	8	23,48		
Total	4918,53	11			

Tabla A-18. ANOVA.

7.4.5. Migración de los PAEs en el tiempo para cada ensayo

7.4.5.1. DMP

DMP-Ensayo E1

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	1,00	1,00	3,23	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13326,93	4	3331,73	962,69	<0,0001
Tiempo	13326,93	4	3331,73	962,69	<0,0001
Error	34,61	10	3,46		
Total	13361,54	14			

Tabla A-19. ANOVA.

DMP-Ensayo E2: No se realizó un análisis estadístico para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo puesto que a partir de las 6 h vale cero.

DMP-Ensayo E3:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias:

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,98	0,97	3,56	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4009,32	4	1002,33	99,43	<0,0001
Tiempo	4009,32	4	1002,33	99,43	<0,0001
Error	100,81	10	10,08		
Total	4110,14	14			

Tabla A-20. ANOVA.

DMP-Ensayo E4:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	1,00	0,99	8,53	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16848,30	4	4212,08	561,92	<0,0001
Tiempo	16848,30	4	4212,08	561,92	<0,0001
Error	74,96	10	7,50		
Total	16923,26	14			

Tabla A-21. ANOVA.

DMP-Ensayo E5:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,99	0,99	7,91	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12284,48	4	3071,12	464,04	<0,0001
Tiempo	12284,48	4	3071,12	464,04	<0,0001
Error	66,18	10	6,62		
Total	12350,66	14			

Tabla A-22. ANOVA.

DMP-Ensayo E6:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para las 0 h y 6h. A partir de las 24 h la recuperación del DMP fue cero.

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	6	1,00	1,00	3,35	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11328,28	1	11328,28	3438,67	<0,0001
Tiempo	11328,28	1	11328,28	3438,67	<0,0001
Error	13,18	4	3,29		
Total	11341,46	5			

Tabla A-23. ANOVA.

DMP-Ensayo E7:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h). Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	14	0,99	0,98	4,92	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9480,95	4	2370,24	196,51	<0,0001
Tiempo	9480,95	4	2370,24	196,51	<0,0001
Error	108,55	9	12,06		
Total	9589,51	13			

Tabla A-24. ANOVA.

DMP-Ensayo E8:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	1,00	1,00	2,99	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16004,90	4	4001,22	3100,95	<0,0001
Tiempo	16004,90	4	4001,22	3100,95	<0,0001
Error	12,90	10	1,29		
Total	16017,80	14			

Tabla A-25. ANOVA.

7.4.5.2. DBP

DBP-Ensayo E1:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP para $t=0$ h y las restantes. Sin embargo, como en los ensayos no se encontró DBP en el resto de las matrices, se descarta que sea migración. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,94	0,92	2,50	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	737,40	4	184,35	39,54	<0,0001
Tiempo	737,40	4	184,35	39,54	<0,0001
Error	46,62	10	4,66		
Total	784,01	14			

Tabla A-26. ANOVA.

DBP-Ensayo E2:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,98	0,97	14,13	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	14527,47	4	3631,87	116,50	<0,0001
Tiempo	14527,47	4	3631,87	116,50	<0,0001
Error	311,76	10	31,18		
Total	14839,23	14			

Tabla A-27. ANOVA.

DBP-Ensayo E3:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tiempo.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,56	0,39	2,24	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	49,86	4	12,47	3,19	0,0621
Tiempo	49,86	4	12,47	3,19	0,0621
Error	39,03	10	3,90		
Total	88,90	14			

Tabla A-28. ANOVA.

DBP-Ensayo E4:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,99	0,98	3,76	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5128,89	4	1282,22	203,05	<0,0001
Tiempo	5128,89	4	1282,22	203,05	<0,0001
Error	63,15	10	6,31		
Total	5192,04	14			

Tabla A-29. Análisis de supuestos del ANOVA.

DBP-Ensayo E5:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,62	0,47	7,83	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	592,29	4	148,07	4,11	0,0319
Tiempo	592,29	4	148,07	4,11	0,0319
Error	360,53	10	36,05		
Total	952,82	14			

Tabla A-30. ANOVA.

DBP-Ensayo E6:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,98	0,98	14,69	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16310,84	4	4077,71	161,71	<0,0001
Tiempo	16310,84	4	4077,71	161,71	<0,0001
Error	252,17	10	25,22		
Total	16563,01	14			

Tabla A-31. ANOVA.

DBP-Ensayo E7:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DBP para los distintos tiempos del ensayo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,39	0,14	5,30	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	152,96	4	38,24	1,59	0,2515
Tiempo	152,96	4	38,24	1,59	0,2515
Error	240,73	10	24,07		
Total	393,69	14			

Tabla A-32. ANOVA.

DBP-Ensayo E8:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DMP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h).

Se demostró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DMP dependiendo del tiempo. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	15	0,98	0,97	7,63	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8964,80	4	2241,20	111,11	<0,0001
Tiempo	8964,80	4	2241,20	111,11	<0,0001
Error	201,71	10	20,17		
Total	9166,51	14			

Tabla A-33. ANOVA.

7.4.5.3. DEHPDEHP-Ensayo E9:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DEHP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h). Se demostró que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DEHP. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
%Recup	9	0,50	0,20	2,87	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	37,73	3	12,58	1,67	0,2868
Tiempo	37,73	3	12,58	1,67	0,2868
Error	37,62	5	7,52		
Total	75,36	8			

Tabla A-34. ANOVA.

DEHP-Ensayo E10:

Se realizó un ANOVA de un factor para analizar la recuperación del DEHP en el PE interno a lo largo del tiempo. Se compararon los porcentajes de recuperación promedio para cada punto temporal (0 h, 6 h, 24 h, 30 h y 48 h). Se demostró que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medias del % de recuperación del DEHP. Se aplicó la prueba de Tukey para la comparación *post-hoc* de las medias.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Recup	9	0,98	0,96	7,74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4542,62	4	1135,66	43,83	0,0015
Tiempo	4542,62	4	1135,66	43,83	0,0015
Error	103,64	4	25,91		
Total	4646,26	8			

Tabla A-35. ANOVA.