



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Politécnica Superior de Gandia

Estudio de la presencia de herbicidas fenoxiácidos en muestras de un campo de cultivo de arroz y de la Albufera de Valencia a lo largo de un año.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Evaluación y Seguimiento Ambiental de Ecosistemas Marinos y Costeros

AUTOR/A: García Cabrera, Víctor

Tutor/a: Meseguer Lloret, Susana

Cotutor/a: Torres Cartas, Sagrario

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

RESUMEN

Los herbicidas fenoxiácidos se han utilizado ampliamente en la agricultura desde la década de los 50 para controlar el crecimiento de malas hierbas en una amplia gama de cultivos, como cereales, arroz y cítricos. Debido a su alta solubilidad en agua y su baja absorción en el suelo, en regiones con actividades agrícolas intensivas estos herbicidas pueden penetrar fácilmente en las aguas superficiales y subterráneas. Este estudio pretende evaluar la presencia de cuatro herbicidas fenoxiácidos (MCPA, MCPB, MCPP y 2,4-D) mayoritariamente en muestras de agua, recogidas tanto en un campo de cultivo de arroz (a lo largo del periodo de cultivo) como en el lago de l'Albufera de Valencia (a lo largo de un año).

El análisis de las muestras recogidas en el campo de arroz a lo largo de las distintas fases del periodo de cultivo permitirá evaluar la presencia y variabilidad en las concentraciones de los herbicidas fenoxiácidos en las distintas fases. Por otra parte, los herbicidas empleados en los distintos cultivos de la zona pueden llegar al lago de la Albufera de Valencia por la escorrentía superficial, y acumularse en sus aguas, por lo que resulta interesante conocer la variabilidad en las concentraciones de herbicidas en el lago a lo largo del año.

Este estudio permitirá determinar si existe algún periodo en el que haya concentraciones de estos pesticidas que puedan ser perjudiciales para la conservación del ecosistema del lago y del Parque Natural de l'Albufera. Los herbicidas seleccionados en el estudio se extraerán de las muestras acuosas mediante extracción en fase sólida (SPE) empleando cartuchos convencionales y, posteriormente, se empleará la cromatografía líquida (HPLC-DAD) para el análisis de las fracciones extraídas.

Palabras clave: herbicidas, fenoxiácidos, arroz, Albufera, cromatografía, agua, suelo.

ABSTRACT

Phenoxyacid herbicides have been widely used in agriculture since the 1950s to control weed growth in a wide range of crops, including cereals, rice, and citrus. Due to their high water solubility and low soil absorption, in regions with intensive agricultural activities these herbicides can easily penetrate into surface and groundwater. This study aims to evaluate the presence of four phenoxyacid herbicides (MCPA, MCPB, MCPP and 2,4-D) mainly in water samples, collected both in a rice field (throughout the cultivation period) and in the l'Albufera lake in Valencia (over a year).

The analysis of the samples collected in the rice field throughout the different phases of the cultivation period will allow to evaluate the presence and acquire the concentrations of the phenoxyacid herbicides in the different phases. On the other hand, the herbicides used in the different crops in the area can reach the Albufera de Valencia lake through surface runoff, and accumulate in its waters, so it is interesting to know the use in concentrations of herbicides in the lake throughout the year.

This study will make it possible to determine if there is a period in which there are concentrations of these pesticides that could be detrimental to the conservation of the ecosystem of the lake and the Albufera Natural Park. The herbicides selected in the study will be extracted from the aqueous samples by solid phase extraction (SPE) using conventional cartridges and, later, liquid chromatography (HPLC-DAD) will be used for the analysis of the extracted fractions.

Key words: herbicides, phenoxy acids, rice, Albufera, chromatography, water, sediment.

AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras, Susana Meseguer y Sagrario Torres, por toda la dedicación ofrecida para poder elaborar satisfactoriamente el presente estudio y por resolver todas y cada una de las dudas que les he planteado, que no han sido pocas. Por su amabilidad excelsa y su entera predisposición a colaborar y ayudarme en todo momento para que el presente estudio fuera posible.

A todos mis profesores y profesoras del Máster en Evaluación y Seguimiento Ambiental de Ecosistemas Marinos y Costeros de la Universidad Politécnica de Valencia, por formarme en este mundo tan apasionante del medio marino, sin olvidar a todos mis compañeros y compañeras, con los que he estado trabajando durante este último año y repetiría una e infinitas veces.

A toda mi familia, por apoyarme, respaldarme y estar presente en cada decisión que he tomado en la vida, en los buenos y malos momentos. Especialmente a mi abuelo materno Alfredo, por todo lo vivido junto a él durante toda la vida y especialmente en este último año tan difícil, y que llevaré siempre en mi corazón.

Finalmente, a mí mismo, por verme capaz de superar los objetivos que me planteo y por estudiar lo que realmente me apasiona, la curiosidad por la naturaleza, el medio ambiente y concretamente, por un mayor conocimiento sobre el medio marino.

Por todo ello, el presente estudio te lo dedico a ti, abuelo Alfredo, infinitas gracias por todo y, por tanto. Te echaré muchísimo de menos. Allá donde estés, cuídanos siempre.

ÍNDICE (CONTENIDO)

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 HERBICIDAS FENOXIÁCIDOS	1
1.2 CULTIVO DEL ARROZ.....	3
1.3 ÁREA DE ESTUDIO: EL TÉRMINO MUNICIPAL DE SUECA Y EL PARQUE NATURAL DE LA ALBUFERA ...	4
1.4 LEGISLACIÓN	7
1.5 CROMATOGRAFÍA	8
1.6 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)	11
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVOS PRINCIPALES	14
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	14
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
3.1 MATERIAL.....	15
3.1.1 Reactivos químicos y disoluciones.....	15
3.1.2 Material específico	16
3.1.3 Aparatos e instrumentos	16
3.2 MÉTODOS.....	17
3.2.1 Recogida, conservación de las muestras y tratamiento de extracción de los herbicidas	17
3.2.1.1 Muestras de suelo	17
3.2.1.2 Muestra de arroz	19
3.2.1.3 Muestras de agua	21
3.2.2 Análisis cromatográfico.....	23
4. RESULTADOS	24
4.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO: RECTAS DE CALIBRADO Y FIGURAS DE MÉRITO	24
4.2 PRESENCIA DE LOS HERBICIDAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL CAMPO.....	28
4.3 PRESENCIA DE LOS HERBICIDAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA RECOGIDAS EN EL LAGO DE LA ALBUFERA Y GOLA DEL PERELLÓ	33
4.3.1 Muestras de agua recogidas en la zona del embarcadero del lago de la Albufera	33
4.3.2 Muestras de agua recogidas en el centro del lago y en la gola del Perelló	39
4.4 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE HERBICIDAS HALLADAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL CAMPO DE ARROZ Y DE LA ALBUFERA	40
4.5 ANÁLISIS DE LAS DE LAS MUESTRAS DE SUELO RECOGIDAS EN EL CAMPO DE ARROZ.....	44
4.6 MUESTRAS DE ARROZ	46
5. CONCLUSIONES	49
6. BIBLIOGRAFÍA	55

ÍNDICE (FIGURAS)

FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS HERBICIDAS FENOXIÁCIDOS 2,4-D, MCPA, MCPP Y MCPB.....	2
FIGURA 2. PARCELA DE ARROZ EN PROCESO DE CRECIMIENTO, EN EL TÉRMINO MUNICIPAL DE SUECA (PROVINCIA DE VALENCIA).....	4
FIGURA 3. LOCALIZACIÓN DE LA PARCELA DE CULTIVO DE ARROZ DONDE SE HAN EXTRAÍDO LAS MUESTRAS	6
FIGURA 4. LOCALIZACIÓN DE LA PARCELA DE CULTIVO DE ARROZ (UBICACIÓN) Y EL LAGO DE LA ALBUFERA (FLECHA), CON SUS GOLAS (PUJOL, PERELLONET Y PERELLÓ) Y LA ZONA DEL EMBARCADERO, DENTRO DEL PN DE LA ALBUFERA	6
FIGURA 5. ESQUEMA DEL EQUIPO HPLC	10
FIGURA 6. CROMATOGRAMA CON SUS PARTES CARACTERÍSTICAS	11
FIGURA 7. CARTUCHO EMPLEADO EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS FENOXIÁCIDOS DE LAS MATRICES ACUOSAS	11
FIGURA 8. MECANISMO DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA.....	13
FIGURA 9. MUESTRA DE SUELO RECOGIDA EN LA PARCELA DE ARROZ.....	18
FIGURA 10. AGITACIÓN DEL SUELO EN CONTACTO CON EL METANOL-AGUA (1:1, v/v).....	18
FIGURA 11. REPARTO DEL FILTRADO DE SUELO CON DICLOROMETANO.	19
FIGURA 12. EQUIPO DE ROTAVAPOR EMPLEADO PARA EVAPORACIÓN A SEQUEDAD DE LA FRACCIÓN LÍQUIDA OBTENIDA TRAS EL TRATAMIENTO DE LA MUESTRA DE SUELO	19
FIGURA 13. ESTADO DEL CAMPO DE ARROZ EN EL MOMENTO DE RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	20
FIGURA 14. MUESTRA DE LA PLANTA DE ARROZ RECOLECTADA DE LA PARCELA ESTUDIO	20
FIGURA 15. MUESTRAS DE AGUA RECOGIDAS EN LA PARCELA DE CULTIVO DE ARROZ (A) Y EN EL LAGO DE LA ALBUFERA (B).....	21
FIGURA 16. ENTRADA DE AGUA A LA PARCELA DE CULTIVO DE ARROZ, DONDE SE TOMAN LAS MUESTRAS	21
FIGURA 17. TOMA DE MUESTRAS EN EL EMBARCADERO DEL LAGO DE LA ALBUFERA, EN LA ZONA DEL SALER	22
FIGURA 18. COLECTOR DE VACÍO PARA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA.	23
FIGURA 19. CROMATOGRAMAS DE: BLANCO Y MEZCLAS PATRÓN DE 0,1 Y 0,3 PPM PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS FENOXIÁCIDOS OBJETO DE ESTUDIO, CON SUS TIEMPOS DE RETENCIÓN.....	24
FIGURA 20. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA CONCENTRACIÓN DE MCPA EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE LA PARCELA DE ARROZ DURANTE EL CICLO ANUAL	30
FIGURA 21. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA CONCENTRACIÓN DE MCPP EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE LA PARCELA DE ARROZ DURANTE EL CICLO ANUAL	30
FIGURA 22. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA CONCENTRACIÓN DE MCPB EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE LA PARCELA DE ARROZ DURANTE EL CICLO ANUAL	31
FIGURA 23. CROMATOGRAMAS DE: BLANCO, MEZCLA PATRÓN DE LOS 4 HERBICIDAS DE 0,1 MG/L (C/U) Y MUESTRA DE AGUA DEL CAMPO DE ARROZ RECOGIDA EL DÍA 20/07/2022	32
FIGURA 24. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE 2,4-D EN EL AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA (ZONA DEL EMBARCADERO) A LO LARGO DE UN AÑO.....	35
FIGURA 25. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPA EN EL AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA (ZONA DEL EMBARCADERO) A LO LARGO DE UN AÑO.....	36
FIGURA 26. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPP EN EL AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA (ZONA DEL EMBARCADERO) A LO LARGO DE UN AÑO.....	37
FIGURA 27. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPB EN LAS AGUAS DEL LAGO DE LA ALBUFERA (ZONA DEL EMBARCADERO) A LO LARGO DE UN AÑO.....	38
FIGURA 28. CROMATOGRAMAS DE: BLANCO, MEZCLA PATRÓN DE HERBICIDAS DE 0,1 MG/L (C/U) Y MUESTRA DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA DEL DÍA 08/12/2022.....	39
FIGURA 29. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE 2,4-D EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA Y DEL CAMPO DE CULTIVO.....	41
FIGURA 30. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPA EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA Y DEL CAMPO DE CULTIVO.....	42
FIGURA 31. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPP EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA Y DEL CAMPO DE CULTIVO.....	43
FIGURA 32. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA PRESENCIA DE MCPB EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA Y DEL CAMPO DE CULTIVO.....	43

FIGURA 33. CROMATOGRAMAS DE: BLANCO, MEZCLA DE LOS 4 HERBICIDAS DE 1 PPM C/U, Y MUESTRA DE SUELO DEL DÍA 02/10/2022, DILUIDA 10 VECES.....	46
FIGURA 34. CROMATOGRAMAS DE: BLANCO, MEZCLA PATRÓN DE LOS 4 HERBICIDAS DE 0,75 PPM (C/U) Y MUESTRA DE ARROZ DE LA PARCELA DE CULTIVO, DILUIDA 100 VECES (OCTUBRE DE 2022).....	48

ÍNDICE (TABLAS)

TABLA 1. PROPIEDADES DE DEGRADACIÓN Y PERSISTENCIA EN EL MEDIO DE LOS HERBICIDAS.....	2
TABLA 2. PARÁMETROS DE LAS RECTAS DEL CALIBRADO	25
TABLA 3. LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN PARA LOS HERBICIDAS FENOXIÁCIDOS EN MUESTRAS DE AGUA, SUELO Y ARROZ	26
TABLA 4. COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA CADA HERBICIDA A DIFERENTES NIVELES DE CONCENTRACIÓN	26
TABLA 5. PORCENTAJE DE ERROR RELATIVO PARA CADA HERBICIDA TRAS EL PROCESO SPE-HPLC, PARA UNA CONCENTRACIÓN DE 0,5 PPM DE CADA HERBICIDA.	27
TABLA 6. PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN POR HERBICIDA SEGÚN EL TIPO DE MUESTRA DE AGUA (CAMPO DE ARROZ EL RÁFOL Y LA ALBUFERA).....	27
TABLA 7. CONCENTRACIONES DE LOS HERBICIDAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA RECOGIDAS EN LA PARCELA DE CULTIVO DURANTE EL PERIODO DE INICIO, CRECIMIENTO Y MADURACIÓN DEL ARROZ	29
TABLA 8. CONCENTRACIÓN DE HERBICIDAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA (ZONA DEL EMBARCADERO)	34
TABLA 9. CONCENTRACIONES DE LOS HERBICIDAS HALLADAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA TOMADAS EN LOS 3 PUNTOS DE MUESTREO EN JULIO Y OCTUBRE DE 2022	39
TABLA 10. CONCENTRACIONES DE LOS HERBICIDAS HALLADAS EN LAS MUESTRAS DE SUELO ANALIZADAS DE LA PARCELA DE CULTIVO.....	44
TABLA 11. CLASIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO ANALIZADAS SEGÚN LA NORMATIVA HOLANDESA	45
TABLA 12. CONCENTRACIÓN DE LOS HERBICIDAS FENOXIÁCIDOS EN LAS MUESTRAS DE ARROZ DEL CAMPO Y COMERCIAL	47
TABLA 13. ASPECTOS MÁS RELEVANTES SOBRE LAS MUESTRAS DE AGUA DE LA PARCELA DE ARROZ Y LOS HERBICIDAS OBJETO DE ESTUDIO	50
TABLA 14. ASPECTOS MÁS RELEVANTES SOBRE LAS MUESTRAS DE AGUA DEL LAGO DE LA ALBUFERA Y LOS HERBICIDAS OBJETO DE ESTUDIO	51
TABLA 15. ASPECTOS MÁS RELEVANTES SOBRE LAS MUESTRAS DE SUELO DE LA PARCELA DE ARROZ Y LOS HERBICIDAS OBJETO DE ESTUDIO	52
TABLA 16. NIVELES DE CONCENTRACIÓN RELACIONADOS CON LA ECOTOXICOLOGÍA TERRESTRE Y ACUÁTICA	54

1. Introducción

1.1 Herbicidas fenoxiácidos

Los herbicidas fenoxiácidos son derivados del ácido fenoxiacético, fenoxi-isopropiónico y fenoxi-butírico. Estos herbicidas presentan actividad foliar y de translocación, ya que penetran a través de la parte aérea de la planta y son transportados por los vasos vasculares vegetales hasta las raíces, destruyéndolas (Botella Bou, I., 2021).

La finalidad de este tipo de herbicidas es la de inhibir o interrumpir el desarrollo selectivo de plantas, y son comúnmente empleados en terrenos de cultivo (Botella Bou, I., 2021), debido a su bajo coste, alta solubilidad en el agua, poca persistencia y elevada selectividad, ya que ejercen su acción sobre las dicotiledóneas y son totalmente inofensivos para las gramíneas (Prado et al., 1999).

Estos herbicidas también presentan efectos nocivos para el medio ambiente, especialmente en el medio acuático y, dado que son altamente móviles, dependiendo del tipo de suelo, pueden infiltrarse hasta llegar a las aguas subterráneas. Por otra parte, cuando se encuentran presentes en concentraciones elevadas, disminuyen la capacidad nitrificante del suelo y generan efectos adversos en la microflora. Además, cabe resaltar que la presencia de átomos de cloro en sus estructuras puede generar efectos teratogénicos y mutagénicos en los animales (Della Valle Vivo et al., 2011).

En el presente estudio, se han analizado 4 herbicidas fenoxiácidos: el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), el ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético (MCPA), el ácido 2-(2-metil-4-clorofenoxi)-propiónico o mecoprop (MCP), y el ácido 4-(4-cloro-2-metilfenoxi)-butanoico (MCPB), cuyas estructuras se detalla en la Figura 1.

El 2,4-D es un herbicida con actividad auxínica con capacidad de actuar sobre los mecanismos que se encargan de regular el crecimiento vegetativo de las plantas. Se considera, al igual que el MCPA, MCP y MCPB, un herbicida hormonal, sistémico y selectivo de absorción foliar y radicular. Fundamentalmente actúa como inhibidor del crecimiento, estimulando la síntesis de los ácidos nucleicos y las proteínas, y afectan a la actividad de las enzimas, la respiración y la división celular (Portal Tecnoagrícola, 2023).

El MCPA se usa especialmente para el control de plantas dicotiledóneas en cultivos de gramíneas y de especies leñosas. Presenta una elevada movilidad y elevada capacidad de lixiviación. La actividad residual del MCPA es entre 3 y 4 meses (Portal Tecnoagrícola, 2023).

El MCP se emplea para el control de la mala hierba de hoja ancha en cultivos perennes, de gramíneas y pastos (Portal Tecnoagrícola, 2023). Por último, el MCPB también se emplea como herbicida para controlar las malas hierbas de hoja ancha en cultivos de gramíneas y cereales (Meseguer Lloret et al., 2016).

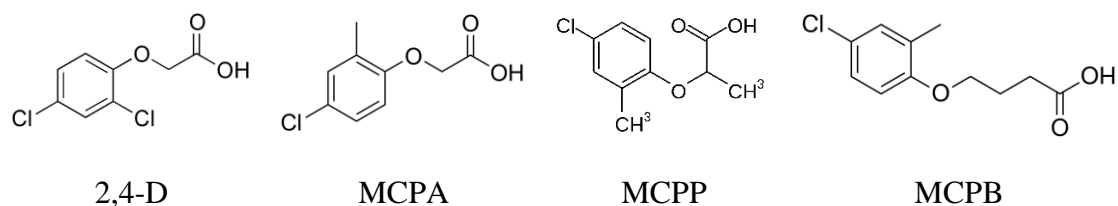


Figura 1. Estructura química de los herbicidas fenoxiácidos 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB. Fuente: Wikipedia (2023).

Las propiedades de los herbicidas 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB relacionadas con su solubilidad en el agua y su degradación y persistencia en el medio, se resumen en la siguiente tabla (Tabla 1) (Pesticide Properties DataBase, 2023):

Tabla 1. Propiedades de degradación y persistencia en el medio de los herbicidas. Fuente: Pesticide Properties DataBase (2023).

Propiedad	2,4-D	MCPA	MCPP	MCPB
Solubilidad en agua a 20 °C (mg/L)	24300	250000	250000	60,4
Fotólisis acuosa DT ₅₀ * (días) a pH 7	38	0,558	44	2,8
Degradación aeróbica en suelo DT ₅₀ * típica (días)	4,4	12,07	8,2	3,65
Degradación en fase acuosa única DT ₅₀ * (días)	7,7	13,5	37	9,7

*DT₅₀ o tiempo de vida medio, expresado en días, corresponde al número de días necesarios para reducir a la mitad la dosis aplicada. Se trata de una medida indirecta de la persistencia del herbicida en el ambiente.

El uso de los herbicidas fenoxiácidos 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB está aprobado por la Unión Europea en la actualidad. De hecho, en la Comunidad Valenciana, se emplean de forma habitual en el tratamiento de malas hierbas en cultivos de cereales, como el arroz, y en cultivos de cítricos.

Los herbicidas 2,4-D, MCPA y MCPP se suelen aplicar conjuntamente, y como ejemplo, se exponen las siguientes formulaciones (Registro de Productos Fitosanitarios, 2023):

- 2,4-D ácido 0,07% (sal amina) + Dicamba 0,02% (sal amina) + MCPA 0,07% (sal amina) + Mecoprop-P 0,04% (sal amina) [AL] P/V. Su nombre comercial es Dicotex RTU y el fabricante Arysta Lifescience.
- 2,4-D ácido 27,5% (sal dietilamina) + MCPA 27,5% (sal dietilamina) [SL] P/V. El nombre comercial es Planet y el fabricante Sharda Cropchem LTD.
- 2,4-D ácido 34,5% (sal amina) + MCPA 34,5% (sal amina) [SL] P/V. Su nombre comercial es Dicopur Doble Linz y el fabricante Naufarm.

- 2,4-D ácido 7% (sal dimetilamina) + DICAMBA 2% (sal dimetilamina) + MCPA 7% (sal dimetilamina) + MECOPROP-P 4,2% (sal dimetilamina) [SL] P/V. Su nombre comercial es Dicotex, y el fabricante sin asignar.

Por otro lado, el MCPB se suele aplicar de forma individual, destacando los siguientes productos fitosanitarios (Registro de Productos Fitosanitarios, 2023):

- MCPB 40% (sal sódica) [SL] P/V.

En el presente proyecto, se va a evaluar la presencia de residuos de dichos herbicidas en muestras de agua, suelo y arroz (*Oryza sativa* L.) recogidas en distintos tiempos en un campo de cultivo del término municipal de Sueca, y en muestras de agua de la Albufera de Valencia. Este tipo de herbicidas se aplica para eliminar la mala hierba conocida como serreig o cola (*Echinochloa* spp.), que germina de forma escalonada durante el desarrollo del cultivo del arroz, cultivo predominante en el entorno del Parque Natural de la Albufera (Comunidad Valenciana, España).

1.2 Cultivo del arroz

Se puede considerar que el cultivo tradicional del arroz abarca un año completo (Arrozúa, 2023). Durante los meses de enero y febrero empieza el ciclo del arroz, procediendo a inundar los campos con agua (inundación invernal conocida por el nombre de “Perellonà”) y se airea y ara el fango removiéndolo junto a la paja sobrante de los arrozales del año anterior.

Seguidamente, durante los meses de marzo a abril se deja descansar la tierra dejando que se seque al sol, y, más tarde, se ara de nuevo la primera capa de suelo como etapa previa a la siembra del arroz. En el mes de mayo, se vuelven a llenar los campos de agua para llevar a cabo la siembra del arroz.

A mediados de mayo aproximadamente se siembra el arroz. Cuando la planta empieza a crecer se observan en los campos las calvas, que son zonas en las que la planta no ha germinado, que se replantan mediante plantales que proceden de semilleros. A lo largo de la etapa de crecimiento, se hace descender el agua de los campos de cultivo (generalmente durante una semana) en varias ocasiones con la finalidad de aplicar varias clases de herbicidas (como los fenoxiácidos) para eliminar las malas hierbas.

Este fenómeno se conoce en la zona como “aixugà”, y permite, además de inyectar los herbicidas, potenciar el crecimiento de la mata de arroz, haciendo que se agarre firmemente al terreno. La planta se deja crecer hasta mediados de agosto, momento en que se dejan secar los campos.

Durante el mes de septiembre, se procede a la recolecta de los granos de arroz, comúnmente llamada “sega”. En la recolecta, las máquinas cosechadoras separan el grano de la paja del arroz, quedando la paja sobre el terreno ya cosechado. Este residuo, puede empacarse para emplearlo en ganadería, agricultura o construcción, o quemarse sobre el terreno para evitar su pudrición al enfangarse con la tierra (Magazine online flores y plantas, 2023).

En el periodo de cultivo del arroz estudiado en el presente trabajo (desde junio de 2022 a mayo de 2023), la siembra del arroz se retrasó hasta principios de junio debido a que hubo un largo periodo de lluvias durante el mes de abril y hubo que esperar a que la tierra se secara para ararla y proceder a la inundación de los campos y posterior siembra del arroz. Por ello, también las etapas posteriores del cultivo se vieron retrasadas.

En la Figura 2, se muestra una fotografía de la parcela con arroz en proceso de crecimiento en el campo del cual se tomaron las muestras analizadas en el presente estudio.



Figura 2. Parcela de arroz en proceso de crecimiento, en el término municipal de Sueca (provincia de Valencia).
Fuente: elaboración propia.

Las muestras de agua, de suelo y del propio arroz (en la parcela en la que se han extraído las muestras), se fueron recogiendo a lo largo del ciclo anual del cultivo del arroz, para estimar la posible contaminación de las aguas y las variaciones en las concentraciones de los herbicidas fenoxiácidos a lo largo del periodo de cultivo. También se recolectaron muestras de agua mensuales/quincenales del lago de la Albufera de Valencia para comprobar si los herbicidas fenoxiácidos añadidos durante el proceso de cultivo llegan al lago, y en su caso, determinar la concentración en la que se encuentran.

1.3 Área de estudio: el Término Municipal de Sueca y el Parque Natural de la Albufera

El Término Municipal de Sueca está incluido en el Parque Natural de la Albufera, y gran parte se dedica al cultivo del arroz, ofreciendo un paisaje cambiante a medida que transcurre el año (Mira Valencia, 2023). El cultivo del arroz se considera uno de los pilares básicos de la economía del municipio de Sueca, cuya cosecha asciende cada año a 40.000 toneladas (Wikipedia, 2023). De las zonas de regadío del municipio de Sueca, que abarca una superficie de 8.750 hectáreas, 6.505 son arrozales y el resto está dedicado al cultivo de cítricos y hortalizas.

El riego de los distintos cultivos del término municipal de Sueca se realiza mediante sus tres acequias principales, la Acequia Mayor de Sueca (que derivan a su vez la Acequia del Canal y El Sequial), la Acequia Nova y la Acequia de Muzquiz, acequias que derivan desde el azud de Sueca del río Júcar.

También deriva, aguas arriba del azud de Sueca, la Acequia de Campanar que confluye con la Acequia de la Dreta, desaguando directamente al lago de la Albufera (CEDEX, 2017).

Como se ha comentado, en este estudio, se han recogido distintas muestras de agua de campo, suelo y del propio arroz a lo largo del ciclo de cultivo del arroz. Las muestras se han recogido en el polígono nº 44 y concretamente, la parcela 9 (Sede Electrónica del Catastro, 2023), ubicada en la partida El Ràfol, del término municipal de Sueca (Figuras 3 y 4).

El Parque Natural de la Albufera de Valencia (Figura 4) es un espacio natural protegido situado en la provincia de Valencia (Comunidad Valenciana, España). El paraje natural está formado por 2.120 hectáreas y fue declarado como Parque Natural, por la Generalitat Valenciana, el 8/07/1986 (Parques Naturales GVA, 2020). Está situado a 10 km (al sur) de la ciudad de Valencia), y comprende el propio lago, su entorno húmedo y el cordón litoral adyacente entre el lago y el mar. En términos generales, se puede considerar la Albufera de Valencia como una laguna costera somera, con una profundidad media de 1 metro, situada en la costa mediterránea (Parques Naturales GVA, 2020).

Ocupa una superficie de 23,94 kilómetros cuadrados y está rodeada por 223 kilómetros cuadrados destinados al cultivo del arroz. La cuenca hidrográfica del lago se extiende por unos 917 kilómetros cuadrados, desde el nivel del mar hasta una altura de 1.000 metros sobre el nivel del mar. Existe una separación entre el lago y el mar, que forma un cordón litoral arenoso o restinga, que presenta dunas estabilizadas por un bosque de pinos muy singular (Dehesa del Saler) (Parques Naturales GVA, 2020). Es una zona con un elevado valor ambiental, cultural, y paisajístico. Así, el valor ecológico es muy grande, y se encuentran especies en peligro de extinción (autóctonas y endémicas de la zona), como el samaruc (*Valencia hispanica*) y el fartet (*Aphanius iberus*) (Parques Naturales GVA, 2020).

El lago de l'Albufera cuenta con tres canales o Golas, que lo comunican con el mar (Gola de Pujol, Gola del Perellonet y Gola de El Perelló). De este modo, el mantenimiento de esta comunicación con el mar se encuentra abierta durante el máximo periodo del año, permitiendo el máximo flujo posible, que resulta esencial para garantizar el buen estado del ecosistema de la laguna costera. Para tratar de evitar la intrusión marina, se instalaron compuertas en cada una de las Golas para facilitar el desagüe más rápido y eficaz de los arrozales en caso de necesidad, por ejemplo, en periodos de máxima avenida (Parques Naturales GVA, 2020).

Los aportes de agua continuados generalmente proceden del río Júcar y de los retornos de riego de la Acequia Real del Júcar. Además, se debe resaltar el funcionamiento hídrico del lago y el arrozal para entender lo que ocurre durante la “Perellonà” o inundación invernal.

Las zonas más externas se fueron aterrando progresivamente, pero las zonas más bajas (por debajo del nivel del lago) conocidas como “Tancats” no llegaron a aterrarse. Estos “Tancats” cuentan con motores y bombas que drenan continuamente los campos durante el cultivo del arroz, y cuando termina y se cosecha el arroz, los motores no operan y los “Tancats” se llenan de agua procedente del lago hasta que se equilibran los niveles de ambos (Parques Naturales GVA, 2020).

De este modo, durante la “Perellonà”, el lago se vacía de forma natural para inundar los campos de arroz por el simple hecho de que no funcionen las motobombas de extracción de agua, mientras que durante el periodo de cultivo es el agua de los campos la que llega a la Albufera. En esta época, que generalmente abarca los meses de noviembre y diciembre, resulta necesario un aporte de agua extraordinario, procedente de los regadíos de campos de cítricos, para que la laguna no baje demasiado su nivel (Parques Naturales GVA, 2020). Además, las Golas (salidas al mar) se cierran, subiendo el nivel del lago de la Albufera e inundando las áreas adyacentes o “Tancats”.

En este trabajo, se han recolectado mensualmente muestras de agua de la zona del embarcadero del lago de la Albufera para evaluar la presencia de herbicidas fenoxiacidos 2,4-D, MCPA, MCPP y MPB a lo largo de un año, dado que las aguas que fluyen desde o hacia los campos de cultivo de arroz que rodean el Parque Natural de l’Albufera terminan entrando o saliendo del lago. Además, se han analizado algunas muestras recogidas en el centro de la Albufera y en la Gola de El Perelló.

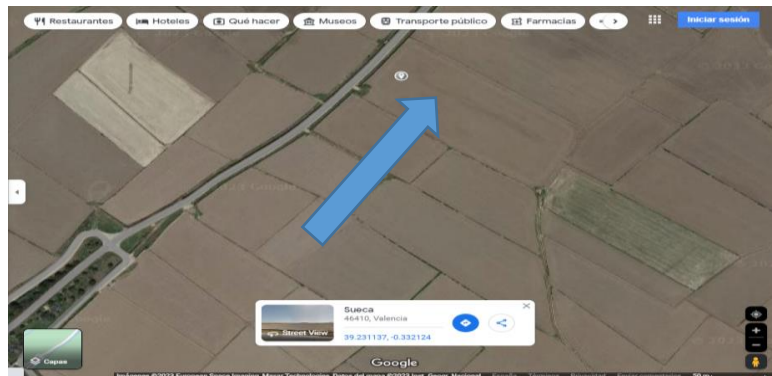


Figura 3. Localización de la parcela de cultivo de arroz donde se han extraído las muestras. Fuente: Google Maps©.

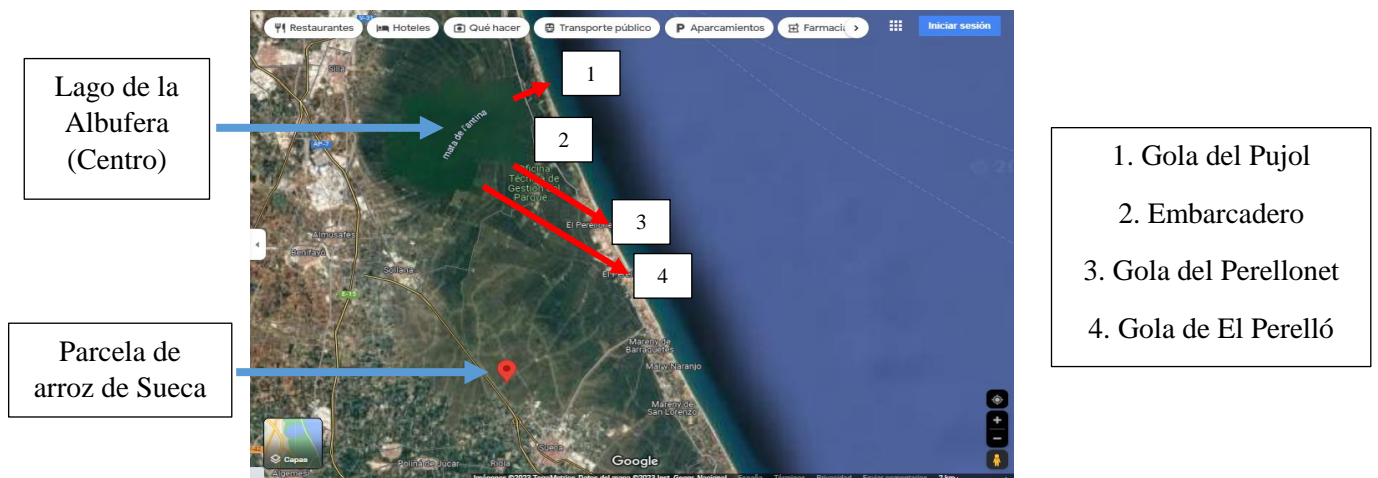


Figura 4. Localización de la parcela de cultivo de arroz (ubicación) y el lago de la Albufera (flecha), con sus Golas (Pujol, Perellonet y Perelló) y la zona del embarcadero, dentro del PN de la Albufera. Fuente: Google Maps©.

1.4 Legislación

La Unión Europea regula la presencia de los herbicidas fenoxiácidos objeto de este estudio en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.), con código 0500060. Para ello, la UE establece los límites máximos de residuos permitidos (LMRs) que se pueden consultar en la base de datos de los pesticidas (*EU Database Pesticide*).

El LMR establecido para el 2,4-D en el arroz es de 0,1 mg/Kg; mientras que para los herbicidas fenoxiácidos MCPA, MCPB y MCPP, el LMR está establecido en 0,05 mg/Kg. Los reglamentos que fijan este valor de LMR son: para el caso del 2,4-D, el Reglamento (EU) N° 1363/2022; para el MCPA y el MCPB, el Reglamento (EU) N° 491/2014; y para el MCPP el Reglamento (EU) N° 149/2008.

En cuanto a la legislación relacionada con el suelo y las actividades contaminantes, destaca el *R.D. 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados*. En dicho Real Decreto, aparece una lista de contaminantes y niveles genéricos de referencia para protección de la salud humana en función del uso del suelo y una lista de contaminantes y niveles genéricos de referencia para la protección de los ecosistemas, pero en dicha lista no figuran los herbicidas fenoxiácidos. Además, en este tipo de muestras se aplica la *Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados*, que únicamente hace referencia al uso de residuos plásticos, por lo que tampoco hace referencia a la contaminación por los herbicidas fenoxiácidos.

De este modo, ni en España ni a nivel europeo se tiene una normativa que establezca los LMRs de plaguicidas en suelos. Sin embargo, si se desea clasificar los suelos en función de la concentración de herbicidas o pesticidas, se puede acudir a la legislación holandesa que sí establece distintos límites para clasificar los suelos contaminados por herbicidas (*Dutch List Soil and ground water criteria used in the Netherlands for contaminated land*).

En esta normativa, se exponen 3 casos diferentes:

- Caso A: si la concentración no excede los 0,1 mg/Kg, el suelo no está contaminado.
- Caso B: si la concentración no excede los 2 mg/Kg, pero se encuentra en el intervalo 0,1-2 mg/Kg, se debe abordar una evaluación de riesgos en función de las características del suelo y del herbicida para analizar posible contaminación.
- Caso C: si la concentración excede los 20 mg/Kg, el suelo está fuertemente contaminado y se debe encontrar una solución de remediación.

Por último, en el caso de la normativa relacionada con la presencia de pesticidas en aguas, la normativa española actual, atendiendo a las aguas destinadas a consumo humano establece un límite máximo de 0,1 µg/L para cada plaguicida, y de 0,5 µg/L para plaguicidas totales, según lo expuesto en el *Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano*, concretamente en el Anexo I y apartado B.1.

Además, en la normativa relacionada con aguas superficiales, el *Real Decreto 849/1986 que regula y aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico*, establece que el máximo nivel de concentración permitido para los vertidos de pesticidas es de 0,05 mg/L.

1.5 Cromatografía

La cromatografía es un método de análisis que incluye un conjunto de técnicas que permiten lograr la separación y cuantificación de los componentes presentes en una mezcla. En la separación cromatográfica, los componentes de la muestra se distribuyen entre dos fases inmiscibles, la fase estacionaria (FE) y la fase móvil (FM), gracias a las distintas interacciones o afinidades de los componentes de la muestra por ambas fases. En la cromatografía, la fase estacionaria permanece fija y tiene una gran área superficial, mientras que la fase móvil es un fluido que pasa a través o a lo largo de la fase estacionaria, arrastrando consigo los componentes de la muestra (proceso de elución), que avanzarán más o menos rápido en función de la afinidad que tengan por cada una de las fases. Tras la separación, los componentes arrastrados por la FM llegarán en distintos tiempos a un detector que permitirá su cuantificación.

Se pueden distinguir varios tipos de cromatografía (Sgariglia et al., 2010):

- a) Según el tipo de fase estacionaria, se distingue entre: cromatografía en columna en la que la FE confinada dentro de un tubo y cromatografía plana, en la que la FE es una capa fina y homogénea depositada sobre un soporte inerte plano.
- b) Según la naturaleza de la FM, se distingue entre cromatografía líquida, de gases y de fluidos supercríticos (SFC).
- c) Según el mecanismo de retención o el tipo de interacción entre el soluto y la fase estacionaria, se distinguen: la cromatografía de adsorción, en la que existen interacciones físicas de adsorción entre el soluto y la FE; la cromatografía de reparto o partición, en la que las interacciones dependen de la solubilidad de los solutos en las fases móvil y estacionaria; la cromatografía de intercambio iónico, en la que la FE es una resina de intercambio iónico y se producen interacciones de atracción/repulsión en función de las cargas; la cromatografía de exclusión, en la que los analitos se separan en función del tamaño; y la cromatografía de afinidad, en la que existe una interacción específica entre la FE y un soluto concreto.

Entre los métodos cromatográficos comentados anteriormente, para analizar los herbicidas fenoxiácidos en el presente estudio se ha empleado la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en la que el mecanismo de interacción es de reparto. Concretamente, y para el caso objeto de estudio, la FE es un sólido apolar y se encuentra confinada en el interior de una columna de acero y la FM es una mezcla de disolventes de distinta polaridad que se encarga de impulsar la muestra desde el sistema de inyección a través de la columna hasta llegar al detector.

Para la elución de los analitos de la columna se ha empleado un programa de gradiente en el que la composición de la fase móvil cambia a lo largo del tiempo de análisis, de forma que los compuestos que se detectan en primer lugar son los más polares.

El equipo de HPLC empleado en este estudio presenta los siguientes componentes (Figura 5):

- Depósito de disolventes. Recipientes que contienen la fase móvil del sistema, disolventes con polaridades diferentes.
- Sistema de bombeo (bomba). Está constituida fundamentalmente por materiales inertes, resistentes a la corrosión, y debe generar presiones altas (hasta 400 bares), flujo libre de pulsaciones y caudales entre 0,1 y 10 mL/min (Botella Bou, I., 2021). En el caso del estudio, la bomba funciona con altas presiones de salida, caudales constantes de 1 mL/min y elución mediante gradiente.
- Sistema de inyección. El sistema empleado es un inyector automático que permite la inyección de volúmenes pequeños y reproducibles.
- Columna cromatográfica. Se trata de un cilindro de acero inoxidable relleno de un sorbente apolar particulado. En el caso de estudio, la fase estacionaria está formada por partículas de 5 μm de diámetro y una estructura de cadenas orgánicas con 18 carbonos, denominada C18. Previo a la columna, se coloca una precolumna con la finalidad de proteger la columna, retener posibles partículas sólidas no deseadas y saturar la fase móvil para minimizar pérdidas en la columna.
- Detector. El sistema de detección se encarga de registrar la señal a lo largo del tiempo. Debe presentar una adecuada sensibilidad, buena estabilidad y reproducibilidad, y una respuesta lineal para los analitos en diferentes órdenes de concentración. Además, debe trabajar adecuadamente a altas temperaturas, tener un tiempo de respuesta corto y una alta fiabilidad, sin ser destructivo con la muestra. El detector que se ha usado en el presente proyecto es un detector de fila de diodos (DAD) que permite registrar la señal de absorbancia a lo largo del tiempo a distintas longitudes de onda. Para el análisis de los herbicidas fenoxiácidos, se ha registrado la absorbancia a 230 a lo largo del tiempo.
- Sistema para registrar la señal procedente del detector. Se trata de un ordenador que lleva incorporado un software, que permite controlar el programa de análisis (caudal, composición de la fase móvil, tiempo de análisis, volumen de inyección, etc.), así como mostrar y almacenar la señal del detector a lo largo del tiempo.

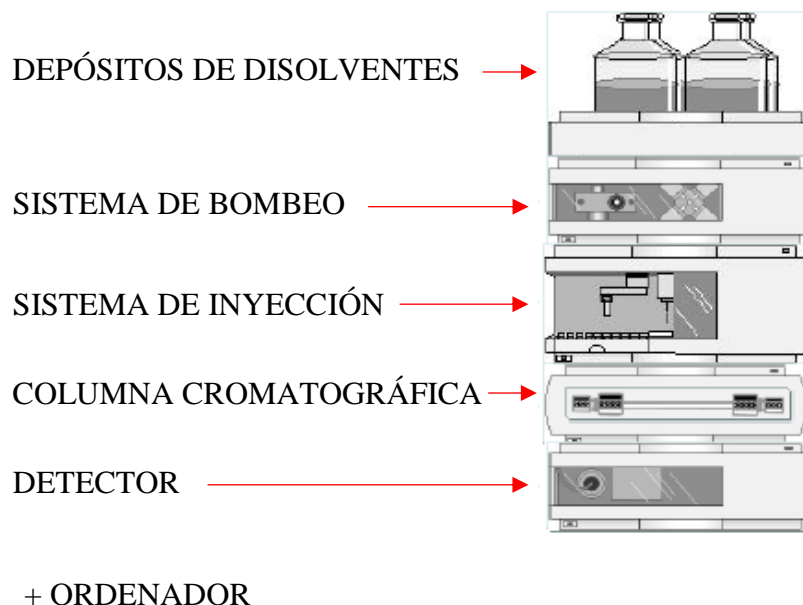


Figura 5. Esquema del equipo HPLC. Fuente: elaboración propia.

Tras el análisis, el sistema de registro de señal muestra el cromatograma (Figura 6), registro de la señal a lo largo del tiempo de análisis (Gomis, V., 2008). El cromatograma presenta las siguientes partes fundamentales (Botella Bou I., 2021).

- Línea base (LB). Señal que proporciona la fase móvil, en ausencia de los compuestos de elución.
- Tiempo muerto (t_m). Es el tiempo al que llegan al detector los componentes que no se retienen en la fase estacionaria.
- Tiempo de retención (t_r). Es el tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición de un pico debido a alguno de los componentes retenidos por la fase estacionaria. El tiempo de retención es característico de cada compuesto en las condiciones cromatográficas de trabajo.
- Pico cromatográfico. Cuando uno de los componentes de la mezcla llega al detector se observa la aparición de un pico en el cromatograma. La concentración de analito en la mezcla puede ser cuantificada midiendo el área de pico, la altura de pico o la anchura del pico a mediana altura. Para el caso de estudio, el parámetro de cuantificación empleado es el área de pico, definida como el área comprendida bajo a línea del pico hasta la línea base (Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines, 2023).

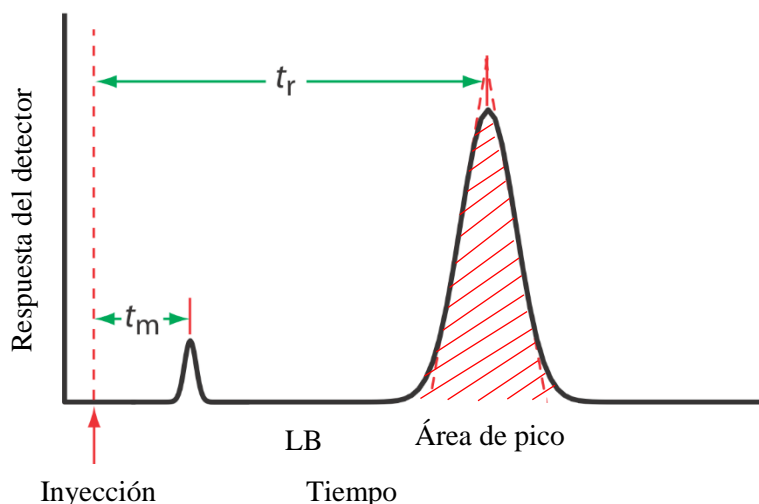


Figura 6. Cromatograma con sus partes características. Fuente: figura modificada de “Teoría General de la Cromatografía en Columna” (LibreTexts, 2020).

1.6 Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica diseñada para la preparación, purificación selectiva y preconcentración, de una muestra líquida previo al análisis cromatográfico. En la SPE, se aíslan uno o más analitos de la muestra, adsorbiéndolos en una fase estacionaria sólida (MERCK, 2023), que se encuentra confinada habitualmente en un cartucho de extracción (Figura 7).



Figura 7. Cartucho empleado en el proceso de extracción en fase sólida para la extracción de los fenoxiácidos de las matrices acuosas. Fuente: elaboración propia.

El tratamiento de preparación de la muestra mediante SPE permite cambiar de la matriz compleja original de una muestra a un entorno de matriz que se podría considerar más sencillo al desecharse todos los componentes que no se retienen selectivamente en el sorbente. Este tratamiento permite que la muestra esté más limpia para el análisis cromatográfico posterior, lo que permitirá ampliar la vida útil del sistema (MERCK, 2023).

Durante el proceso SPE se hace pasar un volumen conocido de muestra a través del sorbente sólido empaquetado en un cartucho, favoreciéndose mediante las condiciones de extracción la absorción preferencial del analito sobre el sorbente frente a otros compuestos que presenta la matriz acuosa. Tras la absorción, el analito se recupera del sorbente extrayéndolo mediante un pequeño volumen de un disolvente o mezcla de disolventes adecuada.

Un procedimiento óptimo de SPE puede permitir:

- Eliminar posibles interferencias que provocan un elevado ruido de fondo, picos erróneos o poca sensibilidad durante la cromatografía.
- Proteger la columna de posibles contaminantes.
- Cambiar las matrices de muestra para que sean más compatibles con el método cromatográfico deseado.
- Concentrar los analitos (enriquecimiento de trazas), aumentando la sensibilidad del análisis. La preconcentración de los analitos se consigue haciendo pasar un volumen grande de muestra por el sorbente seleccionado y eluyendo los analitos con el mínimo volumen posible. Esta es, sin duda, una de las grandes ventajas de la aplicación de un tratamiento de SPE.

La extracción en fase sólida consta de las etapas que se definen seguidamente (Figura 8) (Pérez Conde et al., 2002):

- Activación o solvatación. La activación del sorbente y de sus grupos funcionales, se consigue al pasar por la fase estacionaria un volumen de disolvente de polaridad intermedia como el metanol. El disolvente crea una capa de polaridad intermedia que permite a las cadenas orgánicas, desplegarse en el medio de una forma ordenada. Por lo tanto, se genera una mayor exposición de los centros activos a la disolución de la muestra, y se consigue un aumento del rendimiento y de la reproducibilidad.
- Acondicionamiento. La fase estacionaria se acondiciona con el mismo disolvente de la matriz de la muestra. En esta etapa cualquier solvente orgánico residual se elimina.
- Carga. Con el sorbente en las condiciones adecuadas, se procede a transferir un determinado volumen de muestra que contiene el analito y otras especies que no interesan. Para obtener la máxima eficacia, se debe controlar el caudal de paso de la muestra (mediante una estación de vacío).
- Lavado. Tras la etapa de carga, se hace pasar por el sorbente un pequeño volumen de disolución de lavado, permitiendo eliminar los componentes de la matriz de la muestra que no sean retenidos en el sorbente, de modo que se consigue la limpieza de la muestra. Durante esta etapa, el analito debe permanecer retenido en el sorbente.
- Secado. Se debe secar el sorbente que ha retenido el analito, eliminando restos del disolvente de la muestra.

- **Elución.** Se hace pasar un pequeño volumen de disolvente que permita extraer el analito del sorbente de forma cuantitativa.

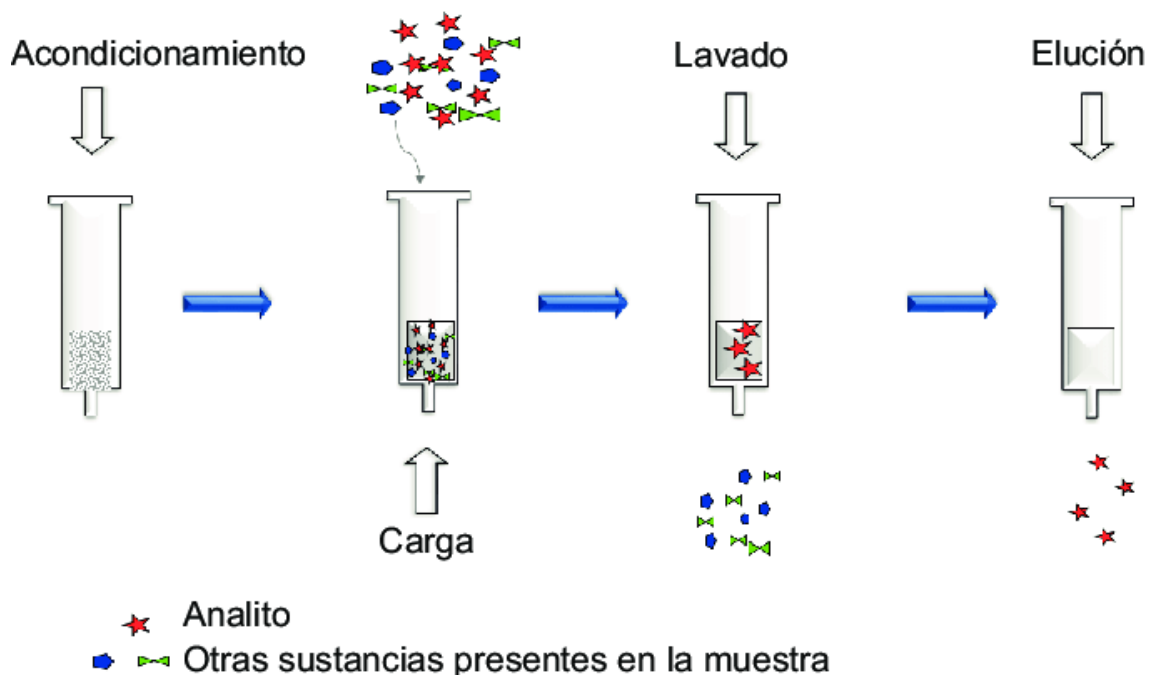


Figura 8. Mecanismo de extracción en fase sólida. Fuente: Análisis de contaminantes ambientales con polímeros de impronta molecular (Soledad Rodríguez, 2020).

En el presente estudio, previo al análisis cromatográfico, las muestras de agua tomadas se someterán a un tratamiento previo mediante SPE, empleando cartuchos comerciales convencionales SDB-L, que contiene un sorbente de estireno di-vinil benceno selectivo a la extracción de compuestos ácidos. Así, los compuestos fenoxiácidos presentes en las muestras quedarán retenidos en el sorbente, y, posteriormente, se eluirán del mismo mediante un volumen pequeño de disolvente orgánico, consiguiendo tras esta etapa la limpieza de la muestra y la preconcentración de los analitos.

2. Objetivos

2.1. Objetivos principales

Los objetivos principales que se persiguen en el presente estudio se detallan a continuación:

- ✓ Analizar las concentraciones de herbicidas fenoxiácidos (2,4-D, MCPA, MCPB, MCPP) en muestras de agua, suelo y arroz recogidas en un campo de cultivo del arroz a lo largo del periodo de cultivo, mediante la aplicación de la técnica analítica SPE-HPLC-DAD.
- ✓ Evaluar posibles variaciones de concentración de los herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio en el agua y suelo a lo largo de las distintas etapas del ciclo anual del cultivo del arroz.
- ✓ Evaluar la presencia de herbicidas fenoxiácidos en agua de la Albufera de Valencia en diferentes momentos a lo largo de un año.

2.2. Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios que se pretenden abordar en el estudio se resumen a continuación:

- ✓ Determinar si las muestras analizadas presentan niveles de concentración de herbicidas fenoxiácidos que sobrepasan los valores establecidos por la legislación en las distintas etapas del cultivo del arroz y a lo largo del año en el lago de la Albufera.
- ✓ Interpretar si la presencia de herbicidas fenoxiácidos en lago de la Albufera de Valencia se pueden relacionar con su aplicación durante el periodo de cultivo del arroz.
- ✓ Evaluar si se superan los umbrales ecotoxicológicos que puedan afectar al ecosistema terrestre y acuático del Parque Natural de la Albufera.

3. Material y métodos

Para las diferentes muestras (suelo, agua y arroz) el procedimiento de tratamiento de muestra es diferente, por lo que el material y los métodos a emplear son distintos. A continuación, se especifica el material empleado a lo largo del presente estudio (reactivos y disoluciones, material de laboratorio, aparatos e instrumentos), así como los distintos métodos empleados en el tratamiento de muestra, extracción en fase sólida y análisis cromatográfico de los herbicidas fenoxiácidos para cada una de las matrices.

3.1 Material

3.1.1 Reactivos químicos y disoluciones

Para la determinación de los herbicidas fenoxiácidos se han empleado los siguientes reactivos químicos:

- 2,4-D.
- Acetato de sodio (CH_3COONa).
- Acetonitrilo (CH_3CN)
- Ácido clorhídrico (HCl).
- Ácido fosfórico (H_3PO_4).
- Diclorometano (CH_2Cl_2).
- Disolución patrón que contiene los 4 herbicidas (20 ppm).
- Disoluciones tampón de pH 4 y 7.
- Hidróxido sódico (NaOH).
- MCPA.
- MCPB.
- Mecoprop (MCP).)
- Metanol (CH_3OH).
- Sulfato de magnesio anhidro (MgSO_4).
- Sulfato de sodio (Na_2SO_4).
- Tampón fosfato (25 mM de pH 2,9).

En la preparación de disoluciones acuosas en el laboratorio se ha empleado siempre agua milli-Q. Las disoluciones madre individuales de cada uno de los herbicidas fenoxiácidos (500 mg/L), así como la disolución mezcla de trabajo (mezcla de los 4 herbicidas de 20 mg/L c/u) y las disoluciones mezcla patrón de calibrado se han preparado en metanol.

3.1.2 Material específico

Además de material habitual de laboratorio de química (vasos de precipitados, matraces, pipetas, cuentagotas, embudos de decantación, etc.), se ha empleado el siguiente material específico:

- Cartuchos Strata™ SDB-L para el proceso de extracción en fase sólida (SPE).
- Filtros de jeringa de PTFE de 0,22 micras.
- Filtros de Nylon de 0,45 micras.
- Tamiz de 2 mm de paso de luz.

3.1.3 Aparatos e instrumentos

Los aparatos e instrumentos de laboratorio utilizados en la realización del estudio son los siguientes:

- Agitador magnético.
- Agitador vórtex.
- Balanza analítica de precisión.
- Baño de ultrasonidos.
- Centrífuga.
- Equipo de filtración conectado a bomba de vacío.
- Estufa.
- pH-metro.
- Rotavapor.
- Colector de vacío de 24 posiciones para la extracción en fase sólida (SPE).
- Instrumento de HPLC Agilent, equipado con una bomba cuaternaria con desgasificador, un inyector automático, un detector espectrofotométrico de fila de diodos, una precolumna, una columna C18 y un sistema informático de recogida de datos.

3.2 Métodos

3.2.1 Recogida, conservación de las muestras y tratamiento de extracción de los herbicidas

A continuación, se detallan el proceso de recogida de muestra y su conservación hasta el análisis, así como el tratamiento de extracción de los herbicidas empleando para cada una de las matrices estudiadas: suelo, arroz y agua.

3.2.1.1 Muestras de suelo

Las muestras de suelo obtenidas de la parcela de cultivo del arroz se tomaron en diferentes periodos del cultivo del arroz. Concretamente, las muestras de suelo se recolectaron en los meses de octubre del año 2022, y enero y abril del año 2023.

Durante el mes de octubre, el campo de cultivo se había acabado de cosechar. La muestra recogida del mes de enero coincide con el terreno del campo previo a la inundación invernal o “Perellonà”, y la muestra que se ha recolectado del mes de abril coincide con la previa inundación estival del campo para la siembra del arroz.

La recogida de la muestra, se realizó en la entrada de la parcela del campo de cultivo mediante el uso de una cuchara de plástico y se depositó el suelo en un recipiente de plástico (Figura 9). A su llegada al laboratorio, las muestras se etiquetaron y se conservaron en el congelador. Previo al proceso de extracción y análisis, las muestras se descongelaron y se secaron al aire (4-5 días) para eliminar la humedad. Una vez secas, se molturaron y tamizaron con un tamiz de 2 mm de paso de luz.

A continuación, se realiza la extracción de los herbicidas fenoxiácidos mediante un proceso que combina una extracción sólido-líquido con extracciones líquido-líquido (Hu et al., 2012), cuyas etapas se detallan a continuación.

El proceso de extracción se realizó a cada muestra de suelo por triplicado.

En primer lugar, se pesaron 20 gramos de suelo en un vaso, se añadieron 60 mL de metanol-agua (1:1, v/v) y se agitaron durante 30 min (Figura 10). El extracto se filtró al vacío mediante un embudo Buchner. El residuo sólido se trató de nuevo con 20 mL de la mezcla metanol-agua durante 20 minutos, y se filtró de nuevo. El filtrado se combinó y se transfirió a un embudo de decantación de 250 mL.

A continuación, se añadieron al filtrado unas gotas de hidróxido sódico 6M hasta un pH superior a 10 en presencia de 30 mL de disolución acuosa de sulfato de sodio al 2%. El filtrado se repartió con diclorometano tres veces secuencialmente (3 x 20 mL) y el extracto orgánico se descartó (Figura 11). En esta etapa, los herbicidas están en forma iónica, y permanecen en la fase acuosa.

Después de acidificar la fase acuosa con ácido clorhídrico concentrado hasta pH entre 2-3, el filtrado se repartió de nuevo con diclorometano tres veces secuencialmente (3 x 20 mL). En esta etapa, se descartó la fase acuosa y los herbicidas que estaban en su forma ácida permanecieron en la fase orgánica. El extracto de diclorometano combinado se evaporó hasta sequedad mediante el rotavapor (Figura 12) a 60 °C y el residuo se disolvió en 2 mL de metanol, se filtró y se inyectó en el cromatógrafo para su análisis.



Figura 9. Muestra de suelo recogida en la parcela de arroz. Fuente: elaboración propia.



Figura 10. Agitación del suelo en contacto con el metanol-agua (1:1, v/v). Fuente: elaboración propia.



Figura 11. Reparto del filtrado de suelo con diclorometano. Fuente: elaboración propia.



Figura 12. Equipo de rotavapor empleado para evaporación a sequedad de la fracción líquida obtenida tras el tratamiento de la muestra de suelo. Fuente: elaboración propia.

3.2.1.2 Muestra de arroz

Respecto a las muestras de arroz (*Oryza sativa* L.), se recogió una muestra en el campo de cultivo seleccionado durante el mes de octubre de 2022, previa siega del campo (Figura 13) y, por otra parte, se compró arroz comercial.

En relación con la muestra tomada en el campo de arroz, se tomó una pequeña rama de la parte alta de la planta de arroz y se guardó en un recipiente de plástico, conservándola en un lugar seco (Figura 14). Posteriormente, se trituró antes de la extracción y análisis de los fenoxiácidos por triplicado. Y en cuanto a la muestra de arroz comercial, se trituraron los granos de arroz mediante una picadora antes de la extracción y análisis de los fenoxiácidos por triplicado.

Para la extracción de los herbicidas de las muestras de arroz, se aplicó un proceso de extracción sólido-líquido. Para ello, se colocaron 10 g de la muestra en un tubo de centrifugación de 50 mL. Seguidamente, se agregaron 20 mL de ácido acético al 1% (v/v) en acetonitrilo. La mezcla resultante se agitó a 300 rpm durante 10 minutos empleando un agitador vórtex (Seebunrueng et al., 2019).

A continuación, se agregaron al tubo 1 g de acetato de sodio y 15 g de sulfato de magnesio anhidro y la mezcla resultante se agitó mediante una centrífuga durante 5 minutos a 6000 rpm. Finalmente, se recogió el sobrenadante y se evaporó a sequedad empleando el rotavapor con baño de agua a 60 °C y el residuo resultante se disolvió en 2 mL de metanol, se filtró y se procedió al análisis de los fenoxiácidos mediante HPLC.



Figura 13. Estado del campo de arroz en el momento de recolección de la muestra. Fuente: elaboración propia.



Figura 14. Muestra de la planta de arroz recolectada de la parcela estudio. Fuente: elaboración propia.

3.2.1.3 Muestras de agua

En este estudio se analizaron muestras de agua tomadas en la parcela de cultivo de arroz y en el lago de la Albufera (Figura 15). Las muestras de la parcela de arroz se tomaron en la entrada de agua de la parcela (Figura 16). La mayoría de las muestras tomadas en el lago de la Albufera se tomaron de la zona del embarcadero, situado en la zona de El Saler (Figura 17), y en algunos casos, se tomaron muestras en el centro del lago y en la Gola de El Perelló.

Las muestras de agua se tomaron empleando una botella de plástico de capacidad de 1 litro. Una pequeña fracción de la muestra se conservó en un frasco de 50 mL para medir el pH original a la llegada al laboratorio. Al resto de la muestra, se le adicionó ácido clorhídrico 5M (HCl) para reducir su pH a 2-3. El día de recolección de la muestra, se anotó en los frascos la fecha y procedencia de la muestra.

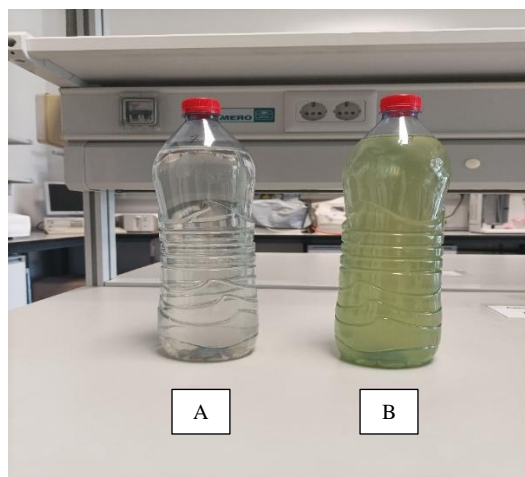


Figura 15. Muestras de agua recogidas en la parcela de cultivo de arroz (A) y en el lago de la Albufera (B). Fuente: elaboración propia.



Figura 16. Entrada de agua a la parcela de cultivo de arroz, donde se toman las muestras. Fuente: elaboración propia.

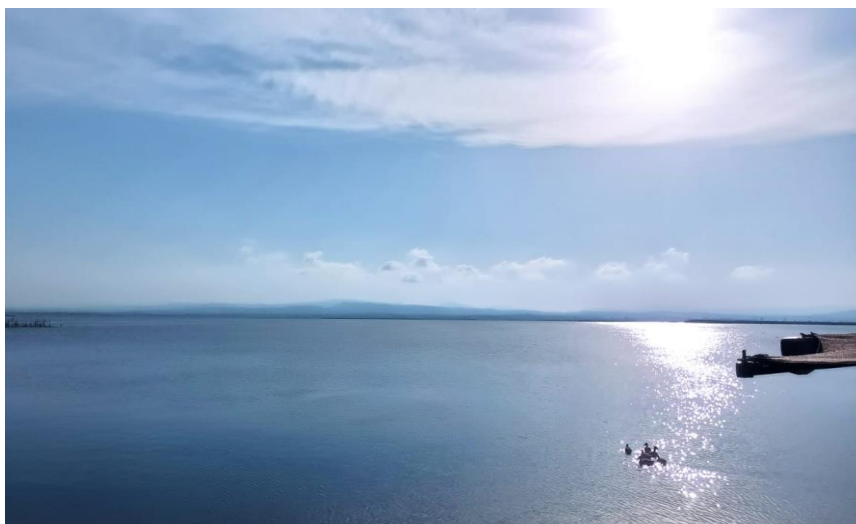


Figura 17. Toma de muestras en el embarcadero del lago de la Albufera, en la zona del Saler. Fuente: elaboración propia.

Las muestras de agua se llevaron al laboratorio tras su recolección, se procedió a medir el pH procedente de los botes de 50 mL y se anotó. Además, se ajustó el pH a 2 de las muestras recolectadas con las botellas de 1 L, para posteriormente filtrarlas con la finalidad de eliminar partículas sólidas y materia vegetal en forma de algas existentes en las muestras, más notables en las muestras recolectadas en el lago de la Albufera que en la parcela de cultivo de arroz. Tras la filtración, las muestras se conservaron mediante congelación.

Cabe destacar que las muestras se descongelaron el día previo a ser analizadas en el laboratorio y se ajustó el pH de la muestra alrededor de 6.

Previo al análisis cromatográfico, se aplicó el proceso de extracción en fase sólida (SPE) a cada una de las muestras de agua recogidas empleando los cartuchos SDB-L. El proceso se aplicó a cada muestra por triplicado y, además, a una réplica de la muestra aditivada con la mezcla de los 4 herbicidas (Concentración inicial, $C_i = 10$ ppb; Concentración final, $C_f = 0,5$ ppm). El proceso de extracción en fase sólida, consistió en las siguientes etapas:

1. Acondicionamiento de los cartuchos de extracción con 3 mL de metanol y 5 mL de agua.
2. Carga de la muestra: aplicación de 100 mL de muestra o 100 mL de muestra aditivada. Se han tratado habitualmente de forma simultánea varias muestras distintas mediante el uso del colector de vacío (Figura 18)
3. Lavado del sorbente mediante la adición de 2 mL de agua mili-Q.
4. Secado del sorbente durante 10 minutos aumentando la presión con la finalidad de eliminar los restos de disolvente de la muestra.

5. Elución de los analitos adsorbidos en el sorbente empleando metanol. Para ello, se adiciona 1 mL de metanol, se deja secar durante 1 minuto, aumentando también la presión en el momento de secado. Y, posteriormente, se añade 1 mL más de metanol y se hace pasar también bajo presión hasta que el sorbente queda seco. La disolución recogida en la etapa de elución se enrasa con un cuentagotas hasta un volumen final de 2 mL.
6. Los extractos de elución se filtran y se depositan en viales para el análisis mediante HPLC.

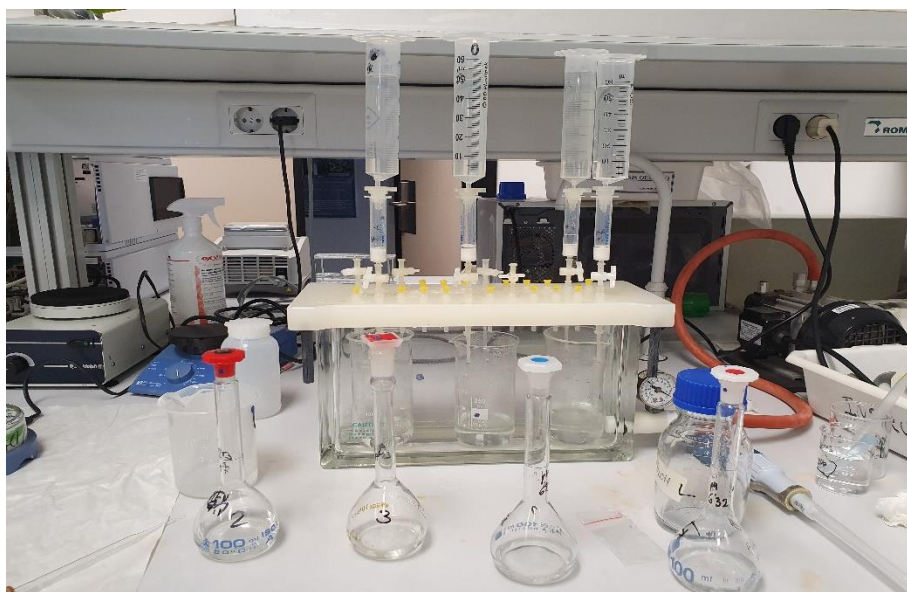


Figura 18. Colector de vacío para extracción en fase sólida. Fuente: elaboración propia.

3.2.2 Análisis cromatográfico

Para cada una de las muestras ensayadas, tras el proceso de extracción aplicado, se analizaron las concentraciones de 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB en las fracciones obtenidas mediante HPLC-DAD. El análisis cromatográfico se abordó mediante un cromatógrafo Agilent equipado con una columna C18 (100 μm , i.d. 4 cm, longitud 10 cm) acoplada a un detector de fila de diodos, empleando una longitud de onda de medida de 230 nm.

Para el análisis, se empleó un gradiente de fase móvil que se inicia con un 40% de acetonitrilo y un 60% de tampón fosfato 25 mM a pH 2,9. A los 6 minutos, 65% de acetonitrilo y 35% de tampón fosfato 25 mM a pH 2,9. A los 7 minutos, se vuelve a la composición inicial, 40% de acetonitrilo y 60% de tampón fosfato 25 mM a pH 2,9 y se mantiene esta composición hasta los 10 minutos. La velocidad de flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min, y el volumen de fracción extraída inyectado fue en todos los casos de 20 μL .

4. Resultados

A continuación, se describen los resultados obtenidos en este trabajo. En primer lugar, se describen los parámetros de calidad del método cromatográfico usado para la determinación de los fenoxiácidos en las muestras, y después se explican los resultados obtenidos al analizar las muestras de agua del campo, del agua de la Albufera, así como de las muestras de suelo y arroz del campo, además de una muestra de arroz comercial.

4.1 Análisis cromatográfico: rectas de calibrado y figuras de mérito

Las fracciones obtenidas tras someter las muestras de agua, suelo y arroz al tratamiento de extracción correspondiente (SPE o extracción sólido-líquido), se analizaron mediante HPLC-DAD.

Para llevar a cabo el análisis cromatográfico de los herbicidas en las fracciones de elución, se preparó una serie de disoluciones patrón de calibración de los 4 herbicidas (2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB) en metanol a partir de la disolución de trabajo de la mezcla de los 4 herbicidas, de concentración de 20 ppm de cada uno en metanol. Las concentraciones de los patrones de calibrado que se han empleado fueron: [0,035; 0,065; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,75; 1] mg/L.

En la Figura 19 se detalla el cromatograma de los herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio y los tiempos de retención para el 2,4-D (t_r de 3,61 min), MCPA (t_r de 3,822 min), MCPP (t_r de 4,863 min) y MCPB (t_r de 5,842 min).

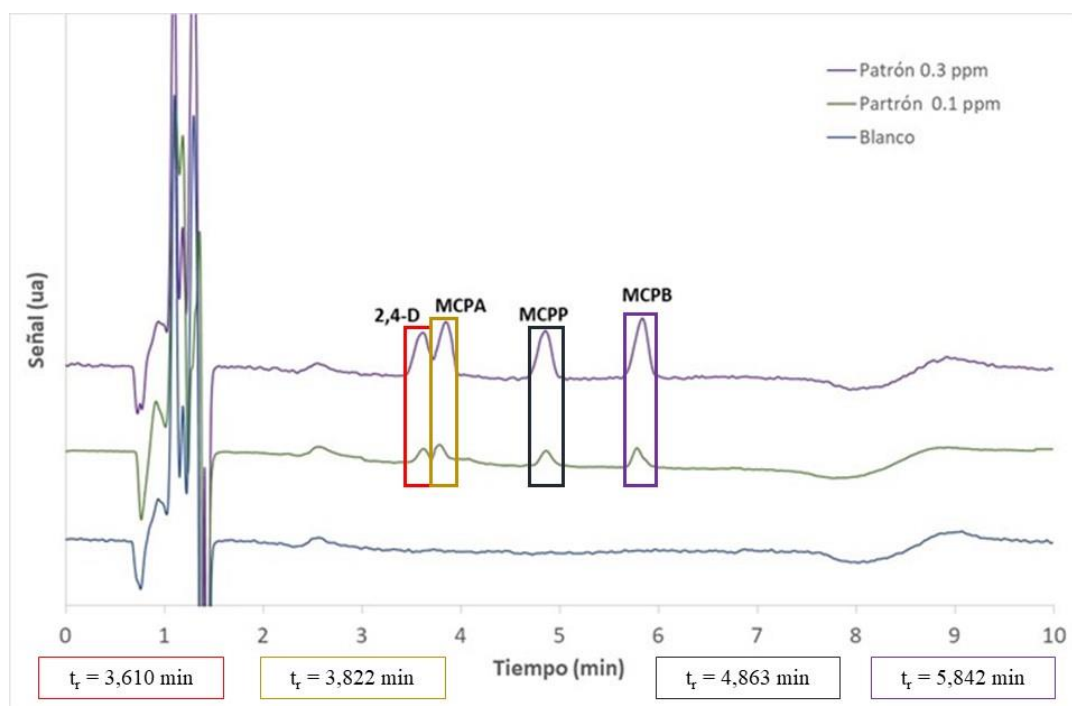


Figura 19. Cromatogramas de: blanco y mezclas patrón de 0,1 y 0,3 ppm para la identificación de los herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio, con sus tiempos de retención. Fuente: elaboración propia.

Tras el análisis cromatográfico de las disoluciones, se obtuvo la recta de calibrado para cada herbicida, en la que se representa el *Área* de su pico frente a la *Concentración* (C , mg/L), y se obtiene una relación lineal en el intervalo de concentraciones especificado. La recta se define de la siguiente forma:

$$\text{Área} = (a \pm s_a) + (b \pm s_b) \cdot C \quad (1)$$

Donde “*Área*” es el área obtenida en el cromatograma para cada herbicida objeto de estudio según su tiempo de retención, “ C ” la concentración de cada herbicida en mg/L (ppm), “ b ” la pendiente de la recta y “ a ” la ordenada en el origen, con sus respectivas desviaciones estándar (s_b es la desviación estándar de la pendiente y s_a es la desviación estándar de la ordenada en el origen).

En la Tabla 2 se definen los distintos parámetros de las rectas de ajuste lineal obtenidas en el proceso de calibración, para cada uno de los herbicidas objeto de estudio, junto con el coeficiente de correlación (R^2) e intervalo lineal de concentraciones (en mg/L).

Tabla 2. Parámetros de las rectas del calibrado. Fuente: elaboración propia.

Herbicida	Pendiente de la recta ($b \pm s_b$)	Ordenada en el origen ($a \pm s_a$)	Coefficiente R^2	Intervalo lineal (mg/L)
2,4-D	$41,9 \pm 0,6$	$-0,1 \pm 0,2$	0,9988	0,1 – 1
MCPA	$48,6 \pm 0,5$	$0,24 \pm 0,16$	0,9994	0,065 – 1
MCPD	$45,4 \pm 0,5$	$0,13 \pm 0,15$	0,9994	0,065 – 1
MCPB	$50,7 \pm 0,7$	$0,6 \pm 0,3$	0,9987	0,035 – 1

A continuación, se dedujeron los límites de detección y cuantificación experimentales para cada herbicida en las distintas matrices estudiadas. El límite de detección (LOD) se define como la cantidad más baja del analito que se puede detectar, y es la que produce una señal que es, a nivel experimental, al menos tres veces el nivel de ruido promedio del detector. Por su parte, el límite de cuantificación (LOQ) es la concentración más baja del analito que se puede cuantificar dentro de los límites definidos en el intervalo de confianza. Experimentalmente, el LOQ es la concentración que se corresponde, al menos, 10 veces el nivel de ruido promedio del detector (Ciencias y datos, 2023).

A partir de los LODs y LOQs experimentales, se han calculado los LODs y LOQs para cada matriz (agua, suelo y arroz), teniendo en cuenta el proceso de extracción empleado.

En el caso de las muestras de agua, se ha dividido el valor experimental de LOD y LOQ en mg/L por el factor de concentración empleado en el tratamiento de extracción en fase sólida (50); en las muestras de suelo y arroz, se ha multiplicado el valor experimental de LOD y LOQ en mg/L por el volumen obtenido tras la extracción (en L) y dividido por la masa en Kg de suelo o de arroz.

En la Tabla 3, se muestran los LODs y LOQs para cada herbicida en las distintas matrices ensayadas:

Tabla 3. Límites de detección y cuantificación para los herbicidas fenoxiácidos en muestras de agua, suelo y arroz.
Fuente: elaboración propia.

Herbicida	Aguas (ppb)		Suelo (mg/Kg)		Arroz (mg/Kg)	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
2,4-D	0,6	2	0,06	0,2	0,12	0,4
MCPA	0,4	1,3	0,04	0,13	0,08	0,26
MCPP	0,4	1,3	0,04	0,13	0,08	0,26
MCPB	0,2	0,7	0,02	0,07	0,04	0,14

En relación con la precisión del método, que indica la dispersión del análisis, se detalla en la Tabla 4 el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) para cada plaguicida a distintos niveles de concentración. El %CV se ha calculado como:

$$\%CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (2)$$

Donde “s” es la desviación estándar de una serie de 3 réplicas de la señal medida y \bar{x} el valor medio de la señal medida.

Tabla 4. Coeficiente de variación para cada herbicida a diferentes niveles de concentración. Fuente: elaboración propia.

Herbicida	Concentración (ppm)	Coeficiente de Variación (%)
2,4-D	0,1	4,4
	0,3	4,6
	0,5	1,4
MCPA	0,065	5,5
	0,3	1,3
	0,5	2,1
MCPP	0,065	12
	0,3	4,2
	0,5	3,6
MCPB	0,035	8,6
	0,3	3
	0,5	2,2

A la vista de los %CV para los distintos herbicidas a las distintas concentraciones, se deduce que el método posee una buena precisión, ya que el porcentaje del coeficiente de variación es inferior al 10% en todos los casos, excepto para el MCPP cuyo %CV es ligeramente superior a una concentración de 0,065 ppm.

Respecto a la exactitud del método, que indica la cercanía del valor medio experimental al valor verdadero, se evalúa mediante el porcentaje de error relativo (%Er) para cada herbicida objeto de estudio tras el proceso SPE-HPLC. El %Er se calcula como:

$$\%Er = \frac{C_f - C_o}{C_o} \times 100 \quad (3)$$

Donde C_f es la concentración final de herbicida hallada tras el proceso SPE-HPLC, y C_o es la concentración inicial del herbicida en el patrón procesado. En este caso, se ha calculado el %Er únicamente a un nivel de concentración intermedio (0,5 mg/L). En la siguiente tabla, se detallan los %Er para cada herbicida (Tabla 5):

Tabla 5. Porcentaje de error relativo para cada herbicida tras el proceso SPE-HPLC, para una concentración de 0,5 ppm de cada herbicida. Fuente: elaboración propia.

Herbicida	Error relativo (%)
2,4-D	3,03 %
MCPA	3,8 %
MCP	-7,5 %
MCPB	6,3 %

Los %Er inferiores al 10% indicaron que el proceso completo, SPE-HPLC, proporciona resultados exactos al trabajar con disoluciones patrón.

Con la finalidad de evaluar la exactitud del proceso completo SPE-HPLC al trabajar con muestras reales, se aditivó cada una de las muestras de agua del campo y de la Albufera con una concentración de 0,5 ppm de cada herbicida y se calculó el porcentaje de recuperación de la concentración aditivada (%Rec) como:

$$\%Rec = \frac{C_f}{C_o} \times 100 \quad (4)$$

Donde C_f es la concentración final de herbicida hallada tras el proceso SPE-HPLC, y C_o es la concentración inicial del herbicida aditivada. Seguidamente, se detallan los porcentajes de recuperación medios para cada herbicida (teniendo en cuenta todas las muestras analizadas) y según el tipo de muestra (Tabla 6):

Tabla 6. Porcentaje de recuperación por herbicida según el tipo de muestra de agua (campo de arroz El Ràfol y la Albufera). Fuente: elaboración propia.

Herbicida	Tipo de muestra	
	Campo de arroz (El Ràfol)	Albufera
2,4-D	94 ± 20 %	88 ± 10 %
MCPA	98 ± 9 %	86 ± 7 %
MCP	97 ± 8 %	88 ± 9 %
MCPB	92 ± 11 %	70 ± 9 %

Los porcentajes de recuperación, se encuentran entre el 80% y el 98%, en todos los casos, excepto para el MCPB en las muestras de agua de Albufera. En este sentido, se puede afirmar que la determinación de los 4 herbicidas en muestras de agua del campo de arroz mediante SPE-HPLC resulta exacta; sin embargo, en muestras de agua de la Albufera, la determinación mediante SPE-HPLC resulta exacta para 2,4-D, MCPA y MCP, pero no para MCPB, ya que está establecido que los resultados son adecuados cuando los porcentajes de recuperación están entre 80-120% (Skoog et al., 2018). Las recuperaciones han sido ligeramente inferiores con las muestras de la Albufera si se comparan con las recuperaciones obtenidas para las muestras de agua del campo.

4.2 Presencia de los herbicidas en las muestras de agua del campo

Para evaluar la presencia de los herbicidas en las muestras recolectadas, tras el proceso de SPE-HPLC aplicado a cada muestra por triplicado, se procede a estudiar los cromatogramas obtenidos. Para cada réplica, se observa la aparición o no de un pico a tiempo de retención definido de cada herbicida. Si lo hay, se mide el área de pico y se deduce la concentración que corresponde a partir de las rectas de calibrado para cada herbicida (Apartado 4.1).

Además de las 3 réplicas de la muestra sin aditivar, se procesa una muestra aditivada con 0,5 mg/L de cada herbicida. Su cromatograma facilitará la identificación de los posibles picos correspondientes a los herbicidas en las muestras no aditivadas. A la concentración deducida, en el vial tras SPE-HPLC (ppm en los 2 mL), se le aplica el factor correspondiente ($\times 1/50$) para obtener la concentración en los 100 mL de muestra procesada. El cálculo se aplica para cada una de las tres réplicas realizadas y se obtiene el promedio de la concentración de los herbicidas en la muestra y su desviación estándar.

De la parcela de arroz de El Ràfol se han recogido 12 muestras durante la primera fase del periodo de cultivo del arroz, en el que se incluyen: la etapa de inicio de la campaña del arroz 2022 y las etapas de crecimiento y maduración durante las cuales se aplican los herbicidas objeto de estudio (en los meses de julio y septiembre), hasta el momento de la siega del arroz. El pH de las muestras recolectadas estuvo entre 7,5 y 9,4. En la Tabla 7, se resumen las concentraciones de herbicidas halladas en las muestras de agua analizadas que se comentará en más detalle para cada pesticida.

Para las muestras, en general, cuando se observan picos, las concentraciones son muy bajas, quedando en valores entre el LOD y el LOQ del método SPE-HPLC, por lo que su cuantificación es aproximada. En los casos en los que no se observa pico, se puede decir que no hay herbicida o que, si lo hay, está en una concentración inferior al LOD del método.

Además de estas 12 muestras, tras la siega, se recogieron 4 muestras más, cuyo pH estuvo entre 7,8 y 9: 3 de ellas pertenecientes a la etapa de la “Perellonà” o inundación invernal y 1 más perteneciente al inicio de la campaña del arroz 2023.

En estas 4 muestras recolectadas tras el periodo de la siega no se detectaron concentraciones de ninguno de los herbicidas objeto de estudio en las aguas recolectadas, por lo que se puede afirmar que no hay herbicidas en las aguas en este periodo o que sus concentraciones se encuentran por debajo del límite de detección del método. Estas aguas que inundan la parcela tras el periodo de la siega son, en principio, aguas limpias dado que no se produce ningún tipo de aplicación en estas fechas, por lo que parece coherente no encontrar los herbicidas en este periodo.

Tabla 7. Concentraciones de los herbicidas en las muestras de agua recogidas en la parcela de cultivo durante el periodo de inicio, crecimiento y maduración del arroz. Fuente: elaboración propia.

Muestra	Periodo del cultivo	Concentración promedio en la muestra (ppb)			
		2,4-D	MCPA	MCPP	MCPB
12/06/2022	Inicio campaña 2022	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
26/06/2022	Crecimiento y maduración	< LOD	≈ 0,8*	≈ 0,57*	≈ 0,5*
03/07/2022		< LOD	< LOD	≈ 0,94*	< LOD
14/07/2022		< LOD	≈ 0,83*	< LOD	< LOD
20/07/2022		< LOD	< LOD	≈ 1,06*	≈ 0,67*
27/07/2022		< LOD	≈ 0,48*	< LOD	≈ 0,4*
06/08/2022		< LOD	≈ 0,63*	< LOD	≈ 0,3*
19/08/2022		< LOD	≈ 0,5*	< LOD	< LOD
29/08/2022		< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
06/09/2022		< LOD	≈ 1,0*	≈ 0,45*	< LOD
19/09/2022		< LOD	≈ 0,7*	≈ 1,2*	≈ 0,31*
25/09/2022		< LOD	< LOD	≈ 0,85*	< LOD

* Concentraciones aproximadas, por debajo del límite de cuantificación (< LOQ) para muestras de agua.

A continuación, se comentarán las variaciones en las concentraciones halladas en las aguas de la parcela de cultivo de arroz para cada uno de los herbicidas, durante el periodo de cultivo, entre el inicio de la campaña 2022 y la siega.

El herbicida 2,4-D no se ha detectado en ninguna de las muestras analizadas, por lo que se estima que, o no está presente o se encuentra en concentraciones por debajo del límite de detección (LOD) del método realizado (0,6 µg/L). El 2,4-D es el que se detecta con menor sensibilidad con el método y, además, posee una alta velocidad de degradación en fase acuosa (DT₅₀ de 7,7 días, Tabla 1), lo que podría justificar que no se detecte.

Para el caso del MCPA, la variación en su concentración a lo largo de todo el periodo estudiado se describe en el gráfico de la Figura 20, en el que se puede observar un aumento de la concentración en el momento de la primera aplicación del herbicida durante el mes de julio. En el mes de agosto todavía existe concentración de MCPA en la parcela dado que lo pueden estar aplicando en parcelas adyacentes, y en la zona de estudio el agua de los campos de cultivo pasa de una parcela a la adyacente por escorrentía superficial.

En el mes de septiembre se aplica por segunda vez el herbicida, y se llega a tener en el agua concentraciones de MCPA cercanas a 1 ppb. Y, como ya se ha comentado, tras el periodo de la siega, no se detecta el herbicida ya que el agua que accede a la parcela es limpia, del mismo modo que ocurre en el inicio de la campaña de 2023.

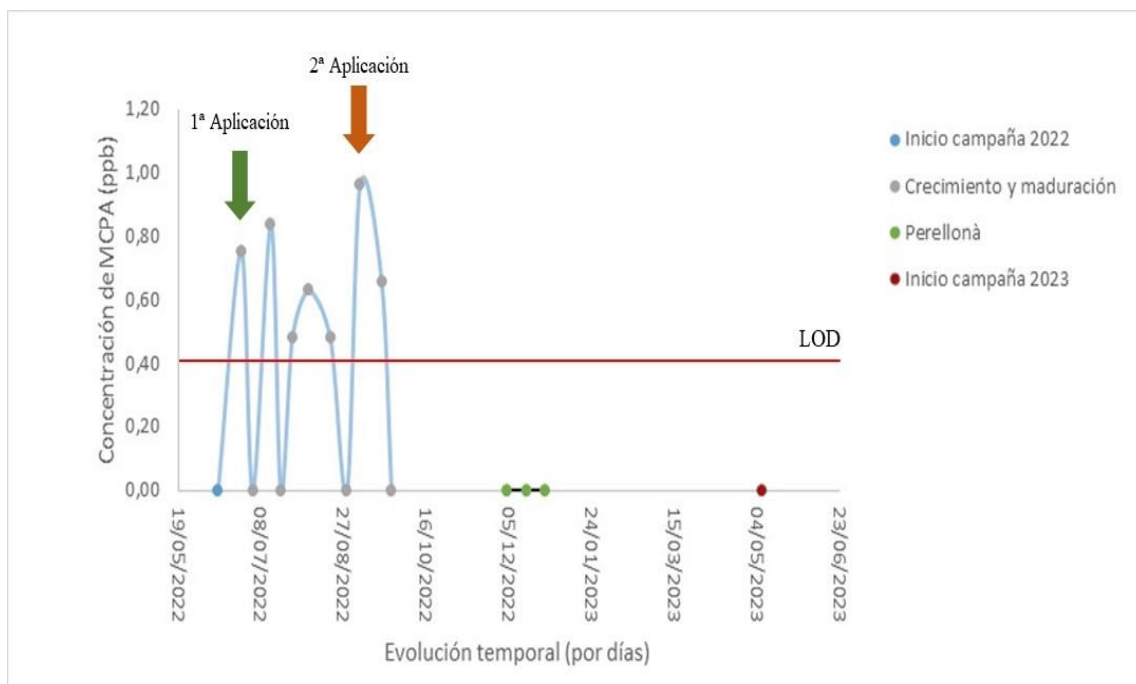


Figura 20. Evolución temporal de la concentración de MCPA en las muestras de agua de la parcela de arroz durante el ciclo anual. Fuente: elaboración propia.

En relación con el MCPP, la variación en su concentración se puede resumir en el siguiente gráfico (Figura 21). De nuevo, al igual que para el MCPA, tras la primera aplicación de los herbicidas en julio aparece el MCPP, probablemente porque suelen aplicarse juntos. Durante el mes de agosto, no se detecta MCPP en las muestras de agua recogidas, y durante el mes de septiembre, momento en que se aplican por segunda vez los herbicidas, se observa una concentración de MCPP de alrededor 1,2 ppb. Por otra parte, tampoco el MCPP se detecta tras el periodo de la siega ni en el inicio de la campaña 2023 debido al acceso de agua limpia a la parcela libre de herbicidas durante esta época.

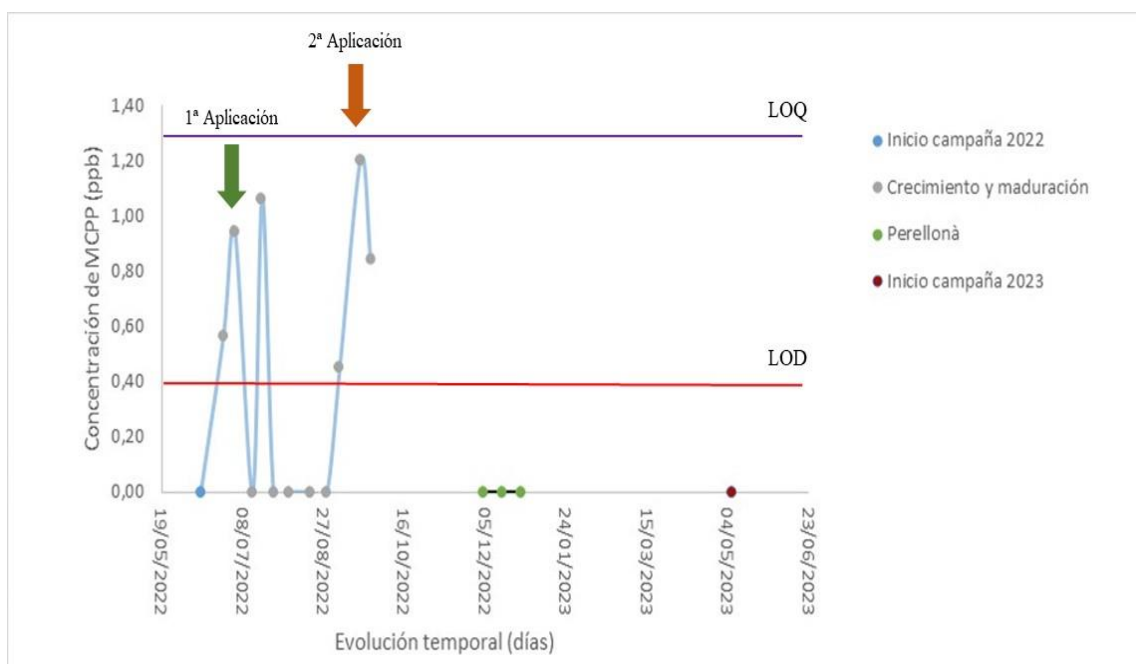


Figura 21. Evolución temporal de la concentración de MCPP en las muestras de agua de la parcela de arroz durante el ciclo anual. Fuente: elaboración propia.

Por último, el MCPB, sigue una tendencia similar al caso del MCPA y MCPP en las aguas recogidas en la parcela de cultivo de arroz (Figura 22). El MCPB se detecta en las aguas en los dos momentos clave, durante los meses de julio y septiembre. En las muestras recogidas en el mes de agosto todavía existe concentración de MCPB en la parcela dado que lo pueden estar aplicando en parcelas adyacentes. Tampoco se detecta este herbicida tras el periodo de la siega en diciembre-enero ni en el inicio de la campaña 2023.

Las concentraciones detectadas de MCPB son menores, en líneas generales, que las detectadas de MCPA y MCPP. La degradación del MCPB en fase acuosa DT_{50} es de 9,7 días, bastante menor que para el caso del MCPP y similar al caso del MCPA, según lo expuesto en la Tabla 1. De este modo, es posible que se detecten menores concentraciones dado que su degradación en el medio acuoso es más rápida o porque se aplica el herbicida en menor cantidad.

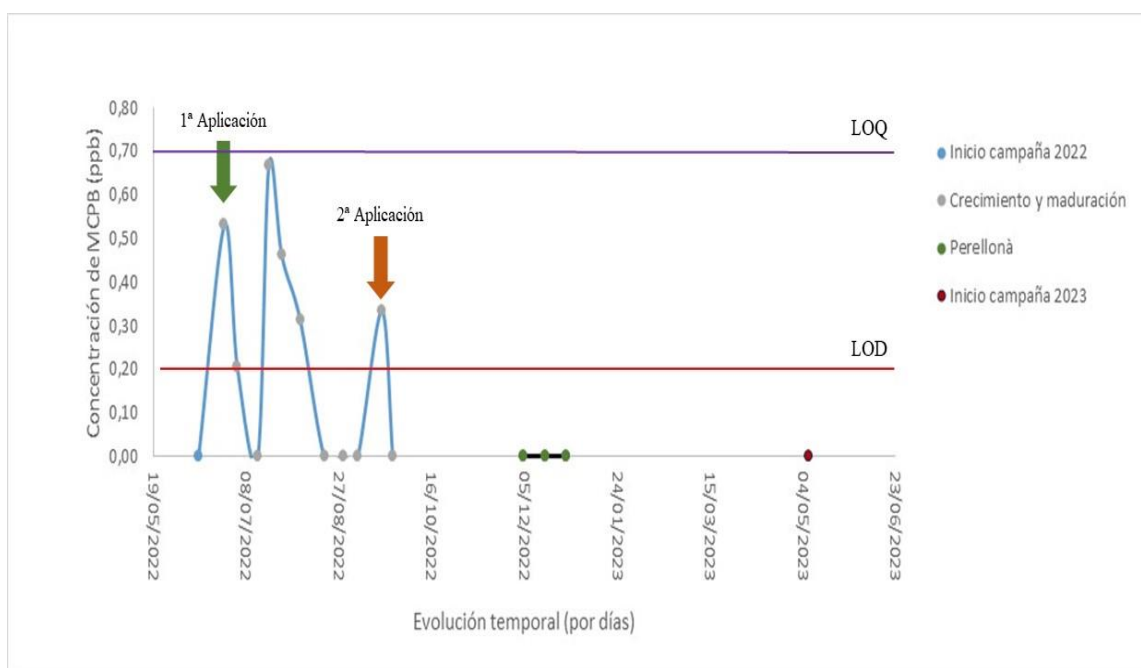


Figura 22. Evolución temporal de la concentración de MCPB en las muestras de agua de la parcela de arroz durante el ciclo anual. Fuente: elaboración propia.

Con todo esto, y teniendo en cuenta que las concentraciones halladas son aproximadas por encontrarse entre el LOD y el LOQ del método, las concentraciones mayores que se alcanzan en las aguas recogidas en la parcela de cultivo de arroz son las del herbicida MCPP, que es el herbicida que posee una menor velocidad de degradación en fase acuosa, DT_{50} de 37 días frente a 13, 7 y 9,7 días para MCPA y MCPB, respectivamente (Tabla 1), por lo que su persistencia podría ser mayor. Las diferencias en las concentraciones halladas también podrían deberse a las concentraciones a las que se aplica cada uno de los herbicidas, ya que las formulaciones comerciales contienen mezclas de los herbicidas en distintos porcentajes.

Respecto a la legislación aplicable, en ninguno de los casos se supera el límite establecido por la legislación en referencia a los vertidos de pesticidas en aguas superficiales, según lo expuesto en el Real Decreto 849/1986, definido en 0,05 mg/L (50 ppb). Como se ha comentado, las mayores concentraciones que se alcanzan son del orden de 1,20 ppb para MCPP, 1 ppb para MCPA y 0,67 para MCPB. El umbral establecido para el consumo humano de agua potable, según lo expuesto en el Real Decreto 140/2003, es de 0,1 ppb para un solo plaguicida y 0,5 ppb para el conjunto de plaguicidas, y en este caso, sí que se superan ambos umbrales, por lo que el agua de la parcela de cultivo de arroz no es apta para el consumo humano.

A modo de ejemplo, se muestra a continuación, el cromatograma obtenido para la muestra de agua recogida el 20 de julio de 2022 en la parcela de cultivo (Figura 23). En la figura, se identifican los picos para cada herbicida objeto de estudio, según su tiempo de retención definido. Para ayudar en la identificación, se muestran en la misma figura el cromatograma de un blanco y de un patrón de mezcla de los 4 herbicidas de 0,1 mg/L c/u. Como puede verse en el cromatograma de la muestra, ésta contenía MCPA, MCPP y MCPB. Delante del pico de MCPA se intuye un pico que podría identificarse como 2,4-D, pero está ligeramente adelantado, por lo que no se ha considerado que sea dicho plaguicida.

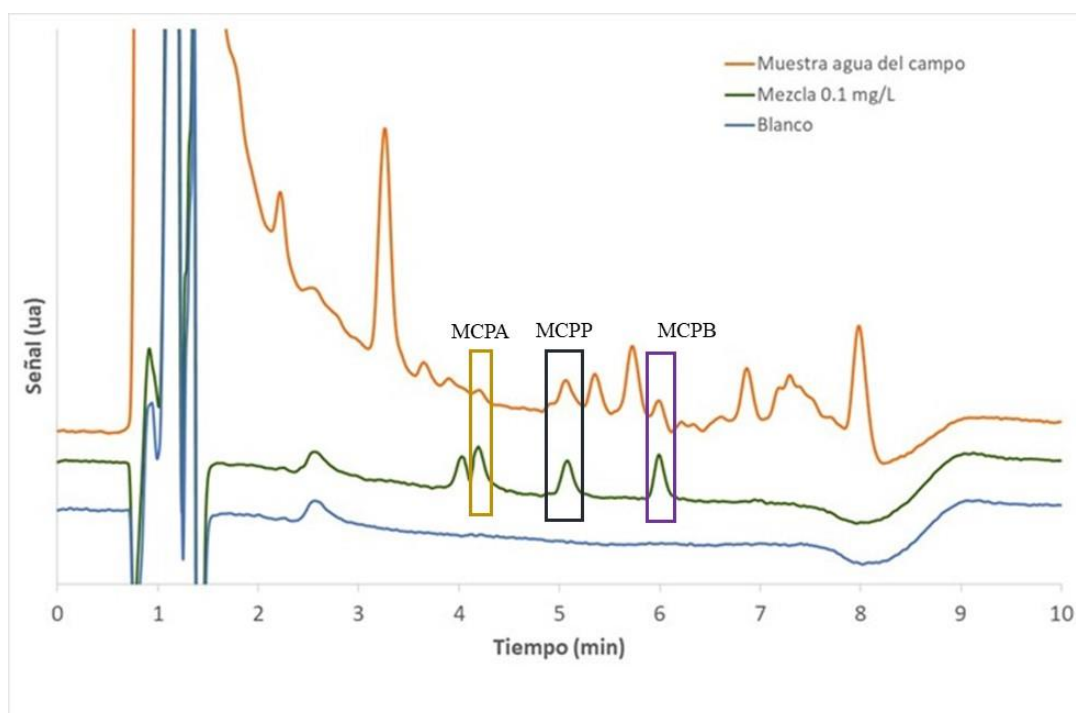


Figura 23. Cromatogramas de: blanco, mezcla patrón de los 4 herbicidas de 0,1 mg/L (c/u) y muestra de agua del campo de arroz recogida el día 20/07/2022. Fuente: elaboración propia.

4.3 Presencia de los herbicidas en las muestras de agua recogidas en el lago de la Albufera y gola del Perelló

A lo largo de un año, desde julio de 2022 y hasta junio de 2023, se han recogido 11 muestras de agua (aproximadamente 1 por mes) en la zona del embarcadero del lago de La Albufera, cuyo pH estuvo entre 8 y 8,7. También, en los meses de julio y octubre de 2022, se han recolectado 1 muestra de agua en la zona centro del lago de la Albufera (pH entre 7,9 y 8,4) y 1 muestra en la Gola de El Perelló (pH entre 8 y 8,5), para poder ver la posible variabilidad de la concentración en función del punto de muestreo.

Para evaluar la presencia de los herbicidas en las muestras recolectadas, se trabajó de forma similar a con las muestras de agua del campo. Se aplicó el proceso de SPE-HPLC a cada muestra por triplicado y además de aditivó una cuarta réplica con 0.5 mg/l de mezcla de herbicidas para facilitar la identificación de los picos. Se estudiaron los cromatogramas obtenidos para las muestras sin aditivar y, cuando había pico, se medía el área de pico y se deducía la concentración a partir de la recta de calibrado para cada herbicida. A la concentración deducida en el vial tras SPE-HPLC (ppm en los 2 mL) se le aplicó el factor correspondiente ($\times 1/50$) para obtener la concentración en los 100 mL de muestra procesada y, de las 3 réplicas sin aditivar, se obtuvo el promedio de la concentración.

4.3.1 Muestras de agua recogidas en la zona del embarcadero del lago de la Albufera

Teniendo en cuenta los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) ya definidos, se resumen seguidamente los resultados obtenidos en las muestras de agua del lago de la Albufera para cada uno de los días en los que se ha obtenido la muestra, y recogidas en la zona del embarcadero del lago (Tabla 8). En los resultados de la tabla, cuando no se detecta el herbicida, se ha indicado que su concentración es inferior al LOD del método ($< \text{LOD}$). Cuando la concentración del herbicida era entre el LOD y el LOQ, el promedio de las 3 réplicas se ha calculado y se ha señalado la concentración como aproximada (\approx , $< \text{LOQ}$). Y cuando la concentración era superior al límite de cuantificación, se señala el intervalo de la concentración como el promedio con su desviación estándar ($\bar{C} \pm s$).

Tabla 8. Concentración de herbicidas en las muestras de agua del lago de la Albufera (zona del embarcadero). Fuente: elaboración propia.

Muestra	Concentración promedio en la muestra (ppb)			
	2,4-D	MCPA	MCPB	MCPB
20/07/2022	< LOD	≈ 0,41*	< LOD	< LOD
23/08/2022	1,90 ± 0,18	< LOD	< LOD	< LOD
25/09/2022	2,8 ± 0,5	< LOD	< LOD	< LOD
06/10/2022	≈ 0,9*	≈ 0,48*	< LOD	< LOD
08/12/2022	≈ 0,71*	≈ 0,56*	1,683 ± 0,006	≈ 0,21*
12/01/2023	≈ 0,7*	< LOD	1,6 ± 0,4	≈ 0,22*
15/02/2023	2,87 ± 0,06	< LOD	< LOD	< LOD
10/03/2023	≈ 0,8*	< LOD	< LOD	< LOD
14/04/2023	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
08/05/2023	3,51 ± 0,20	< LOD	< LOD	< LOD
13/06/2023	5,4 ± 0,4	< LOD	< LOD	< LOD

* Concentraciones aproximadas, por debajo del límite de cuantificación (< LOQ) para muestras de agua.

A continuación, se analizarán las variaciones en las concentraciones para cada uno de los herbicidas objeto de estudio en las muestras de agua analizadas.

Se puede considerar que el herbicida 2,4-D es el que mayor concentración presenta en el lago de la Albufera, llegando a alcanzar concentraciones de aproximadamente 5,4 ppb en el mes de junio de 2023. Durante los meses de agosto y septiembre de 2022, y febrero, mayo y junio de 2023 (Figura 24) se alcanzan concentraciones por encima del LOQ.

Estos niveles de concentración pueden deberse al alto tiempo de vida medio por fotólisis en el agua (DT_{50} a pH 7 de 38 días), que es bastante más elevado que para el MCPA y MCPB, según lo expuesto en la Tabla 1, por lo que su degradación por interacción con la luz en las aguas del lago de la Albufera es menor que para MCPA y MCPB, lo que podría explicar las mayores concentraciones de 2,4-D halladas en las muestras de agua del lago.

Además, los periodos de máxima concentración coinciden con la llegada de las aguas al lago procedentes de las parcelas de cultivo de arroz y de las múltiples acequias que vierten sus aguas en el lago. También, la ausencia de corrientes de agua en el lago facilita la concentración del herbicida y la turbidez del agua debida a la presencia de algas impide su rápida degradación.

Como se ha comentado, en la campaña de 2022 los momentos de aplicación de los herbicidas fueron en los meses de julio y septiembre, y en la campaña de 2023 probablemente se hayan aplicado a finales de mayo-junio dado que la siembra se adelantó al mes de mayo, de ahí la presencia del 2,4-D en estos meses.

La concentración hallada en el mes de febrero probablemente procede de otros cultivos, como los cítricos, a los que también se adiciona el 2,4-D, llegando las aguas de riego de dichos cultivos al lago de la Albufera.

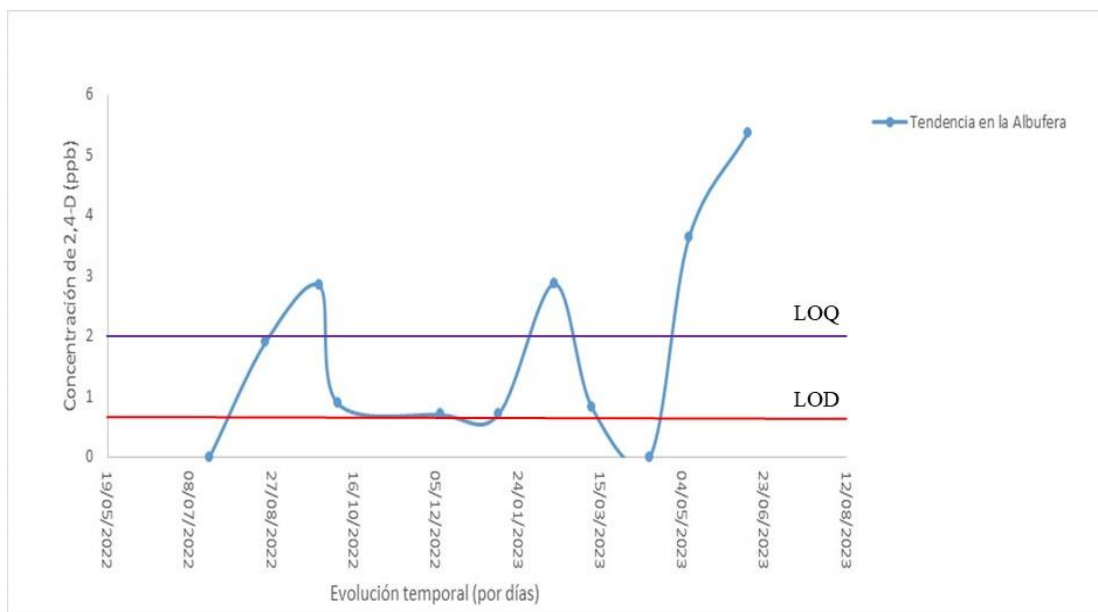


Figura 24. Evolución temporal de la presencia de 2,4-D en el agua del lago de la Albufera (zona del embarcadero) a lo largo de un año. Fuente: elaboración propia.

Para el caso del MCPA, la mayoría de las concentraciones en las muestras de agua de la Albufera se encuentran por debajo del límite de detección establecido para el método de análisis SPE-HPLC aplicado. Únicamente se han detectado concentraciones de MCPA por encima del límite de detección en los meses de julio, octubre y diciembre de 2022 (Figura 25). En la muestra de julio, la detección de concentración de MCPA se puede deber a la llegada al lago de las aguas que incorporan el herbicida, resultado de las primeras aplicaciones en los campos de cultivo de arroz.

Del mismo modo, el aumento de concentración de MCPA en octubre se debe fundamentalmente a la acumulación de herbicida existente en el lago antes del periodo de la siega del arroz, como resultado de las aplicaciones de septiembre en las parcelas de arroz, y que por escorrentía superficial llegan al lago. En diciembre, puede existir un aporte de agua extra al lago de la Albufera que presente MCPA, procedente de otros cultivos, a los que también se le aplica MCPA.

Las concentraciones de MCPA en las muestras de agua de la Albufera en ningún caso sobrepasan los 0,7 ppb (LOQ). Las bajas concentraciones halladas para MCPA pueden explicarse atendiendo a las propiedades del herbicida. Según lo expuesto en la Tabla 1, la fotólisis acuosa DT_{50} del MCPA a pH 7 es de 0,558, lo que puede suponer una rápida degradación del herbicida en las aguas del lago.

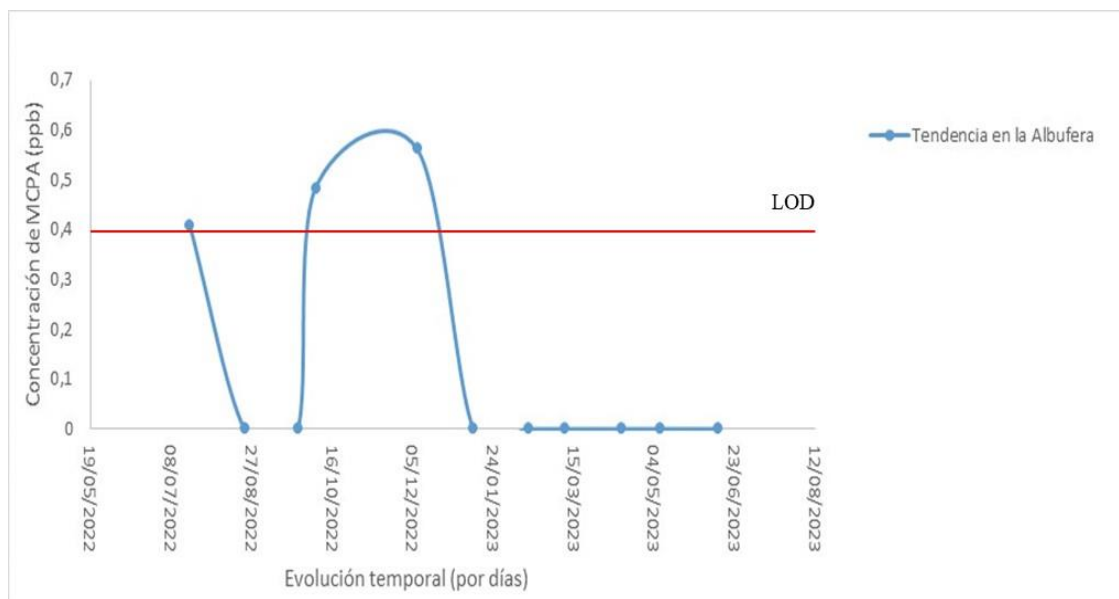


Figura 25. Evolución temporal de la presencia de MCPA en el agua del lago de la Albufera (zona del embarcadero) a lo largo de un año. Fuente: elaboración propia.

En relación con la presencia del herbicida MCPP en las muestras de agua recogidas en el embarcadero del lago, sigue un patrón similar al MCPA durante el ciclo anual estudiado, y en la mayoría de las muestras no se ha detectado el herbicida. Durante la primera parte del ciclo anual del arroz (junio-septiembre), los aportes de agua por escorrentía superficial al lago de la Albufera no se traducen en la detección del MCPP en las aguas del lago. Dicho herbicida solo se detecta durante los meses de diciembre y enero, coincidiendo con la “Perellonà” (Figura 26), llegando a alcanzarse concentraciones de 1,7 ppb, superiores al LOQ.

La presencia de MCPP en este periodo se puede explicar debido a que pueden existir aportes de agua al lago procedentes de otros cultivos, como los cítricos, en el que también se aplica dicho herbicida. También, a la posible acumulación del herbicida en las aguas del lago de la Albufera tras las aplicaciones de julio y septiembre en los campos de arroz.

Además, para el MCPP las propiedades del herbicida (Tabla 1) podrían explicar las altas concentraciones observadas en estos 2 meses, ya que el herbicida tiene una lenta degradación en fase acuosa (DT_{50} de 37 días) y su fotólisis en disolución acuosa también es lenta (DT_{50} a pH 7 de 44 días).

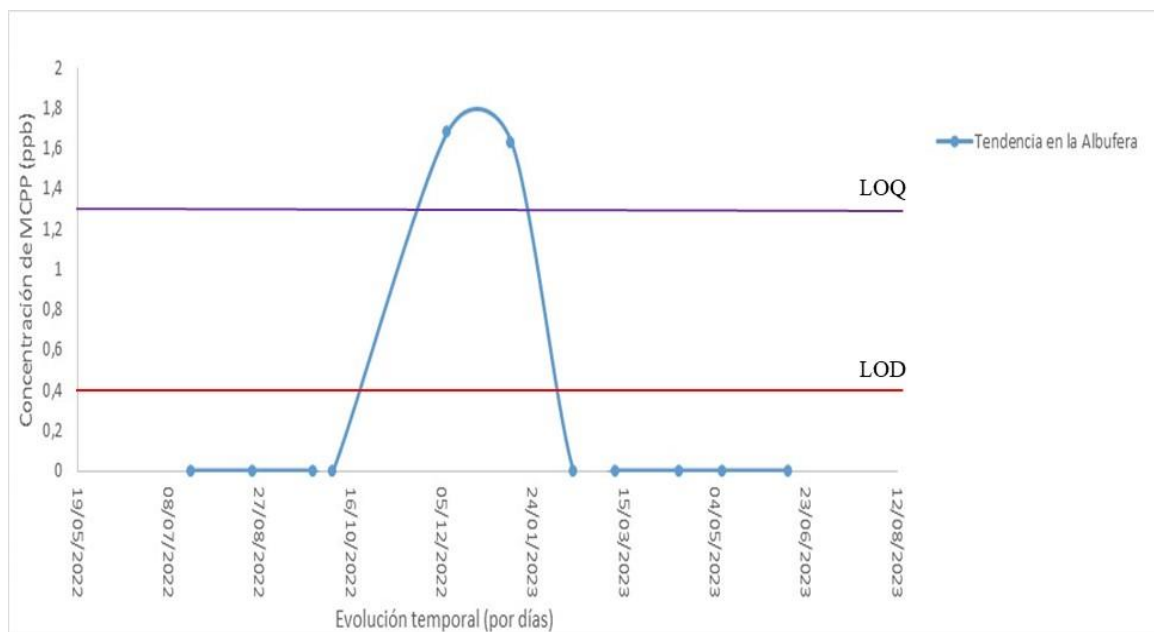


Figura 26. Evolución temporal de la presencia de MCPB en el agua del lago de la Albufera (zona del embarcadero) a lo largo de un año. Fuente: elaboración propia.

Por último, el MCPB presenta un patrón muy similar al caso del MCPB, y en la mayoría de las muestras no se ha detectado el herbicida. Durante la primera parte del ciclo anual del arroz, que coincide con los meses de junio a septiembre, los aportes de agua por escorrentía superficial al lago no se traducen en la detección del MCPB en las aguas del lago.

Solo en los meses de diciembre y enero se detecta este herbicida en las muestras de agua del lago, aunque en ninguno de los casos la concentración supera los 0,25 ppb (Figura 27). Esto se podría deber a la acumulación, en concentraciones bajas, del herbicida en las aguas del lago de la Albufera tras las aplicaciones de julio y septiembre en las parcelas de arroz o posibles aportaciones de agua procedentes de otros campos de cultivo, como los cítricos, y que también presenten MCPB.

El MCPB presenta una fotólisis en disolución acuosa muy rápida (DT_{50} a pH 7 de 2,8 días, Tabla 1) y una degradación en fase acuosa rápida (DT_{50} de 9,7 días), lo que podría explicar su ausencia o baja concentración en las aguas del lago. Aunque suele aplicarse en los cultivos de arroz o cítricos, casi no se observa su presencia en las aguas del lago de la Albufera a lo largo del año.

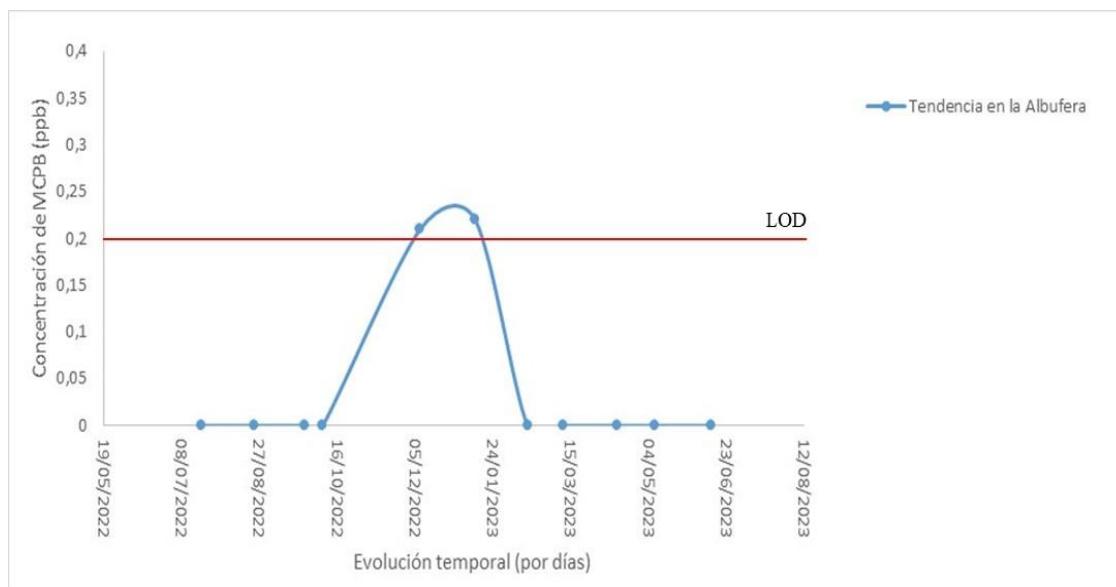


Figura 27. Evolución temporal de la presencia de MCPB en las aguas del lago de la Albufera (zona del embarcadero) a lo largo de un año. Fuente: elaboración propia.

Respecto a las concentraciones de herbicidas halladas en las muestras de agua del lago de la Albufera y la legislación aplicable, en ninguno de los casos se supera el límite establecido por la legislación en referencia a los vertidos de pesticidas en aguas superficiales, según lo expuesto en el Real Decreto 849/1986, definido en 0,05 mg/L (50 ppb). Las mayores concentraciones que se alcanzan (de 2,4-D) son del orden de 5,5 ppb. Por otra parte, el umbral establecido para aguas de consumo humano, según lo expuesto en el Real Decreto 140/2003, es de 0,1 ppb para un solo plaguicida y 0,5 ppb para el conjunto de plaguicidas, y para este caso, sí que se superan ambos umbrales, por lo que el agua del lago de la Albufera no es apta para el consumo humano.

A continuación, a modo de ejemplo, se muestra un cromatograma para la muestra de agua del lago de la Albufera tomada el día 08 de diciembre de 2022 (Figura 28). Se incluye en la figura un blanco y un patrón de mezcla de los 4 herbicidas para ayudar en la identificación de los picos correspondientes a cada herbicida en la muestra.

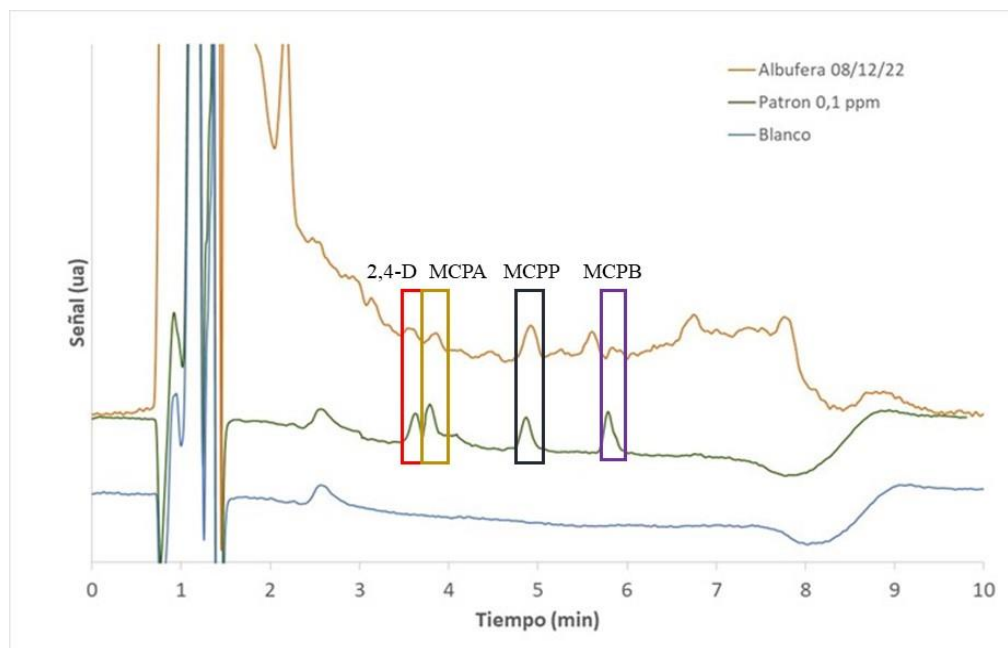


Figura 28. Cromatogramas de: blanco, mezcla patrón de herbicidas de 0,1 mg/L (c/u) y muestra de agua del lago de la Albufera del día 08/12/2022. Fuente: elaboración propia.

4.3.2 Muestras de agua recogidas en el centro del lago y en la gola del Perelló

En los meses de julio y octubre de 2022, meses en los que se esperaba tener un mayor aporte de herbicidas en el lago debido a la llegada de las aguas de los campos, se tomaron muestras de agua en el embarcadero del lago, en el centro del lago y en la Gola de El Perelló, con la idea de observar la posible variabilidad de las concentraciones halladas en función del punto de muestreo. En la Tabla 9 se muestran las concentraciones de los herbicidas halladas en las muestras tomadas en estas fechas y en los 3 puntos de muestreo.

Tabla 9. Concentraciones de los herbicidas halladas en las muestras de agua tomadas en los 3 puntos de muestreo en julio y octubre de 2022. Fuente: elaboración propia.

Fecha de muestreo	Lugar	Concentración promedio en la muestra (ppb)			
		2,4-D	MCPA	MCPP	MCPB
27/07/2022	Centro	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Gola de El Perelló	< LOD	≈ 0,8*	< LOD	< LOD
	Embarcadero	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
06/10/2022	Centro	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Gola de El Perelló	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Embarcadero	≈ 0,9*	≈ 0,48*	< LOD	≈ 0,40*

* Concentraciones aproximadas, por debajo del límite de cuantificación (< LOQ) para muestras de agua.

En las muestras tomadas el 27 de julio de 2022, no se detectaron 2,4-D, MCPP ni MCPB en ninguno de los puntos de muestreo. En la muestra tomada en la fecha del 20 de julio de 2022 en la zona del embarcadero (Tabla 8) no se habían detectado tampoco ninguno de los 3 herbicidas, por lo que, por proximidad temporal, es lógico que tampoco se hayan detectado el día 27 de julio. En esta fecha, se detectan concentraciones de MCPA únicamente en la Gola de El Perelló (aproximadamente 0,8 ppb), posiblemente debidas a la llegada de aguas procedentes de los campos de cultivo de arroz del término municipal de Sueca y El Perelló. Por lo tanto, para el MCPA, sí que existe cierta variabilidad en las concentraciones según el punto de muestreo tomado.

En cuanto a las muestras tomadas el 06 de octubre de 2022 en los 3 puntos de muestreo, el MCPP no se detectó en ninguno de los puntos de muestreo. Por su parte, se detectaron concentraciones de los herbicidas 2,4-D, MCPA y MCPB en la zona del embarcadero, probablemente debidas a la segunda aplicación de los herbicidas en septiembre. De nuevo, existe variabilidad en las concentraciones de los herbicidas según el punto de muestreo, lo que induce a pensar que el estudio podría ampliarse a distintos puntos de muestreo en el lago.

4.4 Comparación de las concentraciones de herbicidas halladas en las muestras de agua del campo de arroz y de la Albufera

En este apartado, se va a evaluar las posibles relaciones entre las concentraciones de los herbicidas hallados en las muestras de agua tomadas en el campo de cultivo y en el lago de la Albufera.

Al representar las concentraciones halladas a lo largo del año en ambos puntos, para el herbicida 2,4-D (Figura 29), se observa que, a pesar de no detectarse el herbicida en las muestras de agua de la parcela de cultivo, este herbicida se encuentra en concentraciones superiores al LOQ del método realizado en los meses de septiembre, febrero, mayo y junio en las muestras de agua del lago de la Albufera. Estas diferencias podrían deberse a diferencias en las características de las aguas y zonas estudiadas.

El agua de la Albufera es más turbia y presenta una elevada cantidad de algas, siendo un agua bastante estancada con poco dinamismo, y con un nivel de profundidad superior a las aguas del campo de cultivo. Por su parte, el agua del campo de cultivo fluye continuamente de unos campos a otros con una profundidad media de 40-50 cm y, además, está sobre un suelo agrícola que se ara varias veces a lo largo del año, lo que facilita la dispersión de los posibles contaminantes acumulados.

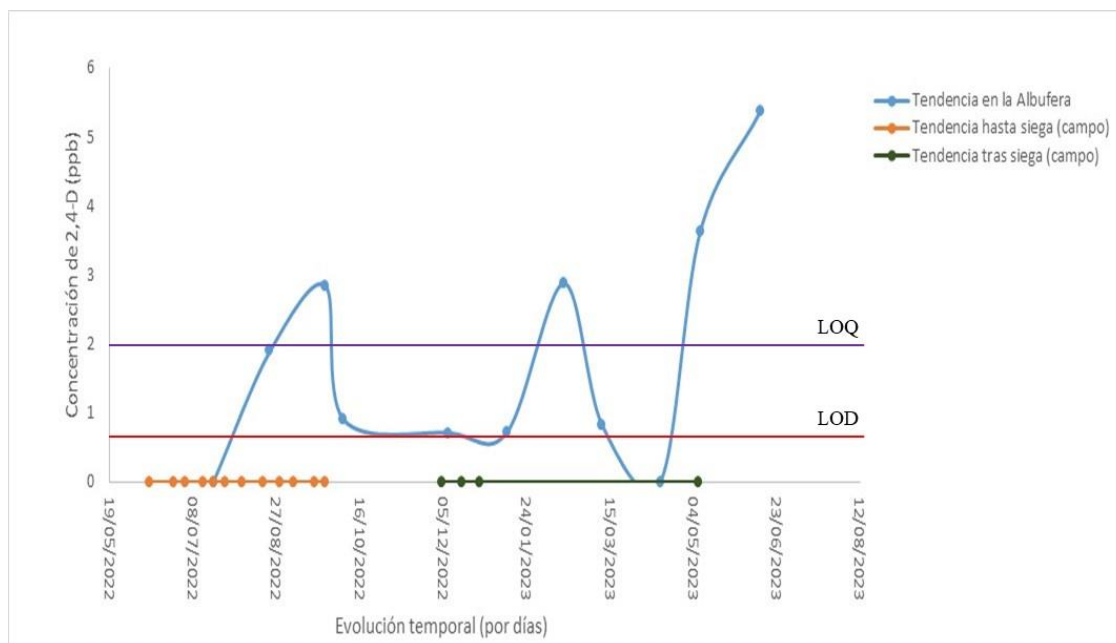


Figura 29. Evolución temporal de la presencia de 2,4-D en las muestras de agua del lago de la Albufera y del campo de cultivo. Fuente: elaboración propia.

En relación con el MCPA, en las muestras del campo de cultivo se observa la presencia del herbicida en la mayoría de las muestras a lo largo del proceso de cultivo de junio a septiembre, lo que se traduce en el mes de julio y principalmente, tras la siega, durante los meses de octubre y diciembre en la presencia del herbicida en el lago de la Albufera. El MCPA puede llegar desde los campos de cultivo al lago por escorrentía superficial a través de las acequias, lo que hace posible su detección en el lago tras la siega del arroz (Figura 30).

El gran volumen de agua existente en el lago genera un efecto de dilución y hace que las concentraciones que se detectan sean bajas, comparativamente con las concentraciones detectadas en la parcela de arroz (en la Albufera no superan los 0,6 ppb y en la parcela de arroz llegan a alcanzar 1 ppb). También se debe considerar que la fotodegradación del MCPA en disolución acuosa es rápida (DT_{50} a pH 7 es de 0,558 días), lo que también explicaría una menor concentración del herbicida en el lago, así como la detección de concentraciones bastantes más pequeñas que para el 2,4-D (DT_{50} a pH 7 de 38 días).

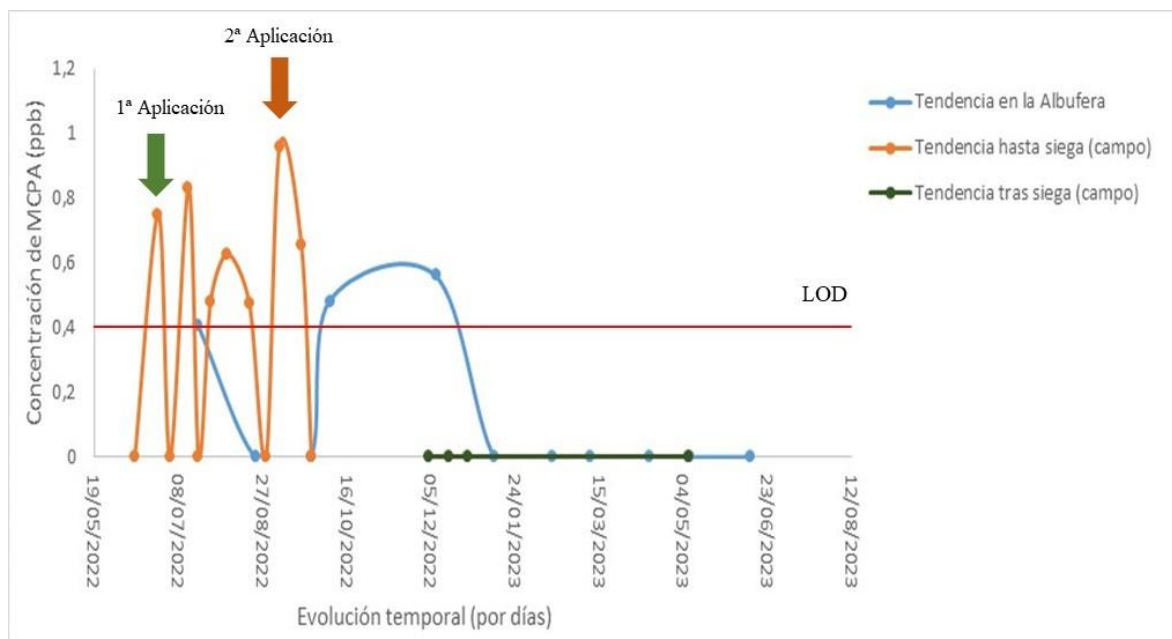


Figura 30. Evolución temporal de la presencia de MCPA en las muestras de agua del lago de la Albufera y del campo de cultivo. Fuente: elaboración propia.

Respecto al MCPA, la presencia del herbicida en las aguas del lago y en la parcela de cultivo de arroz sigue un patrón similar al detallado para el herbicida MCPA. En este caso, las mayores concentraciones en el lago se presentan durante el mes de diciembre, por la posible acumulación del herbicida aplicado durante los meses de julio, y septiembre en los campos de arroz (Figura 31) o por los aportes de agua procedentes de otros cultivos que presenten dicho herbicida. A través de la escorrentía superficial, las acequias vierten sus aguas al lago, por lo que puede producirse la contaminación de las aguas del lago con los herbicidas.

Su lenta degradación en las aguas del lago (fotodegradación en disolución acuosa DT_{50} a pH 7 de 44 días, y la degradación en fase acuosa DT_{50} de 37 días) hace que tenga una mayor persistencia que el resto de los herbicidas estudiados, observándose su presencia en el lago durante los meses de diciembre-enero en concentraciones del orden de 1,6-1,7 ppb.

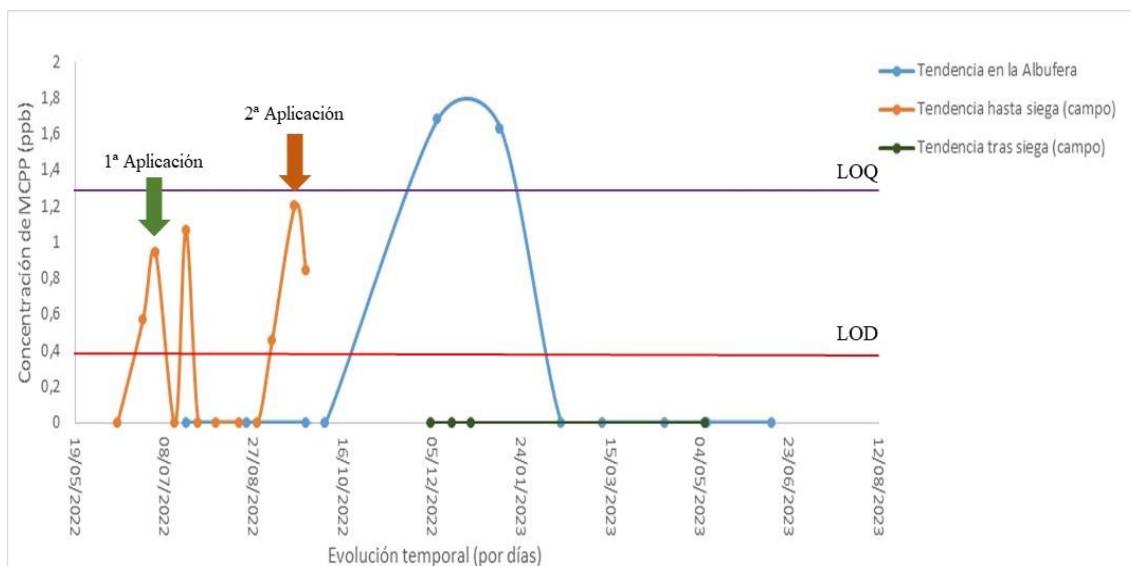


Figura 31. Evolución temporal de la presencia de MCPP en las muestras de agua del lago de la Albufera y del campo de cultivo. Fuente: elaboración propia.

El MCPB, también presenta una tendencia similar al MCPP, al comparar las concentraciones halladas en las muestras de agua de la Albufera y del campo de cultivo de arroz, aunque las concentraciones halladas de MCPB en la Albufera son mucho menores que para el MCPP. Esto puede deberse a su rápida fotodegradación en agua y degradación en fase acuosa (DT_{50} a pH 7 de 2,8 días y DT_{50} es de 9,7 días, respectivamente).

La presencia del herbicida en el lago en diciembre-enero probablemente proviene de la acumulación del herbicida en las aguas tras las aplicaciones en los campos de arroz de julio y septiembre, y que, por escorrentía superficial a través de las acequias, terminan llegando al lago (Figura 32).

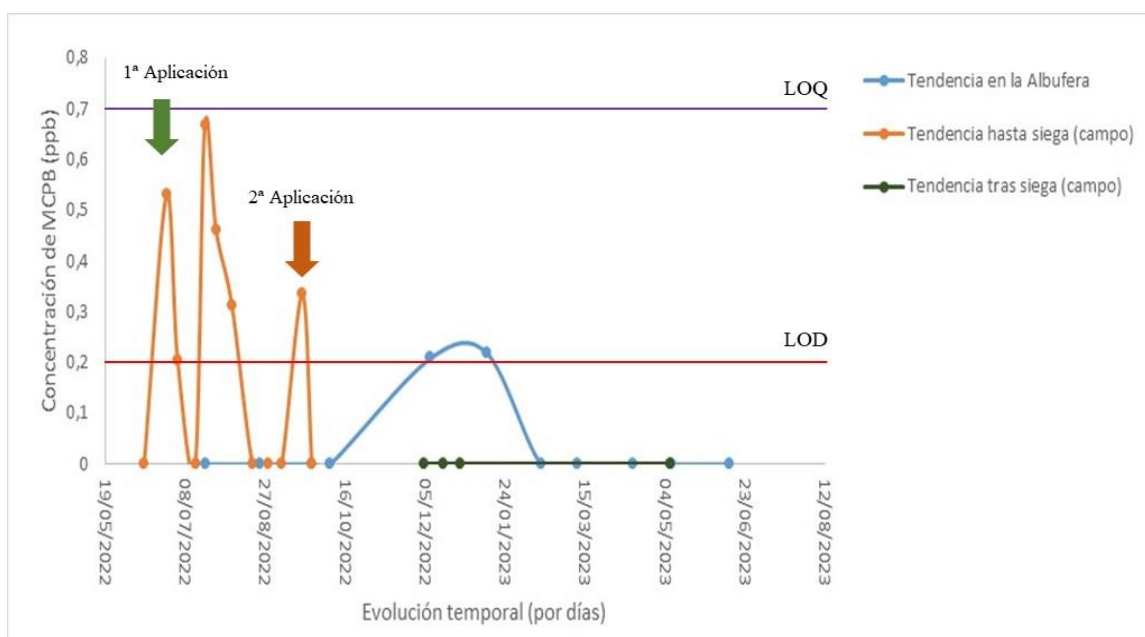


Figura 32. Evolución temporal de la presencia de MCPB en las muestras de agua del lago de la Albufera y del campo de cultivo. Fuente: elaboración propia.

4.5 Análisis de las de las muestras de suelo recogidas en el campo de arroz

Se han recolectado muestras de suelo en los 3 momentos clave del ciclo anual del cultivo del arroz, una durante la siega (octubre de 2022), otra tras la "Perellonà" (enero de 2023) y otra en el momento previo al inicio de la campaña 2023, tras el arado de la tierra (abril de 2023).

Para el análisis de las muestras de suelo recogidas en el campo de cultivo, éstas se sometieron previamente por triplicado al proceso de extracción sólido-líquido descrito en el apartado de Métodos. El extracto de las muestras tras el tratamiento, se inyectó en el sistema cromatográfico para su análisis.

Al igual que en las muestras de agua, para evaluar la presencia de los herbicidas en las muestras de suelo, se revisaron los cromatogramas obtenidos y, se midió el área de los picos correspondientes a los herbicidas, deduciendo la concentración mediante las rectas de calibrado (Apartado 4.1). A la concentración deducida en el vial tras extracción-HPLC (ppm en los 2 mL) se le aplica el factor correspondiente (x 0,1) para obtener la concentración en los 20 g de suelo tratados. El cálculo se aplica para cada una de las tres réplicas analizadas y se obtiene el promedio de la concentración de los herbicidas en la muestra de suelo y su desviación estándar (en mg/Kg).

En la Tabla 10 se resumen las concentraciones calculadas para cada uno de los herbicidas, en las distintas muestras de suelo recogidas:

Tabla 10. Concentraciones de los herbicidas halladas en las muestras de suelo analizadas de la parcela de cultivo.
Fuente: elaboración propia.

Fecha de muestreo	Periodo del cultivo	Concentración promedio en la muestra (mg/Kg)			
		2,4-D	MCPA	MCPB	MCPB
02/10/2022	Siega del arroz	< LOD	0,68 ± 0,04	< LOD	< LOD
09/01/2023	"Perellonà"	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
14/04/2023	Previo al Inicio campaña 2023	< LOD	< LOD	≈ 0,119*	0,095 ± 0,014

* Concentraciones aproximadas, por debajo del límite de cuantificación (< LOQ) para muestras de suelo.

Se puede observar que el herbicida 2,4-D no se detecta en las distintas muestras de suelo recogidas en la parcela de cultivo del arroz. Según los datos expuestos en la Tabla 1, la degradación aeróbica del 2,4-D en el suelo es relativamente rápida (DT₅₀ es de 4,4 días), siendo su tiempo de vida medio inferior al resto de herbicidas objeto de estudio. Esto podría explicar la ausencia del herbicida 2,4-D en las muestras de suelo tomadas en la parcela de arroz.

Respecto al MCPA, solo se detecta concentración en la muestra de octubre de 2022, en el momento previo a la siega del arroz. Esto podría explicarse con que parte del MCPA presente en el agua de la parcela de arroz ha quedado retenida en el suelo tras la aplicación de los herbicidas en el mes de septiembre. El MCPA es el herbicida cuya degradación aeróbica en el suelo es más lenta (DT_{50} es de 12,07 días), lo que podría justificar su presencia en este periodo. En las muestras tomadas en enero y abril de 2023, el suelo no presenta MCPA, esto podría explicarse porque, en estas fechas, lo que había de MCPA en octubre ya se ha degradado y se sabe que no vuelven a emplear herbicidas hasta el mes de junio del ciclo siguiente.

Por otra parte, los procesos de arado del campo que provocan la aireación del suelo, también facilitan la degradación de los herbicidas.

En relación con el MCPP y el MCPB, no se han detectado en las muestras de suelo de octubre de 2022 y enero de 2023. Su ausencia en octubre puede deberse a su rápida degradación aeróbica en el suelo DT_{50} (8,2 y 3,65 días respectivamente), lo que indicaría que su presencia en las aguas de la parcela no implica su acumulación en el suelo.

La muestra de suelo tomada en enero de 2023, tras la “Perellonà”, no presenta ni MCPP ni MCPB, como tampoco aparecían en las aguas de la parcela durante dicho periodo.

Por otra parte, ambos herbicidas, MCPP y MCPB, se detectan en la muestra de abril, tras la aireación del suelo por el arado del campo. Quizás estas cantidades se deben a la presencia de los herbicidas retenidos en las capas más profundas del sedimento durante el ciclo anual del arroz. En estas capas anaerobias, su degradación es más lenta, al no haber suficiente oxígeno, lo que haría posible la detección de ambos herbicidas tras el arado.

Respecto a la legislación, y dado que a nivel nacional ni europeo se tiene una normativa que establezca los LMRs de plaguicidas en suelo, se pretende clasificar los suelos en función de las concentraciones de herbicidas, acudiendo a la normativa holandesa que sí establece distintos límites para clasificar los suelos contaminados por herbicidas (*Dutch List Soil and ground water criteria used in the Netherlands for contaminated land*). En la Tabla 11 se resume la clasificación de los suelos analizados según lo expuesto en la legislación holandesa (Apartado 1.4).

Tabla 11. Clasificación de las muestras de suelo analizadas según la normativa holandesa. Fuente: elaboración propia.

Fecha de muestreo	Tipo de suelo (normativa holandesa)
02/10/2022	Tipo B
09/01/2023	Tipo A
14/04/2023	Tipo B

Según la normativa holandesa, la muestra de enero corresponde a un suelo de tipo A, en el que la concentración de herbicidas no excede los 0,1 mg/Kg y se considera un suelo no contaminado. Por otra parte, las muestras de suelo tomadas en los meses de octubre y abril, contienen herbicidas en concentraciones entre 0,1-2 mg/Kg, lo que requería abordar una evaluación de riesgos.

Para abordar una evaluación de riesgos, se ha de tener en cuenta aspectos como las características del suelo (estructura, textura, porosidad) y del herbicida (características fisicoquímicas), la interacción suelo-herbicida, y la interfase agua-sedimento, etc., para ver la posible degradación y persistencia del herbicida en el suelo. Además, también se debería considerar el tipo de actividad realizada (en este caso, cultivo del arroz) y su impacto sobre el sedimento.

A continuación, a modo de ejemplo, se muestra el cromatograma para la muestra de suelo del 02 de octubre de 2022 (Figura 33), en la que se observa la presencia de MCPA.

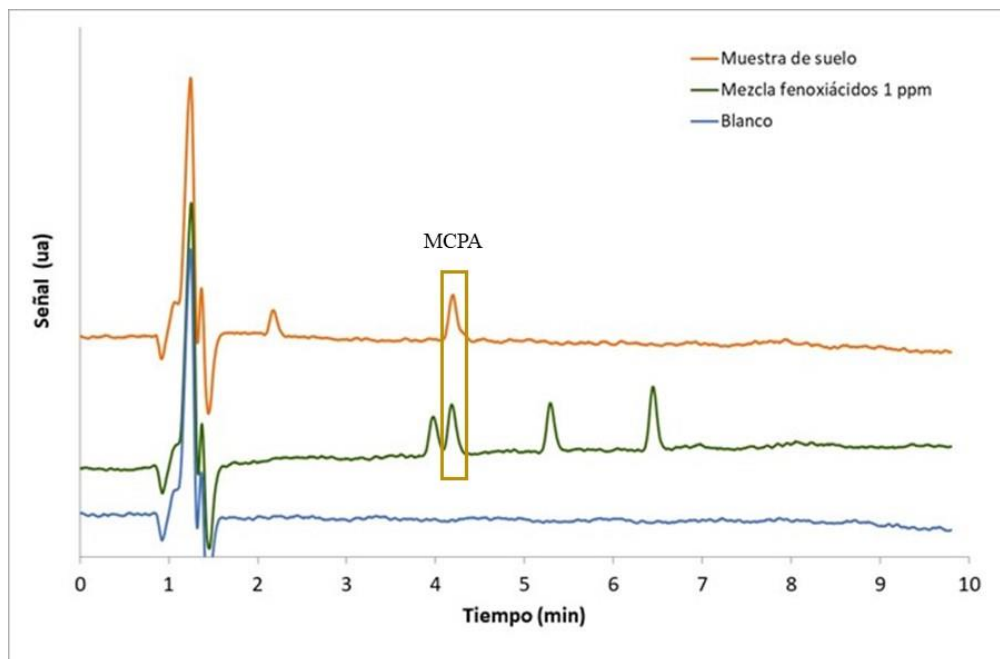


Figura 33. Cromatogramas de: blanco, mezcla de los 4 herbicidas de 1 ppm c/u, y muestra de suelo del día 02/10/2022, diluida 10 veces. Fuente: elaboración propia.

4.6 Muestras de arroz

La muestra de arroz procedente de la parcela de cultivo, se recolectó durante el mes de octubre de 2022, previo al periodo de la siega del arroz. Se recolectó la parte final aérea de la planta, que incluía parte del tallo, algunas hojas y la ramificación de la espiga del arroz. Por otra parte, se adquirió una muestra de arroz comercial.

Las dos muestras de arroz se sometieron previamente por triplicado al proceso de extracción sólido-líquido descrito en el apartado de Métodos. El extracto de las muestras tras el tratamiento se inyectó en el sistema cromatográfico para su análisis.

En el análisis, a partir de las rectas de calibrado para cada herbicida definidas en el Apartado 4.1, se calculan las concentraciones mediante la medida del área de pico existente en el cromatograma de la muestra (si lo hay) al tiempo de retención definido para cada herbicida. A la concentración deducida en el vial tras la extracción-HPLC (ppm en los 2 mL), se le aplica el factor correspondiente ($\times 0,2$) para obtener la concentración en los 10 g de arroz tratados. El cálculo se aplica para tres réplicas analizadas y se obtiene el promedio de la concentración de los herbicidas en la muestra de arroz y su desviación estándar (en mg/Kg).

A continuación, en la Tabla 12, se resumen las concentraciones calculadas para cada uno de los herbicidas, en las dos muestras de arroz analizadas.

Tabla 12. Concentración de los herbicidas fenoxiácidos en las muestras de arroz del campo y comercial. Fuente: elaboración propia.

Muestra	Concentración promedio en la muestra (mg/Kg)			
	2,4-D	MCPA	MCPB	MCPD
Arroz comercial	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Arroz del campo	6,2 \pm 0,5	< LOD	< LOD	< LOD

Como se puede observar en la tabla, en la muestra de arroz comercial no se detectó ninguno de los herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio. En dicha muestra, se esperaba no detectar ninguno de los herbicidas fenoxiácidos dados los tratamientos post-cosecha previos a la venta al público, desde que se siega en el campo hasta que llega a los hogares, que eliminan cualquier resto de herbicida existente en los granos de arroz.

Por otro lado, en la muestra de arroz del campo, se observó la presencia clara del herbicida 2,4-D. El resto de los herbicidas, no se detectaron en dicha muestra. Dada la alta concentración del 2,4-D en la muestra, la fracción de extracción tuvo que diluirse 100 veces antes del análisis cromatográfico, y este factor de dilución se tuvo en cuenta en el cálculo de la concentración del herbicida.

Según la legislación de la Unión Europea, el LMR establecido para el 2,4-D en el arroz es de 0,1 mg/Kg; mientras que para los herbicidas MCPA, MCPB y MCPD, el LMR está establecido en 0,05 mg/Kg. De este modo, para la muestra de arroz del campo se supera ampliamente el umbral establecido por la legislación para el 2,4-D. Se ha de considerar que en la preparación de la muestra se trituraron tanto los granos de arroz como el final de la parte aérea de la planta (que incluye la cáscara, parte del tallo y algunas hojas), por lo que el 2,4-D que se detecta en la muestra no procede específicamente de los granos de arroz, sino de la parte externa de la planta, que es la que ha sido rociada de forma aérea en la aplicación de los herbicidas en septiembre, lo que puede explicar su alta concentración.

A continuación, a modo de ejemplo, se detalla el cromatograma para la muestra de arroz del campo tras la dilución junto con una mezcla patrón de los 4 herbicidas (Figura 34), en el que se observa la presencia del herbicida 2,4-D en la muestra. Se incluye en la figura un blanco y un patrón de mezcla de los 4 herbicidas para ayudar en la identificación de los picos correspondientes a cada herbicida en la muestra.

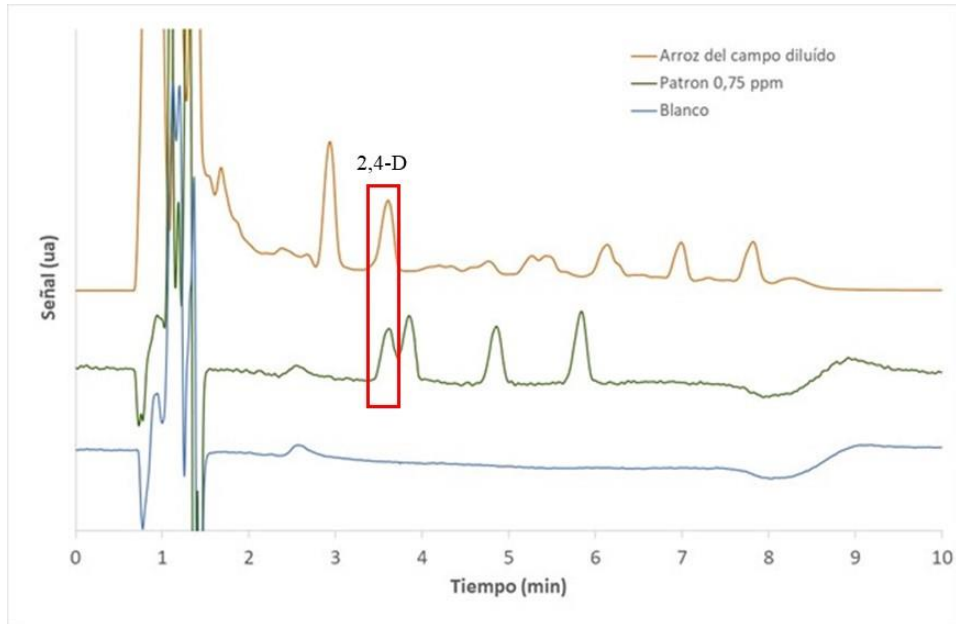


Figura 34. Cromatogramas de: blanco, mezcla patrón de los 4 herbicidas de 0,75 ppm (c/u) y muestra de arroz de la parcela de cultivo, diluida 100 veces (octubre de 2022). Fuente: elaboración propia.

5. Conclusiones

Una vez descritos los resultados obtenidos en el trabajo, se pueden extraer las conclusiones que se detallan a continuación.

Por una parte, el método SPE-HPLC empleado para determinar los herbicidas 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB es sensible, pudiendo detectarse LODs del orden de 0,2-0,6 $\mu\text{g/L}$. Además, posee una buena precisión, ya que el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) es inferior al 10% en todos los casos (excepto para el MCPP a una concentración de 0,065 ppm, que es ligeramente superior, Tabla 4).

También se puede afirmar que es un método exacto y adecuado para el análisis de muestras reales, dado que el porcentaje de error relativo (%Er) del método es inferior al 10% en todos los casos (2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB) con una concentración aditivada de 0,5 ppm para cada herbicida (Tabla 5). También los porcentajes de recuperación entre el 80-98% en todos los casos, excepto el MCPB en agua de la Albufera (70%) demuestran la exactitud del método (Tabla 6).

El método SPE-HPLC ha permitido detectar concentraciones de los herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio tanto en las muestras de agua del campo de arroz como en el lago de la Albufera.

Para el caso de las muestras de agua del campo de arroz, las concentraciones halladas se encuentran entre el límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para el MCPA, MCPP y MCPB, mientras que el 2,4-D no se ha detectado o su concentración se encuentra por debajo del LOD del método. Como se ha podido ver en las figuras de tendencia expuestas en el Apartado 4.2, el MCPA, MCPP y MCPB se aplican más de una vez en la parcela durante el proceso de maduración de la planta (principalmente durante los meses de julio y septiembre). Tras la cosecha, y durante la “Perellonà”, no se detecta ninguno de los herbicidas mediante el método SPE-HPLC. Del mismo modo ocurre con el agua que accede a la parcela en el inicio de la campaña del arroz del año 2023.

En la Tabla 13 se resumen los aspectos más relevantes de la evaluación de las concentraciones de los diferentes herbicidas fenoxiácidos objeto de estudio en las aguas de la parcela a lo largo del ciclo de cultivo del arroz.

Tabla 13. Aspectos más relevantes sobre las muestras de agua de la parcela de arroz y los herbicidas objeto de estudio. Fuente: elaboración propia.

	Herbicida			
	2,4-D	MCPA	MCPP	MCPB
Detección	No se detecta	Se detecta	Se detecta	Se detecta
Concentración máxima	< LOD	0,83 ppb (< LOQ)	1,2 ppb (< LOQ)	0,67 (< LOQ)
Aplicación en julio de 2022	No se observa	Se observa	Se observa	Se observa
Aplicación en septiembre de 2022	No se observa	Se observa	Se observa	Se observa
Degradación en fase acuosa (DT₅₀)	7,7 días	13,5 días	37 días	9,7 días
Persistencia en el campo	Muy baja	Alta	Muy alta	Alta
R.D. 849/1986 (Vertidos)*	No supera	No supera	No supera	No supera
R.D. 140/2003 (Aguas potables)**	No supera	Sí supera	Sí supera	Sí supera

* Según el Real Decreto 849/1986 para vertidos de pesticidas en aguas, no se debe superar el umbral establecido en 0,05 mg/L (50 ppb).

** Según el Real Decreto 140/2003, el umbral establecido para el consumo humano de agua potable es de 0,1 ppb para un solo plaguicida y 0,5 ppb para el conjunto de plaguicidas.

En relación con las muestras de agua del lago de la Albufera tomadas en el embarcadero, el herbicida 2,4-D es el que mayor concentración presenta, alcanzando concentraciones de 5,5 ppb. Los herbicidas MCPA, MCPP y MCPB siguen patrones de tendencia muy similares a lo largo del año, y se detectan entre el periodo octubre-enero, alcanzando el máximo de concentración durante el mes de diciembre, coincidiendo con la “Perellonà”. En la Tabla 14 se detallan los aspectos más importantes de la evaluación de las concentraciones de 2,4-D, MCPA, MCPP y MCPB en el lago de la Albufera durante un año.

Tabla 14. Aspectos más relevantes sobre las muestras de agua del lago de la Albufera y los herbicidas objeto de estudio. Fuente: elaboración propia.

	Herbicida			
	2,4-D	MCPA	MCPP	MCPB
Detección	Se detecta	Se detecta	Se detecta	Se detecta
Concentración máxima	5,4 ppb	0,56 ppb (< LOQ)	1,68 ppb	0,22 ppb (< LOQ)
Aplicaciones de julio de 2022	Se observan (agosto 2022)	Se observan (julio 2022)	Acumulación en diciembre 2022***	Acumulación en diciembre 2022***
Aplicaciones de septiembre de 2022	Se observan (septiembre 2022)	Se observan (octubre 2022)	Acumulación en diciembre 2022***	Acumulación en diciembre 2022***
Aplicaciones de junio de 2023	Se observan (junio 2023)	No se observan	No se observan	No se observan
Fotólisis en fase acuosa a pH 7 (DT₅₀)	38 días	0,558 días	44 días	2,8 días
Persistencia en el lago de la Albufera	Muy alta	Baja	Alta	Baja
R.D. 849/1986 (Vertidos)*	No supera	No supera	No supera	No supera
R.D. 140/2003 (Aguas potables)**	Sí supera	Sí supera	Sí supera	Sí supera

* Según el Real Decreto 849/1986 para vertidos de pesticidas en aguas, no se debe superar el umbral establecido en 0,05 mg/L (50 ppb), descrita en el Apartado 1.4.

** Según el Real Decreto 140/2003, el umbral establecido para el consumo humano de agua potable es de 0,1 ppb para un solo plaguicida y 0,5 ppb para el conjunto de plaguicidas, descrita en el Apartado 1.4.

*** Posible acumulación en diciembre tras las aplicaciones de julio y septiembre en las parcelas de arroz o por el aporte de agua procedente de otros cultivos (como los cítricos) al lago de la Albufera que también presentan los herbicidas objeto de estudio.

El período de mayor concentración de herbicidas en muestras de agua del lago de la Albufera ha sido del mes de octubre a enero para los herbicidas MCPA, MCPP y MCPB; para el 2,4-D los meses de agosto y diciembre de 2022, y mayo y junio de 2023. Las aplicaciones de los herbicidas llevadas a cabo en julio de 2022 sólo se observaron en los casos de MCPA y 2,4-D. Y las aplicaciones de los herbicidas en septiembre de 2022 se tradujeron en concentraciones detectables en el lago en todos los casos.

De este modo, se puede afirmar que los distintos herbicidas llegan al lago de la Albufera a través de los canales de irrigación, y su detección es más frecuente en determinados meses del año, como los periodos de julio a agosto y de diciembre a enero, por acumulación en las aguas del lago y por las distintas aportaciones de los canales de irrigación.

Con todo esto, sería interesante recolectar muestras de los principales canales de irrigación (acequias) que vierten sus aguas al lago, para verificar el acceso de los herbicidas a las aguas del lago a través de este tipo de canales.

Según el artículo publicado por Calvo, S. et al. (2021), la mayor aportación de herbicidas a las aguas del lago se produce en el mes de julio, que generalmente suele asociarse con las primeras aplicaciones de los distintos herbicidas en los campos de arroz y que terminan desembocando, por escorrentía superficial, en el lago, a través de los canales de irrigación o acequias. En dicho estudio, se llevó a cabo una recolección de muestras de agua procedentes del centro del lago, de los canales de irrigación y de las diferentes golas existentes en el lago (Pujol, Perellonet y Perelló), que permitieron analizar las tendencias de los herbicidas, entre otros compuestos, en la zona del lago y sus alrededores. Según los autores, en los canales de irrigación existe mayor concentración de herbicidas, dado que recogen las aguas procedentes de los campos de cultivo, y sus concentraciones se reducen cuando llegan al lago por el gran volumen de agua que alberga.

En este sentido, en nuestro estudio, el análisis de muestras de agua de otras zonas del lago de la Albufera (diferentes al embarcadero) parece indicar que existe variabilidad de las concentraciones en los diferentes puntos de muestreo, pero sería necesario una mayor recolección de muestras para afirmar dicha variabilidad, ya que en el presente estudio sólo se dispone de 2 fechas en las que se recogieron muestras de agua en 3 puntos (embarcadero, centro del lago y Gola de El Perelló).

Por otro lado, respecto a las muestras de suelo analizadas en este estudio, en la Tabla 15 se indican los aspectos más relevantes del análisis del suelo de la parcela de cultivo en los 3 momentos del periodo de cultivo del arroz.

Tabla 15. Aspectos más relevantes sobre las muestras de suelo de la parcela de arroz y los herbicidas objeto de estudio. Fuente: elaboración propia.

		Herbicida			
		2,4-D	MCPA	MCPPP	MCPB
Concentración detectada	Octubre 2022	No se detecta	0,68 mg/Kg	No se detecta	No se detecta
	Enero 2023	No se detecta	No se detecta	No se detecta	No se detecta
	Abril 2023	No se detecta	No se detecta	0,119 mg/Kg (< LOQ)	0,095 mg/Kg
Degradación aeróbica en el suelo (DT₅₀)		4,4 días	12,07 días	8,2 días	3,65 días
Persistencia en el suelo		Baja	Persistencia en octubre	Persistencia en abril tras arado	Persistencia en abril tras arado
Legislación*	Octubre 2022	Tipo B (Evaluación de riesgos)			
	Enero 2022	Tipo A (No contaminado)			
	Abril 2022	Tipo B (Evaluación de riesgos)			

* Aplicación de la normativa holandesa para la clasificación del tipo de suelo (*Dutch List Soil and ground water criteria used in the Netherlands for contaminated land*), descrita en el Apartado 1.4.

La detección en el suelo de MCPA, MCPB y MCPP en los distintos periodos del cultivo del arroz indica que existe una absorción por parte del suelo de los herbicidas existentes en disolución en el agua de la parcela de cultivo. Tras los resultados obtenidos, sería interesante una ampliación del muestreo del suelo, para observar con exactitud cuándo se produce la transferencia de los herbicidas en la interfase agua-suelo de la parcela de cultivo, y cuándo se produce su degradación completa.

Por último, en la muestra de arroz tratada de la parcela de cultivo sólo se detectó 2,4-D, con una concentración de 6,2 mg/Kg, superando el LMR establecido para el 2,4-D en el arroz (0,1 mg/Kg) por la Unión Europea. Se debe considerar, respecto a la muestra de arroz del campo, que se ha procesado la parte final aérea de la planta, que incluye la cáscara, parte del tallo y algunas hojas, por lo que se deduce que el 2,4-D procede principalmente de la parte externa que es la expuesta a la fumigación, y no tanto del propio cereal.

Es necesario considerar que la aplicación del herbicida se realiza en septiembre, de forma aérea mediante el rociado, lo que puede explicar la concentración hallada en la planta. Respecto al análisis de la muestra de arroz comercial, no se detectó ningún herbicida objeto de estudio, lógico teniendo en cuenta que las muestras comerciales van destinadas al consumidor y se tratan post-cosecha para ofrecer un producto libre de compuestos tóxicos.

Como complemento al estudio, sería interesante evaluar posibles impactos de la presencia de los herbicidas en ecosistemas acuáticos y terrestres. Para ello, se detallan en la Tabla 16, algunos valores relacionados con la ecotoxicología de los herbicidas objeto de estudio.

Tabla 16. Niveles de concentración relacionados con la ecotoxicología terrestre y acuática. Fuente: Pesticide Properties DataBase (2023).

		Herbicida			
		2,4-D	MCPA	MCPB	MCPB
Ecotoxicología terrestre (mg/Kg)	Mamíferos (LD₅₀¹ oral)	> 300	962	1166	> 2000
	Aves (LD₅₀¹)	> 500	377	> 500	282
	Lombrices (LC₅₀² tras 14 días)	62,5	325	988	> 263
	Microorganismos del suelo³	No efectos adversos	No efectos adversos	No efectos adversos	No efectos adversos
Ecotoxicología acuática (ppm)	Peces (LD₅₀¹ tras 96 horas)	100	> 100	240	4,3
	Invertebrados acuáticos (EC₅₀⁴ tras 48 horas)	134,2	> 190	> 200	55
	Plantas acuáticas (EC₅₀⁴ tras 7 días)	2,7	> 3,2	40,2	37
	Algas en crecimiento (EC₅₀⁴ tras 48 horas)	24,2	79,8	237	41

¹ LD₅₀ o dosis letal media: cantidad total administrada de una sustancia asociada que causa la mortalidad de la mitad de la población de organismos expuesta.

² LC₅₀ o concentración letal media: concentración obtenida de una sustancia que puede esperarse que produzca la muerte durante la exposición de la mitad de los organismos expuestos a dicha sustancia.

³ Afección a los microorganismos del suelo a partir de la incidencia del herbicida en los procesos de mineralización del nitrógeno o del carbono en el suelo.

⁴ EC₅₀ o nivel efectivo medio: concentración que se espera que tenga uno o más efectos específicos en el 50% de un grupo de organismos.

A partir de los valores expuestos en la tabla anterior, relacionados con la ecotoxicología terrestre, las concentraciones detectadas en las muestras de suelo están por debajo de los valores a partir de los cuales afectarían de forma significativa a mamíferos, aves, lombrices o microorganismos del suelo: máxima concentración de 0,68 mg/Kg. Por lo que, a nivel toxicológico, el suelo presente en la parcela de cultivo no presenta ningún tipo de peligro para el ecosistema terrestre en los momentos de muestreo.

Por otro lado, en relación con la ecotoxicología acuática, la máxima concentración hallada ha sido de $5,4 \cdot 10^{-3}$ ppm (2,4-D en la Albufera), por debajo de los valores a partir de los cuales se afectaría significativamente a peces, invertebrados acuáticos, plantas acuáticas y algas en crecimiento, por lo que las aguas analizadas no provocan ninguna afección al ecosistema acuático.

6. Bibliografía

Arrozúa. "¿Cuál es el ciclo del cultivo del arroz?". Consultada el 12/04/2023. (<https://www.arrozua.com/ciclo-del-cultivo-del-arroz/>).

Boletín Oficial del Estado. "Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular". Consultada el 11/04/2023. (<https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2022-5809>).

Boletín Oficial del Estado. "Ley 29/1985, de 2 de agosto, de Aguas". Consultada el 19/04/2023. (<https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1985-16661>).

Boletín Oficial del Estado. "Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados". Consultada el 11/04/2023. (<https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2005-895>).

Boletín Oficial del Estado. "Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano". Consultada el 13/04/2023. (<https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2003-3596>).

Boletín Oficial del Estado. "Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, que desarrolla los títulos preliminar I, IV, V, VI y VII de la Ley 29/1985, de 2 de agosto, de Aguas". Consultada el 19/04/2023. (<https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1986-10638>).

Botella Bou, I. (2021). *Desenvolupament d'un sorbet magnètic per a l'extracció selectiva d'herbicides fenoxiàcids en mostres d'aigua*. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/179576>

Calvo, S., Romo, S., Soria J. y Picó, Y. *Pesticide contamination in water and sediment of the aquatic systems of the Natural Park of the Albufera of Valencia (Spain) during the rice cultivation period*. Science of the Total Environment 774 (2021). 145009.

CEDEX, Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (Confederación Hidrográfica del Júcar). (2017). *Estudio de la afección del cultivo del arroz en la calidad de agua de la Albufera de Valencia*. Ministerio de Fomento, Madrid.

Ciencias y datos. "¿Cuál es la diferencia entre el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ)?" Fecha de consulta 12/05/2023. (<https://cienciaydatos.org/laboratorio/cual-es-la-diferencia-entre-el-limite-de-deteccion-lod-y-el-limite-de-cuantificacion-loq/>).

Della Valle Vivo, E.A. y Ferrari Galloti, J.F. (2011). *Susceptibilidad de Lolium multiflorum Lam. A aplicaciones de glifosato en rastrojos de cultivos de verano*. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad de la República.

Europa.eu. "EU Pesticides Databse". Consultada el 08/05/2023. (<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>).

Gomis Yagües, V. (2008). *Tema 4. Cromatografía de líquidos de alta resolución*. Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial.

Google Maps. "Sueca". Consultada el 13/04/2023. (<https://goo.gl/maps/YLwKXjz1B6n5VCKA>).

HK Government. "Dutch List". Consultada el 08/05/2023. (https://www.epd.gov.hk/eia/register/report/eiareport/eia_1192005/HTML/Main%20Report/Annex/Annex%20A/Annex%20A-C.pdf).

Hu, J., Yang, T., Yin, S. y Cao, D. *Dissipation and residue of MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) in wheat and soil*. *Environ Monit Assess*; 184(8) (2012) 5017-24.

LibreTextsTM Español. "Teoría General de la Cromatografía en Columna". Consultada el 04/06/2023.

(https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica_2.1_%28Harvey%29/12%3A_M%C3%A9todos_Cromatogr%C3%A1ficos_y_Electrofor%C3%A9ticos/12.02%3A_Teor%C3%ADa_General_de_la_Cromatogr%C3%ADa_en_Columna).

Magazine online flores y plantas. "Paja de arroz". Consultada el 13/05/2023. (<https://www.floresyplantas.net/la-paja-de-arroz/>).

MERCK. "Extracción en fase sólida (SPE)". Consultada el 13/04/2023. (<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/solid-phase-extraction>).

Meseguer Lloret, S., Torres Cartas, S., Catalá Icardo, M. y Gómez Benito, C. (2016). *Selective and sensitive chemiluminescence determination of MCPB: flow injection and liquid chromatography*. *Applied Spectroscopy*. 70(2) (2016) 312-321.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. "Registro de Productos Fitosanitarios". Consultada el 11/04/2023. (<https://servicio.mapa.gob.es/regfiweb>).

Mira Valencia. "Sueca y el cultivo del arroz". Consultada el 11/04/2023. (<https://www.miravalencia.com/sueca-el-cultivo-del-arroz-y-lugares-de-interes/>).

Parques Naturales GVA. "Memoria de gestión del Parque Natural de la Albufera: año 2020". Consultada el 12/04/2023. (<https://parquesnaturales.gva.es/documents/80302883/161584555/13.+Memoria+de+Gesti%C3%B3n+2020.pdf/4ff5ff42-17a8-4d20-a939-45697f0995e0?t=1638448421700>).

Pérez Conde, C., Cámara, C., Fernández Hernando, P., Martín Esteban, A., y Vidal, M. (2002). *Toma y tratamiento de muestras*. Síntesis.

Portal Tecnoagrícola. "2,4-D". Consultada el 12/04/2023. (<https://www.buscador.portalteconoagricola.com/vademecum/esp/producto-tecnico/855/2,4-D>).

Portal Tecnoagrícola. "MCPA". Consultada el 12/04/2023. (<https://www.buscador.portalteconoagricola.com/vademecum/esp/producto-tecnico/1077/MCPA>).

R. Prado, R. y M.D., Osuna. (1999). *Resistencia a herbicidas. Detección en Campo y Laboratorio*. Congreso 1999 de la SEMh, Tema 9. Logroño.

Sede Electrónica del Catastro (SEC). "Sueca". Consultada el 04/05/2023. (<https://www.sedecatastro.gob.es/>).

Seebunrueng, Ketsarin & Phosiri, Preeyaporn & Apitanagotinon, Ronnapat y Srijaranai, Supalax. *A new environment-friendly supramolecular solvent-based liquid phase microextraction coupled to high performance liquid chromatography for simultaneous determination of six phenoxy acid herbicides in water and rice samples*. *Microchemical Journal*. 152 (2019) 104418.

Sgariglia, M., Araceli, J.R., Soberón, D.A., Sampietro D. y Vattuone M.A. (2010). *Cromatografía: conceptos y aplicaciones*. Revista Arakuku - Año 2 - Número 1 (1 – 6).

Soledad Rodríguez, B.E. *Análisis de contaminantes ambientales con polímeros de impronta molecular*. Revista Internacional de Contaminación ambiental 36(1) (2020) 197-207.

Sitem Herts. "PPDB: Pesticide Properties DataBase". Consultada el 11/04/2023. (<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/428.htm>).

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Grouch, S. R. (2018). *Principios de análisis instrumental*. Cengage Learning.

Sociedad Española de Cromatografías y Técnicas Afines. "La cromatografía". Consultada el 13/04/2023. (<https://www.secyta.es/es/node/25>).

Wikipedia. "Sueca". Consultada el 11/04/2023. (<https://es.wikipedia.org/wiki/Sueca>).