

Comportamiento del monoterpeno carvona en un suelo agrícola

Behavior of the monoterpene carvone in an agricultural soil

Gámiz, Beatriz^{*}; Facenda, Gracia; Celis, Rafael

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),
Avenida Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, España. * bgamiz@irnase.csic.es

Resumen

Los monoterpenos constituyen una familia de compuestos naturales para los que se han propuesto propiedades alelopáticas y, por lo tanto, presentan interés en cuanto a su posible uso como alternativas fitosanitarias respetuosas con el medio ambiente. Dado que la información existente acerca del comportamiento de los monoterpenos una vez que alcanzan el suelo es muy escasa, en este trabajo hemos estudiado los procesos de adsorción y persistencia de los dos enantiómeros del monoterpeno carvona aplicados como mezcla racémica a un suelo agrícola, así como el efecto de añadir al suelo una organoarcilla a una dosis del 2%. El proceso de adsorción no mostró enantioselectividad y fue más acentuado en el suelo enmendado con organoarcilla que en el suelo sin enmendar. La disipación de los enantiómeros en el suelo sin esterilizar fue enantioselectiva, más rápida para el enantiómero *S* que para el *R* y más rápida en el suelo sin enmendar que en el enmendado con organoarcilla. En suelo esterilizado, tanto sin enmendar como enmendado, la disipación de los enantiómeros fue muy escasa, lo que indicó el origen biológico de la disipación. Las constantes de disipación de la carvona fueron, por tanto, dependientes del enantiómero considerado y de la adición o no de la enmienda, lo que ilustra la posibilidad de considerar estas variables a la hora de optimizar la actividad y el destino medioambiental de este monoterpeno en su posible uso como producto fitosanitario.

Palabras clave: adsorción, biodegradación, bioplaguicidas, compuestos alelopáticos, quiralidad.

Abstract

Monoterpenes are a family of natural compounds which, due to their allelopathic activity, show potential as environmentally friendly agrochemicals. Given that the behavior of monoterpenes once they reach the soil environment is largely unknown, we studied the adsorption and persistence of the two enantiomers of the monoterpene carvone after their application as a racemic mixture to an agricultural soil. The effect of amending the soil with an organically-modified clay at a rate of 2% was also investigated. The adsorption of carvone by the soil was a non-enantioselective process, with greater adsorption of both enantiomers on the organoclay-amended soil than on the unamended soil. The dissipation of carvone in non-sterilized soil was enantioselective; the *S* enantiomer dissipated faster than the *R*-enantiomer, particularly in the unamended soil. Soil sterilization almost completely inhibited the degradation of carvone enantiomers in the soils, which indicated that the dissipation was mainly microbially mediated. Carvone dissipation rate constants were therefore enantiomer-dependent and were affected by the addition of the organoclay, thus showing the importance of considering these variables to optimize the activity and the environmental fate of carvone after its soil application.

Keywords: adsorption, allelochemicals, biodegradation, biopesticides, chirality.

Introducción

Los compuestos alelopáticos constituyen un grupo de compuestos naturales que, por su actividad biológica, presentan potencial para ser utilizados como alternativas fitosanitarias respetuosas con el medio ambiente [1]. Entre los compuestos alelopáticos, los monoterpenos se consideran particularmente interesantes, ya que diversos estudios han puesto de manifiesto su actividad herbicida, fungicida o insecticida [2].

La carvona (Fig. 1) es un monoterpeno natural que se encuentra en muchos aceites esenciales, especialmente en las semillas de alcaravea, hierbabuena y eneldo. Debido a la presencia de un carbono asimétrico en su estructura, la carvona puede existir como dos enantiómeros (*R* y *S*). Para ambos enantiómeros se han descrito propiedades biológicas de interés para la protección de los cultivos; sin embargo, existe muy poca información acerca del comportamiento de la carvona una vez que alcanza el suelo, siendo esta información fundamental a la hora de predecir su eficacia y su destino en el medioambiente, en relación con su posible uso como alternativa fitosanitaria.

El objetivo del presente trabajo ha sido el de caracterizar los procesos de adsorción y disipación de los dos enantiómeros del monoterpeno carvona en un suelo agrícola, así como evaluar el efecto de la adición de una arcilla modificada, como paso preliminar a un conocimiento más profundo que permita optimizar su aplicación como agroquímicos.

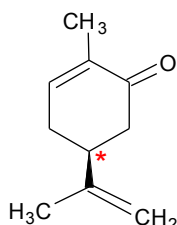


Fig. 1 – Estructura química de la carvona. El asterisco indica el carbono asimétrico.

Materiales y métodos

Carvona, suelo y enmienda

En este trabajo hemos utilizado la forma racémica de la carvona, preparada a partir de la mezcla equimolar de los dos enantiómeros suministrados por Sigma-Aldrich.

El suelo utilizado fue un suelo franco-arenoso del suroeste de España destinado al cultivo de olivar. Las características del suelo se resumen en la Tabla 1.

La enmienda utilizada fue una organoarcilla preparada a partir de la modificación de una montmorillonita de Arizona (SAz-1) con cationes hexadeciltrimetilamonio (HDTMA). El contenido en carbono de la organoarcilla (SA-HDTMA) fue del 22.1% y el de nitrógeno del 1.42%.

Tabla 1 – Características del suelo utilizado

Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	C.O. (%)	pH
75	9	17	0.63	7.3

Estudio de adsorción

El estudio de adsorción se llevó a cabo por triplicado en tubos de vidrio en los que se pesaron 4 g de suelo, sin enmendar o enmendado con 80 mg de organoarcilla, y a los que se añadieron 8 ml de disoluciones racémicas de carvona preparadas en agua, con concentraciones iniciales en el rango de 0.1 a 2 mg/l (0.05-1 mg/l de cada enantiómero). Los tubos con suelo, sin enmendar o enmendado, se sometieron a 3 esterilizaciones en días consecutivos, en un autoclave a 121 °C y 200 kPa durante 20 minutos, antes de añadirles las disoluciones de carvona, con el fin de evitar los procesos biodegradativos durante el experimento. Los tubos se agitaron a 20 ± 2 °C durante 24 h y posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos. A continuación, se recogieron 4 ml de los sobrenadantes, se estabilizaron con 4 ml de metanol y se analizaron por HPLC. Las cantidades adsorbidas se determinaron a partir de la diferencia entre las concentraciones

iniciales y las de los sobrenadantes tras las 24 de agitación con el suelo. Las isotermas de adsorción obtenidas se ajustaron a la ecuación de Freundlich para obtener los correspondientes coeficientes de adsorción.

Estudio de disipación

El estudio de disipación se llevó a cabo mediante incubaciones en condiciones aeróbicas y de oscuridad a 20 ± 2 °C. Se pesaron 100 g de suelo (sin enmendar o enmendado con 2 g de organoarcilla) en un recipiente de vidrio con cierre hermético y se adicionó agua destilada para conseguir un porcentaje de humedad del 30%. A continuación se añadió carvona en forma de mezcla racémica a una dosis de 2 mg/kg (1 mg/kg de cada enantiómero) y se homogeneizó la mezcla con una espátula. Periódicamente, entre 0 y 7 días, se tomaron muestras de 3 g de suelo, las cuales se congelaron inmediatamente hasta su análisis. Para el análisis, se extrajeron las muestras con 8 ml de metanol, agitando durante 24 h y analizando los extractos por HPLC para determinar la concentración de cada enantiómero en los mismos. El estudio de disipación se llevó a cabo por duplicado tanto con muestras de suelo sin esterilizar como con muestras de suelo sometidas a tres esterilizaciones en días consecutivos, en autoclave a 121 °C y 200 kPa de 20 minutos cada una. Las curvas de disipación en suelo sin esterilizar se ajustaron a una cinética de primer orden para obtener los correspondientes tiempos de vida media.

Análisis enantioselectivo

El método analítico utilizado para obtener las concentraciones de los enantiómeros de la carvona fue la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en su modalidad quiral. Esta técnica se basa en el uso de una fase estacionaria quiral cuya diferente afinidad por los enantiómeros del analito lleva a la separación de los mismos en el análisis cromatográfico. La columna utilizada para el análisis fue una columna Chiralpak IG empacquetada con

tris-(3-cloro-5-metilfenilcarbamato) y la fase móvil una mezcla acetonitrilo:agua al 50% a un flujo de 1 ml/min. El volumen de inyección fue de 50 µl y la longitud de onda de detección 236 nm. Bajo estas condiciones, los enantiómeros *R* y *S* de la carvona eluyeron a 8.0 y 8.9 minutos, respectivamente.

Resultados y discusión

Estudio de adsorción

Los coeficientes obtenidos del ajuste de las isotermas de adsorción a la ecuación de Freundlich se muestran en la Tabla 2. Puede observarse que, tanto para el suelo sin enmendar como para el suelo enmendado, los valores de K_f y $1/n_f$ fueron similares para ambos enantiómeros. Por tanto, el proceso de adsorción de carvona al suelo no mostró enantioselectividad.

Tabla 2 – Coeficientes de Freundlich para la adsorción de los enantiómeros de carvona en suelo sin enmendar y enmendado con organoarcilla

Enantiómero	K_f	$1/n_f$	R^2
Suelo sin enmendar			
<i>R</i> -carvona	0.61	0.77	0.998
<i>S</i> -carvona	0.62	0.75	0.994
Suelo enmendado			
<i>R</i> -carvona	1.93	0.80	0.998
<i>S</i> -carvona	1.92	0.80	0.997

La adición de organoarcilla al suelo dio lugar a un importante incremento en la adsorción de los dos enantiómeros. Los valores del coeficiente de Freundlich K_f obtenidos para el suelo enmendado fueron unas 3 veces superiores que los obtenidos para el suelo sin enmendar (Tabla 2). El elevado poder adsorbente de la organoarcilla, con la que los enantiómeros de carvona podrían establecer interacciones hidrofóbicas gracias a la presencia del catión modificador (HDTMA), explicaría el aumento de adsorción en el suelo enmendado, de forma que la adición de organoarcilla al suelo se presenta como una buena estrategia para aumentar la capacidad adsorbente de éste para los dos enantiómeros de la carvona y, por tanto,

para evitar posibles pérdidas por transporte de los mismos.

Estudio de disipación

En suelo esterilizado, tanto sin enmendar como enmendado con organoarcilla, la disipación de los enantiómeros de carvona fue muy escasa, llegándose a recuperar más de un 80% de ambos enantiómeros al cabo de 7 días de incubación. Por el contrario, la disipación de los enantiómeros de carvona en el suelo sin esterilizar fue rápida y enantioselectiva, mostrando el enantiómero *S* una menor persistencia que el enantiómero *R*. Los tiempos de vida media en el suelo sin enmendar fueron de 0.7 días para el enantiómero *S* y de 1.2 días para el enantiómero *R*. En el suelo enmendado con organoarcilla, los tiempos de vida media aumentaron a 1.6 y 2.6 días, para los enantiómeros *S* y *R*, respectivamente. La mayor adsorción de los enantiómeros de carvona en el suelo enmendado probablemente redujo su accesibilidad para los microorganismos del suelo, retrasando la disipación [3]. No obstante, los dos enantiómeros mostraron una elevada biodisponibilidad final, pues su disipación al cabo de 7 días de incubación fue superior al 90% tanto en suelo sin enmendar como enmendado.

Conclusiones

La degradación de carvona en el suelo estudiado fue rápida y enantioselectiva, con el enantiómero *R* presentando una mayor persistencia que el *S*. La ausencia de disipación en suelo esterilizado mostró a los procesos biodegradativos como causa principal de la disipación del compuesto. La adición de organoarcilla aumentó la capacidad adsorbente del suelo para ambos enantiómeros y redujo la velocidad de degradación de los mismos. Los resultados revelan que la adición de enmiendas podría ser una buena estrategia para modular la biodisponibilidad y persistencia de la carvona en los suelos, con el fin de optimizar su aplicación como agroquímico.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (Proyecto AGL2017-82141-R) y la Junta de Andalucía (Grupo de Investigación AGR-264) con fondos FEDER-FSE. Beatriz Gámiz también agradece al MINEICO la concesión de un Contrato Juan de la Cierva-Incorporación (IJCI-2015-23309).

Referencias bibliográficas

- [1] Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Varela, R.M., Galindo, J.C.G. 2007. Allelopathy – a natural alternative for weed control. PEST MANAG SCI 63: 327-348.
- [2] Van Roon, A., Parsons, J.R., Te Kloeze, A.M., Govers, H.A.J. 2005. Fate and transport of monoterpenes through soils. Part I. Prediction of temperature dependent soil fate model input-parameters. CHEMOSPHERE 61: 599-609.
- [3] Gámiz, B., Cox, L., Hermosín, M.C., Spokas, K., Celis, R. 2017. Assessing the effect of organoclays and biochar on the fate of abscisic acid in soil. J AGRIC FOOD CHEM 65: 29-38.