



Universidad Nacional del Comahue  
Facultad de Ciencias del Ambiente y de la Salud

*DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA DEL AGUA  
DE LA BAJA CUENCA DEL RÍO NEUQUÉN ASOCIADA A  
LAS ACTIVIDADES HIDROCARBURÍFERA Y AGRÍCOLA*

Tesis para optar al título de Licenciada en Saneamiento y  
Protección Ambiental

López Ordieres María Clara

Neuquén, 2016

TESISTA

López Ordieres María Clara  
(Legajo 124.960)

DIRECTORA DE TESIS

MSc. Monza Liliana Beatriz – FACIAS – Universidad Nacional del  
Comahue

CO-DIRECTORA DE TESIS

Lic. Latini Lorena Andrea – FACIAS – Universidad Nacional del  
Comahue

FECHA DE APROBACIÓN DEL PLAN DE TESIS

14 de septiembre de 2015

FECHA DE FINALIZACIÓN DE LA TESIS

20 de junio de 2016

JURADO DE TESIS

Dra. Pechen, Ana María  
Dra. Dufilho, Ana Cecilia  
MSc. Loewy, Ruth Miriam

# Agradecimientos

Me gustaría expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a:

Mi mamá Ana, por ser incondicional, por todo su amor y brindarme herramientas para desenvolverme en la vida;

Mis hermanos, mi familia de sangre y de corazón, quiénes han acompañado mi crecimiento personal y me han ayudado en infinidad de cuestiones;

Mi directora de tesis Liliana Monza y co-directora Lorena Latini por dirigir este trabajo, poner al alcance de mi mano todos los medios posibles para su realización, así como también por el asesoramiento durante la ejecución de este trabajo y por las minuciosas revisiones del contenido, que hicieron de este escrito un producto de calidad;

A las “chicas” del Laboratorio de Cromatografía (Mercedes Indaco, Eugenia Parolo, Betsabé Lares, Belén Aguiar, Mónica Savini) por ayudarme en el trabajo de mesada y muestreo, evacuar mis dudas y por su buena predisposición siempre;

A los jurados de este trabajo de tesis, cuyas observaciones y correcciones han enriquecido mi trabajo;

A la Universidad Pública que me permite a mí y al resto de los universitarios argentinos titularnos para tener una buena calidad de vida y realizar aportes en pos de una sociedad mejor.

*AD ASTRA PER ASPERA*

# Resumen

El área de mayor producción de la actividad agrícola en la Provincia del Neuquén se extiende sobre el valle inferior del río homónimo, en los departamentos Confluencia y Añelo. A los cultivos tradicionales de peras y manzanas se han sumado en los últimos años viñedos, fruta fina, cereales, olivares y hortalizas, totalizando en este sector más de 20.000 hectáreas bajo riego. En esta misma región se asientan los yacimientos de petróleo y gas más importantes de la cuenca Neuquina y, en la actualidad, se explota la roca madre mediante métodos *no convencionales* con 1.039 pozos perforados en los últimos tres años y expectativas de un crecimiento exponencial, ya que se trata de la segunda y cuarta reserva mundial de gas y petróleo no convencional, respectivamente. El agua del río es un recurso indispensable para todas las labores agrícolas e industriales, así como también para abastecer una población creciente asentada en varias localidades a lo largo de su curso hasta la confluencia con el río Limay.

El objetivo del presente trabajo fue realizar un relevamiento de la calidad química del agua del río Neuquén, asociada a la presencia de hidrocarburos y agroquímicos y fijar los niveles actuales de estos contaminantes como medida de futuros impactos que pudieran producirse como consecuencia del desarrollo descrito. Para ello se seleccionaron 23 sitios de muestreo, 14 en el río, 4 en los embalses Los Barreales y Mari Menuco y 5 en canales de riego y drenaje de chacras. El área abarca alrededor de 120 km del curso inferior del río, desde una zona netamente rural, atravesando los sectores productivos, yacimientos de gas y petróleo y la zona más densamente poblada de Confluencia.

Se analizaron plaguicidas organoclorados, plaguicidas organofosforados, carbamatos, piretroides e hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos en muestras de agua y sedimentos superficiales, mediante CG-NPD, CG-FID, CG- $\mu$ ECD y CG-MS. Los resultados muestran la presencia de hidrocarburos alifáticos resueltos en el rango ND-51,44  $\mu\text{g/g}$  ps (peso seco) de sedimento. Sólo en dos sitios se superó el valor de referencia de UNEP (10  $\mu\text{g/g}$  ps). La aplicación de índices de estimación de origen para los hidrocarburos detectados señala que proceden de plantas vasculares y algas, y no se corresponden con contaminación petrogénica. En ninguna muestra se hallaron hidrocarburos poliaromáticos. En cuanto a los plaguicidas analizados, en un drenaje fue detectado clorpirifos (23 ppb) en sedimentos y trazas en un canal de riego. Ambas muestras fueron recolectadas dentro de la temporada de mayor aplicación de agroquímicos. En 4 sitios correspondientes a la zona de la confluencia fue detectado p-p'-DDE (1,29 – 5,43  $\mu\text{g/kg}$

ps) en sedimentos, superando el valor guía para protección de la vida acuática en sedimentos fijado por el Consejo Canadiense de Ministros de Ambiente (CCME) en 1,42 µg/kg ps.

Con el propósito de estimar un nivel de riesgo por presencia de plaguicidas se aplicó el índice PRISW-1 en tres niveles tróficos (alga, invertebrado acuático y pez). Para ello se seleccionaron como concentraciones esperadas los LD y LC del método analítico y los valores guía disponibles. El índice se aplicó para clorpirifos y metil azinfos, ya que estos plaguicidas son los históricamente detectados en canales de riego y de drenajes. Los resultados indican que aun a concentraciones del LD del método, el nivel de riesgo esperado resultaría pernicioso para las comunidades acuáticas.

Se concluye que el agua de la baja cuenca del río Neuquén presenta una buena calidad respecto de los compuestos estudiados. Sin embargo, deben establecerse planes de vigilancia dada la vulnerabilidad del recurso ante el avance de las actividades que se desarrollan en la región.

Palabras claves: residuos de plaguicidas; hidrocarburos alifáticos; hidrocarburos policíclicos aromáticos, extracción asistida por ultrasonido; evaluación de riesgo ecotoxicológico; sedimentos; agua.

## Abstract

The main area of crop production in Neuquén Province extends over the low-middle valley from the homonymous river, at Confluencia and Añelo departments. In the last few years, vineyard, fine fruits, cereals, olives and vegetables have been added to the traditional pear and apple crops, totalizing in this sector more than 20.000 hectares under irrigation. This region also holds the most important oil and gas fields from Neuquén basin. Nowadays, unconventional formations are being developed using a technique known as hydraulic fracturing, with approximately 1.039 wells drilled in the last three years. Moreover, an exponential growth is expected; because of these fields represent the second and fourth largest reserves of shale oil and gas of the planet. The river water is an indispensable resource for the region's agricultural and industrial activities. It also supplies growing populations in several villages along its course until the confluence with Limay river.

The goal of the present study was to survey water quality in Neuquén river, search for the presence of hydrocarbons and agrochemicals presence and set the current levels of these pollutants as a future measure of impacts that may occur as a consequence of the described development. Therefore, specific sampling points (fourteen in the rivers, four in Los Barreales and Mari Menuco dams, and five in irrigation and drainage channels) were selected. The area covers approximately 120 km of the lower course of the river, stretching over a rural area, oil and gas fields, as well as the most inhabited zone of Confluencia.

Organochlorines, organophosphates, carbamates and piretroids pesticides and aliphatic and polycyclic hydrocarbons were analyzed in water and superficial sediments samples, by GC-NPD, GC-FID, GC- $\mu$ ECD and GC-MS. The outcomes show the presence of resolved aliphatic hydrocarbons in the range of ND-51.44  $\mu$ g/g dw (dry weight) sediment. Only in two sites, the UNEP's guideline (10  $\mu$ g/g dw) was exceeded. The application of the diagnosis indexes for the detected hydrocarbons indicates that they come from vascular plants and algae, and they do not correspond with petrogenic pollution. Polycyclic aromatic hydrocarbons were not detected along this study. With regards to the analyzed pesticides, chlorpyrifos was detected in sediments of a drainage (23 ppb) and in an irrigation channel (Tz). Both samples were collected within the agrochemicals application period. In four sites near the confluence zone p,p'-DDE (1,29-

5,43 µg/kg dw) was detected in sediments, at a concentration exceeding the limit established as quality criteria for sediments from the CCME (1,42 µg/kg dw).

With the aim of estimating a risk level due to the presence of pesticides, PRISW-1 index was applied in three trophic levels (algae, aquatic invertebrate and fish). The LD and LQ of the analytical method and the recommended guidelines were selected as predicted environmental concentrations. The index was calculated for chlorpyrifos and azinphos methyl since these pesticides are the historically detected in drainage and irrigation channels. The results indicate that even at LD concentrations, the risk level would be hazardous for aquatic communities.

In conclusion, Neuquén river represents good quality water with regards to concentrations of the studied compounds. Nevertheless, surveillance plans should be established because of the vulnerability of the resource in face of the developments in the region.

Keywords: Pesticide residues; hydrocarbons; sonication-assisted extraction; ecotoxicological risk assessment; sediments; water.

# Tabla de contenido

Agradecimientos .....	3
Resumen .....	4
Abstract .....	6
1. Introducción .....	11
1.1. El valle de los ríos Neuquén y Negro .....	11
1.2. La fruticultura y la actividad hidrocarburífera en el valle del río Neuquén .....	13
1.3. Los potenciales efectos tóxicos derivados de la actividad agrícola y de la explotación hidrocarburífera .....	16
1.4. Los métodos de extracción de agroquímicos en muestras de suelo .....	19
1.5. Planteo del problema .....	19
2. Objetivos .....	20
2.1. Objetivo general .....	20
2.2. Objetivos específicos .....	21
PRIMERA PARTE .....	22
3. Marco teórico .....	22
3.1. Contaminación del agua superficial por hidrocarburos y plaguicidas .....	22
3.2. Estimación del origen de los hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos .....	25
3.3. Destino y transporte de los plaguicidas e hidrocarburos en el ambiente .....	28
3.4. Evaluación de riesgo ecotoxicológico mediante la relación Exposición-Toxicidad .....	31
3.5. Normativa y guías de calidad de agua y sedimentos .....	33
4. Antecedentes en el área de estudio .....	36
SEGUNDA PARTE .....	40
5. Validación de extracción asistida por ultrasonido en micro-columnas para análisis de plaguicidas en suelo .....	40
5.1. Ultrasonido aplicado al análisis de muestras .....	40
5.2. Fundamentos del ultrasonido .....	42
5.3. Aplicaciones de la energía ultrasónica al análisis de residuos de plaguicidas en muestras de suelo .....	43

5.4.	Validación de un método analítico .....	44
5.4.1.	Linealidad y bondad de ajuste .....	44
5.4.2.	Exactitud.....	46
5.4.3.	Repetibilidad.....	46
5.4.4.	Límites de detección y de cuantificación.....	47
5.5.	Validación de EAUMC en el Laboratorio de Cromatografía – UNCo.....	48
5.5.1.	Ensayos de recuperación de plaguicidas organofosforados y carbamatos ....	49
5.5.2.	Análisis cromatográfico.....	51
5.5.3.	Parámetros analíticos de la EAUMC.....	51
5.6.	Resultados de los ensayos de recuperación.....	52
TERCERA PARTE.....		56
6.	Materiales y Métodos .....	56
6.1.	Área de estudio .....	56
6.1.1.	pH del agua .....	60
6.1.2.	Temperatura del agua .....	61
6.1.3.	Oxígeno disuelto.....	61
6.1.4.	Conductividad eléctrica del agua .....	62
6.1.5.	Potencial redox de sedimentos .....	62
6.1.6.	Granulometría de los sedimentos .....	63
6.2.	Métodos de extracción y análisis de los compuestos.....	64
6.2.1.	Hidrocarburos .....	64
6.2.2.	Plaguicidas organoclorados.....	65
6.2.3.	Plaguicidas organofosforados y carbamatos.....	65
6.3.	Parámetros analíticos.....	66
6.3.1.	Exactitud.....	66
6.3.2.	Linealidad .....	67
6.3.3.	Repetibilidad.....	67

6.3.4.	Límites de detección y de cuantificación .....	67
6.4.	Evaluación de riesgo ecotoxicológico .....	68
6.5.	Origen de los hidrocarburos .....	69
7.	Resultados.....	69
7.1.	Primera campaña .....	69
7.1.1.	Análisis de plaguicidas en agua.....	70
7.1.2.	Análisis de hidrocarburos.....	70
7.2.	Segunda campaña .....	73
7.3.	Tercera campaña .....	74
7.4.	Cuarta campaña.....	74
7.4.1.	Análisis de hidrocarburos.....	76
7.4.2.	Análisis de plaguicidas organoclorados .....	78
7.5.	Evaluación de riesgo ecotoxicológico .....	78
8.	Discusiones .....	81
8.1.	Plaguicidas.....	81
8.2.	Hidrocarburos.....	83
9.	Conclusiones y recomendaciones.....	86
10.	Bibliografía.....	88
11.	Anexos.....	93
11.1.	Curvas de estándares para calibración de la validación de EAUMC.....	93
11.2.	Determinaciones fisicoquímicas del agua.....	99

# 1. Introducción

## 1.1. El valle de los ríos Neuquén y Negro

El norte de la Patagonia argentina es un área de transición entre el clima templado y el semiárido; allí se ubica el valle de los ríos Negro y Neuquén en las provincias homónimas, donde los suelos con aptitud agrícola y la gran disponibilidad hídrica constituyen recursos de una gran potencialidad agroproductiva. Las obras de riego y de drenaje posibilitan la actividad a gran escala, con una marcada especialización en el uso del suelo, dedicado principalmente al cultivo de peras y manzanas, aunque también se cultivan cereales, oleaginosas, forrajes y hortalizas.

La consolidación de la fruticultura, como producción que vertebra la dinámica socioeconómica, delineó el territorio desde 1930 (Radonich et al., 2008). La importancia del área se relaciona con su vocación al mercado internacional desde su creación, lo que ha orientado la constante incorporación tecnológica para responder a las exigentes demandas del mercado externo. Según datos de la Fundación Barrera Zoofitosanitaria Patagónica (FUNBAPA), las pomáceas frescas representan el 45% de todas las exportaciones de frutas argentinas; de ese porcentaje, el 95% de la producción se origina en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén (FUNBAPA, 2007). Cabe mencionar que Argentina es el primer exportador de peras del mundo, por lo que la fruticultura es la base de una de las principales economías regionales del país. En el año 2013, se contabilizó una producción total de 686.069 Tn de peras y 694.980 Tn de manzanas en el Alto Valle (Villarreal et al., 2010).

La región presenta una precipitación media anual de 188 mm, heladas primaverales tardías que frecuentemente afectan a los cultivos, e intensa radiación solar en verano (FUNBAPA, 2007). Los vientos predominantes son de los cuadrantes oeste y sudoeste, con mayor frecuencia en primavera-verano. Su intensidad obliga a utilizar cortinas cortavientos en el perímetro de los cuadros de los cultivos, para lo cual tradicionalmente se plantan diferentes especies de álamos. El granizo es otra adversidad climática que afecta el área, con frecuencia e intensidad variable, causando pérdidas económicas en la producción. Los suelos de la región se caracterizan por su baja meteorización, con un perfil profundo y sin gran desarrollo edáfico. Son de origen coluvial, de texturas arenosas y franco limosas, con un contenido de materia orgánica entre 1% y 5% en el valle aluvial y con velocidad de infiltración de media a alta (FUNBAPA, 2007).

La cuenca del río Neuquén tiene una extensión aproximada de 32.500 km<sup>2</sup>. El régimen hidrológico del río es pluvionival y posee dos ondas de crecidas en el año: la primera de ellas ocurre en época invernal, principalmente en el período mayo - agosto originada por precipitaciones líquidas y sólidas. La segunda crecida ocurre hacia fines de la primavera (noviembre - diciembre) principalmente por la fusión de la nieve (AIC, 2001). Los estiajes son habituales hacia fines del verano y comienzo del otoño (febrero - abril).

El caudal medio anual del río Neuquén medido en la estación de aforo Paso de los Indios es de 310 m<sup>3</sup>/s. El régimen hidrológico del cauce principal no se ve alterado hasta Portezuelo Grande. En este sitio se emplaza un dique derivador que regula el caudal del río Neuquén en 12 m<sup>3</sup>/s y deriva los excedentes a dos embalses laterales consecutivos: Los Barreales y Mari Menuco, sobre la margen derecha del río. Estos embalses están conectados a través de la obra de control Loma de la Lata. A la salida del embalse Mari Menuco se ubica la central hidroeléctrica Planicie Banderita. Luego de pasar por las turbinas, el agua se reintegra al curso del río mediante un canal de restitución. A partir de este punto, el caudal del río aumenta considerablemente, aunque con un módulo de 280 m<sup>3</sup>/s. Todas estas obras integran el Complejo Cerros Colorados (Figura 1).

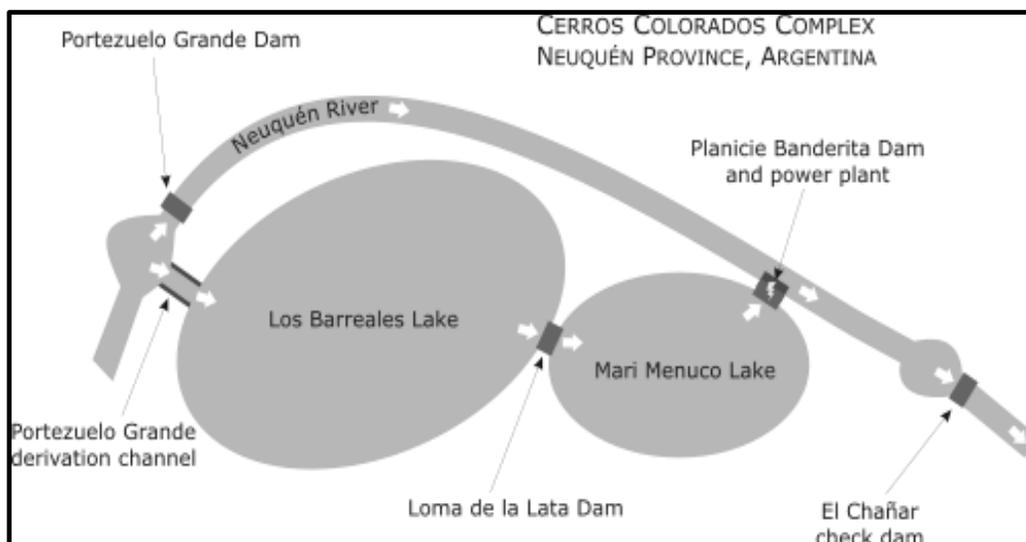


Figura 1. Obras hidráulicas en el río Neuquén tramo Portezuelo Grande – dique compensador El Chañar. Fuente: <http://aguaspatagonicas.com/cuenca-del-rio-neuquen/complejo-cerros-colorados>.

Aguas abajo del sitio de la restitución se emplaza el dique compensador de caudales El Chañar y el dique derivador Ingeniero Ballester, este último capaz de desviar caudales

para el riego del sistema del bajo valle y excesos hacia el lago artificial Pellegrini. La regulación que posibilitan los embalses se traduce en la disponibilidad de caudales en la época de estiaje del río, coincidente con la alta demanda de agua para el riego de los cultivos.

## 1.2. La fruticultura y la actividad hidrocarburífera en el valle del río Neuquén

El área de mayor representatividad de la actividad frutícola en la Provincia del Neuquén se extiende sobre el valle medio-inferior del río homónimo, en los departamentos Confluencia y Añelo. La región presenta un avance continuo de la frontera agrícola hacia el noroeste del tradicional bajo valle neuquino. Debido a que la precipitación anual promedio es cercana a los 200 mm, se debe regar para suplir la demanda evapotranspirativa de 950 mm/año en frutales (Dufilho et al., 2012). La modalidad de riego más generalizada es por inundación, para lo cual se construyó una red de canales de riego que capta agua del río Neuquén y colectores de drenaje que recogen el excedente de riego y lo conduce nuevamente hacia el río. La disponibilidad de suelo apto para agricultura y de agua permite una constante sistematización de tierras para la agricultura. Según un reporte del Servicio Nacional de Seguridad Alimentaria, en el año 2013 la superficie total cultivada en la Provincia del Neuquén fue de 36.877 hectáreas, con peras y manzanas, y en menor medida, con ciruelas, cerezas, duraznos y pelones, (SENASA, 2014).

Los núcleos agroproductivos sustentados por el río Neuquén son:

- ❖ **Sauzal Bonito.** Es un pequeño paraje rural ubicado en la planicie aluvial del río, aguas arriba del derivador Portezuelo Grande, con un canal de riego de 10 km de longitud que abastece un área productiva estimada en 70 hectáreas, principalmente de alfalfa, frutales y en menor medida horticultura.
- ❖ **Añelo.** Su producción es fundamentalmente agropecuaria, con cultivos de frutas y hortalizas. El canal existente tiene capacidad para un riego potencial de 5.000 hectáreas, aunque actualmente es menor la superficie puesta en producción.

- ❖ **San Patricio del Chañar.** Cuenta con 20.000 hectáreas aptas para la producción. Las actuales áreas bajo riego alcanzan las 4.000 hectáreas. La parte efectivamente productiva destina el 85% a frutales de pepita y el 6% a la producción de vides. Los cultivos de manzanas, peras y frutales de carozo, se alternan con la producción de uvas para vinificación de alta calidad. Ésta es la producción más tecnificada de la provincia y una de las más modernas del país. El Estado provincial ha invertido en infraestructura de canales y ha promovido la inversión privada para el desarrollo agrícola con tecnología de punta y de alta rentabilidad, predominando los establecimientos medianos y grandes con riego presurizado. Existen además 2.000 hectáreas dedicadas a la explotación ganadera de caprinos.
  
- ❖ **Vista Alegre y Centenario.** La producción y empaque de frutas de pepita y carozo constituyen las principales actividades económicas, contando con 3.000 ha. La producción tradicional se encuentra desde los últimos años en plena expansión, reconversión y diversificación, mediante actividades que engloban frutas finas, apicultura, viticultura, floricultura y agroturismo. El riego es administrado por los consorcios de Vista Alegre y Colonia Centenario. La boca toma del canal Centenario se ubica sobre la margen derecha del río aguas abajo del dique Ballester y tiene una longitud de 21,5 km.

La carpocapsa (*Cydia pomonella*, L.) es plaga clave en las zonas de producción de pomáceas de nuestro país y del mundo, y ha sido declarada plaga nacional de la agricultura, lo que significa que su control es obligatorio por ley (FUNBAPA, 2007). Aunque el manejo integrado de plagas se aplica en forma creciente en la región, todavía una gama de insecticidas de amplio espectro es utilizada con el fin de controlar las principales plagas agrícolas (Tosi et al, 2009). Las larvas de carpocapsa penetran en manzanas, peras, membrillos y nueces para alimentarse de las semillas. Los frutos atacados pierden valor comercial y son rechazados en el mercado, produciendo importantes pérdidas en la economía regional y un posible cierre de exportaciones. Además es plaga cuarentenaria para el mercado brasilero, es decir, su detección implica el retiro de los lotes para exportación a ese país.

La lucha contra la plaga en la Norpatagonia se basa principalmente en la pulverización de insecticidas dispersados en agua con equipos terrestres. Se entiende por pulverización al fraccionamiento de una masa líquida proyectada por cañerías que se

rompe en partículas o gotas de distinto tamaño en la boquilla del equipo pulverizador, y sale como una nube dirigida a la superficie de las plantas, aunque una fracción se pierde hacia el suelo. El inicio de la temporada de aplicación sobre el monte frutal es en octubre y finaliza en febrero-marzo. La actividad agroindustrial (jugueras, galpones de empaque, sidreras y frigoríficos) también emplea agroquímicos, en los meses de abril y mayo. La mayor cantidad de agroindustrias se ubica en la Provincia de Río Negro.

Desde las últimas décadas del siglo XX se transita un proceso de reestructuración productiva y comercial en la cadena agrícola por una creciente globalización del capital y del consumo, por la redefinición de actores sociales agrarios y por la reconfiguración del territorio. El Gobierno Nacional incentiva la inversión privada con intervención estatal, para la exportación de productos agrícolas no tradicionales (Radonich et al., 2008), como vinos y frutas finas. En esta línea, el Gobierno Provincial del Neuquén instrumenta mecanismos para impulsar, diversificar e integrar la actividad agrícola, como el Plan Productivo de reconversión de la matriz productiva, que con fuerza de Ley (N°2669), se viene implementando desde 1999. Entre sus objetivos, se encuentran la radicación de nuevas actividades agrícolas y puesta en producción de mayor superficie de cultivo, para lo cual será necesario incrementar las zonas bajo riego y promocionar la instalación de la infraestructura de industrialización de la producción primaria.

Desde el 2013, el Gobierno Nacional ha implementado una línea de crédito con el fin de impulsar la actividad frutícola, destinada a productores de frutales de pepita, cereza y frutos secos. También existen proyectos de ampliación de la infraestructura vinculada a la actividad en la Provincia del Neuquén, instrumentados a través del Programa de Servicios Agrícolas Provinciales (PROSAP) de la Nación. Entre ellos se destacan el sistema de riego y drenaje Colonia Centenario y Vista Alegre, el sistema de riego y drenaje San Patricio del Chañar y la electrificación de las zonas agrícolas de Añelo (Secretaría de Política Económica y Planificación del Desarrollo, 2014).

Las actividades agrícolas concomitan con las agroindustriales, la extracción de gas y petróleo, turismo, ganadería extensiva, generación de energía eléctrica, actividades comerciales y asentamientos urbanos y rurales. Así mismo, la cuenca abastece de agua para consumo humano a las localidades de Añelo, San Patricio del Chañar, Vista Alegre, Colonia Centenario, Neuquén y Cipolletti, las que vuelcan sus efluentes tratados o sin tratar en los ríos de la región.

La historia de la actividad hidrocarburífera en la Provincia del Neuquén se remonta al

año 1918, cuando se descubre el primer pozo de petróleo en Plaza Huincul. Desde entonces, la actividad ha venido ampliándose, con una mayor exploración del subsuelo, explotación de nuevas áreas, industrialización del crudo y comercialización de los productos (gas y derivados del petróleo). Actualmente, la actividad está concentrada en el área correspondiente a la cuenca baja del río Neuquén. Según datos del Instituto Argentino de la Energía (IAE) la cuenca hidrocarburífera Neuquina es a nivel nacional primera en reservas comprobadas de gas natural y segunda en reservas comprobadas de petróleo (IAE, 2012). Asimismo, la formación Vaca Muerta tiene uno de los mejores prospectos de *shale* a nivel mundial, siendo reconocida como segunda en reservas de gas no convencional y cuarta en reservas de petróleo.

La actividad hidrocarburífera es significativa en la provincia: al mes de febrero de 2016, el número de pozos de producción de gas y de petróleo no convencional llegó a 1.039 (Subsecretaría de Energía, Minería e Hidrocarburos, 2016). La puesta en producción de yacimientos no convencionales trajo aparejado un explosivo crecimiento demográfico en los asentamientos próximos a la actividad y en la capital provincial, reflejado en los datos oficiales. Según el relevamiento del Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas, en el año 2010 había un total de 551.266 habitantes en la Provincia del Neuquén de los cuales 10.786 correspondían al departamento de Añelo (INDEC, 2010). Para el 2019, se proyecta que la población provincial ascenderá a 683.857 habitantes y a 16.003 en Añelo (Dirección Provincial de Estadística y Censos de la Provincia del Neuquén, 2015).

### 1.3. Los potenciales efectos tóxicos derivados de la actividad agrícola y de la explotación hidrocarburífera

Los mercados internacionales demandan manzanas y peras libres de plagas, entre ellas *Cydia pomonella* L. La elevada población de plagas hace que el control en la mayor parte de la región se base en el método químico que consiste en la aplicación de plaguicidas dentro de planes fitosanitarios. Hasta 1990, se aplicaban compuestos organoclorados, entre ellos el diclorodifeniltricloroetano (DDT), pero desde la sanción del decreto 2121/90 se prohíbe la importación, fabricación, fraccionamiento, comercialización y uso del DDT, debido a su elevada toxicidad para la salud humana, estabilidad química, alto poder residual, bioacumulación, biomagnificación en los niveles tróficos y amplio

espectro de acción (no selectivo).

Los organoclorados fueron sustituidos por metil azinfos, carbaril, fosmet, diazinón, clorpirifos, metidati6n y derivados de los piretroides (FUNBAPA, 2007; Chicon & Fernández, 2011). Estos compuestos poseen un amplio espectro de acci6n, produciendo efecto t6xico no s6lo en la plaga que buscan controlar, sino tambi6n en muchos otros organismos no blanco con los que entran en contacto, inclusive el ser humano (Van Toan et al., 2013) pudiendo reducir la diversidad y abundancia de especies, deteriorando la estructura y funci6n del ecosistema y la disponibilidad de alimento de los organismos (Ferrari, 2011).

Los plaguicidas hist6ricamente aplicados en la regi6n fueron clasificados por la Organizaci6n Mundial de la Salud como muy peligrosos (metil azinfos) y moderadamente peligrosos (clorpirifos, carbaril, fosmet, metidati6n, esfenvalerato, fenvalerato, permetrina y  $\lambda$ -cialotrina). La exposici6n humana a plaguicidas organofosforados inhibe irreversiblemente a la enzima acetilcolinesterasa (AChE), necesaria para la sinapsis colin6rgica del sistema nervioso central y perif6rico, afecta la funci6n respiratoria, produce arritmia cardíaca y puede llevar a la inconsciencia. La exposici6n aguda a plaguicidas organoclorados produce sobreestimulaci6n de los sistemas nervioso central y perif6rico, y disrupciones en el sistema end6crino (Magnarelli et al., 2011). Los carbamatos causan una inhibici6n reversible de la AChE, permitiendo que 6sta restaure su actividad enzimática.

Cabe mencionar que a partir del 1 de julio de 2016 entra en vigencia la resoluci6n SENASA 149/16 (BO 14/04/2016) que prohíbe la elaboraci6n, importaci6n y fraccionamiento de metil azinfos, metamidofos y sus productos formulados, y a partir del 31 de marzo de 2017 se prohíbe la comercializaci6n y uso de dichas sustancias. A pesar de ello, los monitoreos de plaguicidas en el río Neuquén deberan seguir incluyendo a dichos compuestos.

Respecto al petr6leo crudo, el mismo es principalmente una mezcla compleja de hidrocarburos alifáticos (AHs<sup>1</sup>) y en menor proporci6n de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs<sup>2</sup>), olefinas, compuestos heterocíclicos de nitr6geno, oxígeno y azufre y compuestos 6rgano metálicos (Humberto Campos et al., 2005).

Los PAHs de alto peso molecular son el grupo de mayor preocupaci6n, dado que algunos de ellos han sido reconocidos como mutagénicos o carcinogénicos para el

---

<sup>1</sup> Aliphatic Hydrocarbons, por sus siglas en inglés.

<sup>2</sup> Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, por sus siglas en inglés.

hombre y otros como potenciales carcinógenos, teratógenos y mutágenos, según estudios realizados por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC<sup>3</sup>, 1987), y debido a su persistencia y naturaleza hidrofóbica, constituyen un riesgo potencial para la biota y la salud humana (Viñas et al., 2010). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA<sup>4</sup>) ha establecido 16 PAHs como prioritarios para su monitoreo y análisis en las matrices ambientales. Estos compuestos son: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, 1,2-benzoantraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ah]antraceno y benzo[ghi]perileno.

La toxicidad aguda de los PAHs en organismos acuáticos, la persistencia en el ambiente, el carácter lipofílico y la bioacumulación se incrementan a medida que aumenta el número de anillos en la molécula (Zambrano et al., 2012). Los PAHs son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos a partir de 0,2 ppm y a concentraciones superiores a 10 ppm la mayor parte son extremadamente tóxicos para las plantas acuáticas (García Martínez, 2005). Por otra parte, el efecto subletal de la mayoría de los PAHs es la inhibición del crecimiento y la división celular de bacterias y plantas acuáticas. En células animales, interfiere en las funciones de las membranas plasmáticas celular y enzimática.

Los hidrocarburos alifáticos poseen un gran espectro de efecto tóxico sobre la salud humana, según la vía de ingreso al organismo. Particularmente, por vía digestiva se ha documentado dolor abdominal, diarrea e irritación de los tejidos. Entre los efectos en la biota, pueden dañar las células de los organismos e interferir en procesos metabólicos, causando daños a la vegetación, muerte de especies fitoplanctónicas, larvas y huevos que flotan con el plancton en el agua (Humberto Campos et al., 2005).

Un número importante de tóxicos ambientales, entre ellos plaguicidas, fungicidas, hidrocarburos, plastificantes y dioxinas, pueden producir una herencia epigenética transgeneracional capaz de generar enfermedades y variaciones fenotípicas. Entre ellas el incremento dramático de problemas de fertilidad y enfermedades reproductivas en los últimos años, sugieren la posibilidad de un impacto de origen ambiental (Nilsson & Skinner, 2015).

El término epigenética refiere a factores moleculares o procesos en torno al ADN que regulan la actividad génica independientemente de la secuencia de bases del ADN y son

---

<sup>3</sup> *International Agency for Research on Cancer*, por sus siglas en inglés.

<sup>4</sup> *United States Environmental Protection Agency*, por sus siglas en inglés.

mitóticamente estables (Skinner et al., 2010). Incluyen modificaciones químicas de bases como metilación de citocinas del ADN, modificación química de histonas, factores como ARNs no codificantes y formas de empaquetamiento de la cromatina que determinan la expresión o bloqueo de genes vecinos (Guerrero-Bosagna & Skinner, 2012). El efecto involucra las líneas germinales (oocito y esperma) que transmiten marcas epigenéticas que influyen los parámetros fisiológicos y el acaecimiento de enfermedades en ausencia de exposición directa a los tóxicos. Esto significa que la exposición ambiental de los ancestros puede influenciar el desarrollo de enfermedades en las sucesivas generaciones sin que medie exposición directa, creando un nuevo factor de análisis en la etiología de las enfermedades que debe ser considerado. La epigenética se ha observado en plantas, moscas, gusanos, roedores y humanos.

#### 1.4. Los métodos de extracción de agroquímicos en muestras de suelo

El análisis de los residuos de plaguicidas consiste en la cuantificación, a nivel de trazas, de estos compuestos en diferentes matrices y generalmente consta de las etapas de extracción, purificación y determinación. En la extracción de los plaguicidas de muestras de suelo y sedimentos, el método tradicional y estandarizado es la extracción Soxhlet. El mismo requiere el uso de un gran volumen de disolventes tóxicos, es laborioso y demanda 8 horas o más de operación según el sistema matriz-compuestos. La tendencia mundial en el análisis ambiental es minimizar el uso de disolventes, reducir el consumo energético, conseguir una mayor automatización del proceso y optimizar los tiempos de análisis (Anastas & Zimmerman, 2003). Una alternativa a la extracción Soxhlet para muestras de suelo es el uso del ultrasonido en pequeñas columnas que utiliza volúmenes reducidos de disolventes para la determinación simultánea de diferentes agroquímicos (Castro Jimenez, 2002; Castro & Tadeo, 2001; García-Valcárcel & Tadeo, 2009; Sánchez-Brunete et al., 1998; Sánchez-Brunete et al., 2002).

#### 1.5. Planteo del problema

Los niveles de daño de las frutas por plagas repercuten negativamente en la

producción frutícola y consecuentemente en las exportaciones, siendo el uso de plaguicidas el principal método de control del insecto. Simultáneamente, el Gobierno Provincial neuquino lleva adelante un plan de expansión de la frontera agrícola y de diversificación de cultivos (destinado al mercado interno y externo) que implica la puesta en producción de una mayor área bajo riego y control de plagas. Paralelamente, el auge de la actividad hidrocarburífera en el departamento Añelo implica el uso de grandes volúmenes de agua y está ocasionando un explosivo crecimiento demográfico. El escurrimiento superficial de las precipitaciones en la cuenca, el agua subterránea y los canales colectores del excedente de riego de las zonas agrícolas descargan en el río Neuquén, por lo que allí se espera detectar la presencia de contaminantes. Además el río está expuesto a la afectación y contaminación potencial por petróleo derivado de la perforación, producción y transporte del crudo, aunque también son receptores de efluentes urbanos, agrícolas e industriales. El río constituye una potencial fuente de exposición para organismos acuáticos y para las poblaciones cuyo abastecimiento de agua de consumo depende de él o lo utilizan para actividades de recreación.

La diversidad de usos que posee el agua del río hace imprescindible un estudio de su calidad mediante un análisis químico del agua y de los sedimentos, a fin de evaluar la posible afectación asociada a la presencia de hidrocarburos y plaguicidas, sustancias con reconocidos efecto tóxico en la salud humana y en los organismos.

En el análisis ambiental, es deseable que los métodos analíticos sean capaces de realizar análisis multi-residuo, donde un número de compuestos es determinado simultáneamente, en el menor tiempo posible y reduciendo todo el proceso de preparación de la muestra, con el uso de un pequeño volumen de solvente para así disminuir el impacto ambiental.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general

- Realizar una evaluación preliminar de la afectación de la baja cuenca del río Neuquén asociada a la presencia de hidrocarburos alifáticos, policíclicos aromáticos, plaguicidas organofosforados, organoclorados, piretroides y carbamatos.

## 2.2. Objetivos específicos

- Validar un método de extracción asistida por ultrasonido de residuos de plaguicidas organofosforados y carbamatos en suelos y sedimentos del valle del río Neuquén.
- Implementar en el laboratorio de Cromatografía de la Universidad Nacional del Comahue el método validado para la determinación de plaguicidas carbamatos y organofosforados en suelo y sedimentos.
- Determinar la presencia y concentración de plaguicidas e hidrocarburos en sedimentos y agua de la baja cuenca del río Neuquén.
- Estimar el origen de los hidrocarburos detectados.
- Realizar una evaluación preliminar del riesgo ecotoxicológico de plaguicidas en agua para sitios del río Neuquén.

A fin de ordenar los temas relacionados a cada objetivo, la presente tesis se organiza en tres partes. La primera consiste en la presentación de los conceptos teóricos que dan soporte a la investigación, y estudios previos sobre plaguicidas e hidrocarburos en la baja cuenca del río Neuquén. La segunda parte centra su atención en la validación de un método analítico para la determinación de plaguicidas organofosforados y carbamatos en suelo y sedimentos, alternativo a la metodología tradicional. La tercera parte consiste en el análisis químico del agua y sedimentos superficiales de la baja cuenca del río Neuquén, incluido los embalses Los Barreales y Mari Menuco y los canales de riego y de drenaje de la zona agrícola de Colonia Centenario, para la determinación de plaguicidas e hidrocarburos alifáticos y policíclicos aromáticos. También se realiza la estimación del origen y fuente probable de los hidrocarburos detectados. La información generada en los muestreos es integrada a información toxicológica, para determinar el nivel de riesgo ecotoxicológico en el río.

# PRIMERA PARTE

## 3. Marco teórico

Desde tiempos remotos, el medio más utilizado para limpiar, dispersar y disponer desechos domésticos, industriales y exceso de riego ha sido el agua superficial, lo que exige un control permanente de su calidad. El término calidad del agua puede ser definido por su calidad natural, su uso por el hombre o por su calidad ambiental.

Por calidad natural del agua se entiende al conjunto de características físicas, químicas y biológicas que presenta un cuerpo que no ha sufrido intervención humana, es decir, sus cualidades intrínsecas. La calidad del agua asociada a usos humanos se refiere a la satisfacción de ciertos parámetros para determinado fin humano, como riego, proceso industrial, consumo doméstico, recreación, rebaje de ganado, conservación de especies de interés, entre otras. Así, mientras un cuerpo de agua permite el desarrollo de la vida de los organismos puede no ser apta para recreación, y un agua útil para la industria puede resultar inadecuada para consumo humano. La calidad ambiental está dada por la integridad del ecosistema, es decir, es el estado de un ecosistema que muestra su biodiversidad característica en términos de composición y riqueza de especies y estructura de la comunidad, y que tiene plena capacidad de sostener el funcionamiento normal del ecosistema (Sociedad Internacional para la Restauración Ecológica, 2004).

### 3.1. Contaminación del agua superficial por hidrocarburos y plaguicidas

La contaminación ambiental en los compartimentos acuáticos causada por factores de presión antrópica, como la agricultura intensiva y la industria, es un tema de gran preocupación mundial, dado que junto al crecimiento poblacional, pueden causar impactos adversos sobre la calidad de las cuencas hídricas. Entre los compuestos orgánicos, los plaguicidas y los hidrocarburos cobran especial interés debido a su amplia distribución en todas las matrices ambientales y sus probados y/o potenciales efectos tóxicos sobre la salud humana y organismos.

Los hidrocarburos son una familia de compuestos orgánicos liposolubles que constituyen la mayor fracción del petróleo crudo y refinado. Dentro de ellos, los AHs son una familia de compuestos conformados únicamente por átomos de carbono e hidrógeno, unidos por enlaces covalentes simples o múltiples. A su vez, las cadenas hidrocarbonadas pueden ser lineales o ramificadas, cíclicas o abiertas. Los *n*-alcanos son hidrocarburos saturados y de cadena lineal abierta.

Los PAHs son moléculas que contienen de dos a seis anillos aromáticos fusionados de seis ó cinco carbonos, a través de dos o más átomos de carbono. La designación “aromáticos” hace alusión a un compuesto cíclico que contiene dobles enlaces conjugados y una energía de resonancia inusualmente elevada (Wade, 2004). Esta configuración molecular imprime a los PAHs una elevada estabilidad química en el ambiente y resistencia frente a la biodegradación, por lo que integran el grupo de contaminantes orgánicos persistentes (COPs). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos con 4 o 5 anillos son más resistentes a la biodegradación que aquellos constituidos por 2 o 3 (Casanova Rosero et al., 2006; Pinheiro et al., 2013) como así también menos volátiles y menos solubles en agua. Las masas moleculares y el número de anillos fusionados de los 16 PAHs que establece la EPA para monitoreo en matrices ambientales se presentan en la Tabla 1.

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO<sup>5</sup>) el término plaguicida abarca a todas las sustancias o mezclas de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar alguna plaga (FAO, 2003). La definición también comprende a compuestos con otros efectos, como los reguladores del crecimiento, defoliantes, desecantes, atrayentes, antiescaldantes, etc. Los plaguicidas son deliberadamente diseminados por el hombre en el ambiente para aumentar la productividad agrícola. No obstante esto, sólo un porcentaje de la masa de los productos aplicados alcanza a las plagas que pretende controlar (blanco de acción); el resto se dispersa en el ambiente y representa un riesgo potencial para los ecosistemas (Montagna, 2011). Esta porción libre en el ambiente alcanza a diversos destinos no blanco y su movimiento por las matrices ambientales es muy complejo y variable, determinado por procesos fisicoquímicos en los que intervienen propiedades inherentes a la sustancia y características del medio. Está comprobado que en algunos casos el

---

<sup>5</sup> *Food and Agriculture Organization*, por sus siglas en inglés.

transporte de plaguicidas ocurre a grandes distancias (Loewy, 2011). En la Tabla 2 se presentan algunos de los agroquímicos monitoreados en la cuenca.

Tabla 1. PAHs de importancia en el monitoreo ambiental según US EPA.

PAH	N°CAS	Abreviatura	Masa molecular (u.m.a.)	N° de anillos
Naftaleno	91-20-3	Nap	128	2
Acenaftileno	208-96-8	Acy	152	3
Acenafteno	83-32-9	Ace	154	3
Fluoreno	86-73-7	Flu	166	3
Fenantreno	85-01-8	Phe	178	3
Antraceno	120-12-7	Ant	178	3
Fluoranteno	206-44-0	Fl	202	4
Pireno	129-00-0	Pyr	202	4
1,2-benzoantraceno	56-55-3	BaA	228	4
Criseno	218-01-9	Cry	228	4
Benzo[b]fluoranteno	205-99-2	BbFl	252	5
Benzo[k]fluoranteno	207-08-9	BkFl	252	5
Benzo[a]pireno	50-32-8	BaPy	252	5
Indeno[1,2,3-cd] pireno	193-39-5	Ind	276	6
Dibenzo[ah]antraceno	53-70-3	DBA	278	5
Benzo[ghi]perileno	191-24-2	Bghi	276	6

Tabla 2. Plaguicidas históricamente aplicados en el medio y bajo valle del río Neuquén.

Nombre	N° de CAS	Familia de compuesto	Tipo de plaguicida
$\lambda$ -cialotrina	91465-08-6	Piretroide	Insecticida
Carbaril	63-25-2	Carbamato	Insecticida y acaricida
Carbofurán	1563-66-2	Carbamato	Insecticida y nematicida
Clorpirifos	2921-88-2	Organofosforado	Insecticida
Dimetoato	60-51-5	Organofosforado	Insecticida
Esfenvalerato	66230-04-4	Piretroide	Insecticida

Nombre	N° de CAS	Familia de compuesto	Tipo de plaguicida
Fenvalerato	51630-58-1	Piretroide	Insecticida
Fosmet	732-11-6	Organofosforado	Acaricida
Metidati3n	950-37-8	Organofosforado	Insecticida y Acaricida
Metil azinfos	86-50-0	Organofosforado	Insecticida
Permetrina	52645-53-1.	Piretroide	Insecticida
Pirimicarb	23103-98-2	Carbamato	Insecticida
Propoxur	114-26-1	Carbamato	Insecticida
Triazofos	24017-47-8	Organofosforado	Insecticida

### 3.2. Estimaci3n del origen de los hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos

Los residuos dom3sticos y el crecimiento industrial han supuesto un aumento del n3mero de contaminantes en el entorno natural, entre ellos los hidrocarburos. A pesar de que los hidrocarburos biog3nicos y pirog3nicos est3n presentes naturalmente en el ambiente, 3stos se encuentran en bajas concentraciones. Las actividades antr3picas son las responsables de los elevados niveles de concentraci3n reportados en todo el mundo. El reconocimiento de las fuentes de PAHs y AHs es de gran importancia para la formulaci3n de estrategias de control de la contaminaci3n ambiental (Guo et al., 2010) y mejoramiento del manejo de las 3reas, mediante el control de las fuentes identificadas.

El mecanismo de formaci3n de AHs y PAHs est3 dirigido por la temperatura, presi3n y tiempo a la cual se lleva a cabo el proceso de transformaci3n de la materia org3nica. Dependiendo c3mo sea 3ste, el origen de los AHs y PAHs puede ser pirog3nico, petrog3nico o biog3nico.

La *pirog3nesis* es un mecanismo de formaci3n de PAHs por combusti3n incompleta del material org3nico (incluyendo ligninas, carbohidratos, etc.) o de combustibles f3siles (hidrocarburos y carb3n) a elevadas temperaturas (Gonz3lez Sep3lveda et al., 2013; Ortiz-Salinas et al., 2012). Los PAHs pirog3nicos pueden proceder de fuentes tanto naturales (incendios forestales o erupciones volc3nicas) como antropog3nicas (procesos industriales, gases de combusti3n de autom3viles, incineradoras, plantas de generaci3n el3ctrica, carbonizaci3n de alimentos) (García Mart3nez, 2005).

La *petrogénesis* es la formación de petróleo por confinamiento de la materia orgánica (restos de animales y plantas) durante millones de años en un ambiente anaeróbico, a gran presión y temperatura de entre 50 y 250°C. Generalmente los hidrocarburos petrogénicos ingresan al ambiente a través de infiltraciones, derrames y/o evaporación-deposición (Ortiz-Salinas et al., 2012; Sánchez-Palencia et al., 2015).

Los PAHs biogénicos son producto de procesos metabólicos microbianos y vegetal y de la degradación de la materia orgánica en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Ortiz-Salinas et al., 2012). Respecto a los AHS, los organismos marinos pueden sintetizar hidrocarburos de cadenas de carbono desde el *n*-C15 al *n*-C21, las plantas terrestres y algunas marinas producen del *n*-C21 al *n*-C33 y en pastos marinos sobresalen cadenas alifáticas del *n*-C27 al *n*-C33 (Calva et al., 2005).

Para establecer el origen de los hidrocarburos detectados en muestras ambientales normalmente se utiliza la presencia de compuestos “marcadores” característicos para establecer dicho origen (Companioni-Damas et al., 2011) y la determinación de relaciones de concentración entre constituyentes específicos para distinguir entre aportes petrogénicos, pirogénicos y biogénicos ya que estos procesos generan mezclas muy diferentes y particulares de hidrocarburos (García Martínez, 2005; Harris et al., 2011). Las relaciones de PAHs que se utilizan son:

- ❖ Cociente Bajo Peso Molecular/ Alto Peso Molecular (BPM/APM): las mezclas con predominancia de PAHs de bajo peso molecular (2 o 3 anillos aromáticos) indican origen petrogénico; en cambio, las mezclas de PAHs con mayor concentración de compuestos de alto peso molecular (de 4 a 6 anillos aromáticos) definen que el origen sea pirogénico (Viñas et al., 2010).

$$\frac{BPM}{APM} = \frac{Phe + Ant + Fl + Pyr}{BaA + Cry + BbFl + BkFl + BePy + BaPy + Ind + DBA + Bghi}$$

Donde:

*Phe*, fenantreno; *Ant*, antraceno; *Fl*, fluoranteno; *Pyr*, pireno; *BaA*, benzo[a]antraceno; *Cry*, criseno; *BbFl*, benzo[b]fluoranteno; *BkFl*, benzo[k]fluoranteno; *BePy*, benzo[e]pireno; *BaPy*, benzo[a]pireno; *Ind*, indeno[1,2,3-cd]pireno; *DBA*, dibenzo[ah]antraceno; *Bghi*, benzo[ghi]perileno.

- ❖ Relación fenantreno /antraceno: *Phe*/*Ant* >10 indica origen petrogénico porque el

fenantreno es más estable termodinámicamente y los procesos de maduración térmica de la materia orgánica son muy lentos. Si Phe/Ant <10, el origen de los PAHs es pirogénico (García Martínez, 2005).

- ❖ Relación fluoranteno / pireno: si la relación Fl/Pyr >1, el origen de los PAHs es pirolítico; si en cambio es <1 el origen es petrogénico (García Martínez, 2005).

Para establecer el origen de los hidrocarburos alifáticos se utilizan los siguientes índices (Calva et al., 2005; Companioni-Damas et al., 2011; González Sepúlveda et al., 2013; Humberto Campos et al., 2005; Monza et al., 2013):

- ❖ Hidrocarburo alifático mayoritario (HM). Es el hidrocarburo de mayor concentración en la muestra. Cuando el *n*-C18 es el más abundante, indica presencia de petróleo crudo; si en cambio el mayoritario es un hidrocarburo de número impar de carbonos entre *n*-C15 y *n*-C21 proviene de algas; y si el más abundante es *n*-alcano de número impar de carbonos entre *n*-C23 y *n*-C31, el origen es de plantas vasculares terrestres.
- ❖ Índice de Carbono Preferente (ICP). Definido como la relación existente entre la suma de los *n*-alcanos de número impar y los *n*-alcanos de número par. Muestra valores mayores a 1 para los AHs de origen biogénico, mientras que los valores aproximadamente igual a 1 indican AHs de origen petrogénico. Cuando ICP es menor a 1, el aporte de AHs es atribuido a plantas vasculares y detritus.

$$ICP = \frac{2(nC27 + nC29)}{(nC26 + 2nC28 + nC30)}$$

- ❖ Relación entre *n*-alcanos de bajo peso molecular y alto peso molecular (BPM/APM). Indica si el origen es debido a algas, plancton, petróleo crudo, bacterias sedimentarias o animales marinos.

$$\frac{BPM}{APM} = \frac{\sum n \text{ alcanos } \leq 20}{\sum n \text{ alcanos } \geq 21}$$

Cuando el cociente arroja un valor cercano a 1, el origen de los AHs es mixto,

entre petrogénico y proveniente de plancton; cuando es menor a 1 proviene de bacterias del sedimento, animales marinos y plantas superiores; y cuando el valor es mayor a 1 los AHs son atribuidos a petróleo fresco.

- ❖ Índice de Predominancia Par-Impar.

$$\frac{Par}{Impar} = \frac{\sum n \text{ alcanos pares}}{\sum n \text{ alcanos impares}}$$

Cuando el cociente es mayor a 1, los AHs provienen de fuentes petrogénicas; en cambio cuando es menor a 1, el origen es biogénico y reciente.

- ❖ Mezcla Compleja No Resuelta (MCNR). Se trata de hidrocarburos alifáticos ramificados y cíclicos sustituidos que coeluyen con los AHs y que no pueden ser resueltos por las columnas de la cromatografía gaseosa y aparecen como una lomada en el cromatograma. Su determinación es de utilidad para evaluar el grado de degradación de los hidrocarburos. A mayor valor, mayor proceso de degradación. La presencia de una gran cantidad de MCNR en la muestra indica contaminación por petróleo.

A medida que el petróleo envejece, modifica su composición química: el número de fracciones ligeras disminuye (por evaporación) y los compuestos más abundantes son fraccionados en una gran diversidad de subcompuestos de estructura molecular más sencilla, observándose cómo el porcentaje de picos resueltos disminuye mientras que aumenta el de la mezcla no resuelta.

- ❖  $\Sigma$ AHs resueltos/ MCNR: bajos valores indican presencia de residuos de petróleo degradado, y también de materia orgánica degradada.

### 3.3. Destino y transporte de los plaguicidas e hidrocarburos en el ambiente

El movimiento de los plaguicidas e hidrocarburos en el ambiente es muy complejo e incluye transferencias continuas. En el análisis se deben considerar aspectos intrínsecos

y externos de los compuestos. Los primeros comprenden a las propiedades y procesos fisicoquímicos de los compuestos, como la solubilidad en agua, la constante de reparto octanol-agua, el coeficiente de reparto carbono orgánico-agua, la presión de vapor, la adsorción/desorción y las transformaciones bióticas y abióticas. Los aspectos externos que condicionan el comportamiento ambiental de los compuestos son la forma de aplicación, la topografía, labores agrícolas, pH y contenido de materia orgánica del suelo, régimen de precipitaciones, temperatura, humedad ambiente, porosidad y textura del suelo, heliofanía, dirección del viento, entre otras (Herrero-Hernández et al., 2013; Loewy, 2011). Todos ellos pueden aumentar la movilidad del compuesto o inmovilizarlo temporariamente.

La baja solubilidad en agua de los hidrocarburos es lo que determina su baja frecuencia de detección en los cursos de agua. Cuando el petróleo es vertido en el medio acuoso, es sujeto a diversos procesos de envejecimiento como evaporación, disolución, dispersión, oxidación fotoquímica, emulsificación, degradación microbiana, adsorción a materia particulada y floculación, acumulándose en la superficie de los sedimentos (Casanova Rosero et al., 2006; Companioni-Damas et al., 2011). Allí permanecen por largos periodos de tiempo por lo cual los sedimentos constituyen una fuente de contaminación permanente, de exposición para los organismos y un testigo confiable para el estudio y monitoreo de la contaminación por hidrocarburos en los cuerpos de agua. Los PAHs emitidos a la atmósfera por diversas actividades antrópicas pueden estar presentes en la fase gaseosa o asociados a partículas, y a través de las corrientes de aire se favorece su dispersión a grandes distancias, siendo detectados en sitios alejados de la fuente que los emitió (Ortiz Salinas et al., 2012). Los PAHs de bajo peso molecular son más propensos a dispersarse a través de la atmósfera que los de alto peso molecular; éstos en cambio tienen mayor afinidad por el material particulado, como cenizas y materia orgánica del suelo.

El factor que incrementa el riesgo de exposición a PAHs es su persistencia en el ambiente atribuida a la estabilidad química de los enlaces carbono-carbono de los anillos aromáticos. Por otro lado, debido a su carácter lipofílico se acumulan en los tejidos grasos de la fauna acuática (bioacumulación), como es el caso de los macroinvertebrados bentónicos y de los peces (Harris et al., 2011; Zambrano et al., 2012). La bioacumulación da paso a la biomagnificación por los niveles tróficos y, dado que muchas especies de invertebrados están relacionadas indirectamente con la dieta humana, constituyen una fuente de exposición para el hombre (Dixon et al., 2002).

En el proceso de aplicación de plaguicidas, una fracción de la cantidad total pulverizada a los vegetales alcanza al blanco mientras que la otra se dispersa por el ambiente, siendo las aguas superficiales y subterráneas muy vulnerables a la contaminación por los mismos (Castro & Tadeo, 2001; Herrero-Hernández et al., 2013). Ganzelmeier et al. (1995) y Loewy (2011) dan cuenta de que el viento puede dispersar a la masa de plaguicidas, transportando las gotas fuera del predio en tratamiento, pudiendo afectar a cultivos vecinos, fauna acuática y terrestre y población rural. La principal fuente de contaminación de los compartimentos acuáticos es la difusa, a través del percolado, la deriva, el escurrimiento superficial, el transporte por flujos preferenciales y el co-transporte por material particulado o coloidal (Dabrowski et al., 2005; Loewy et al., 2011).

Brevemente, los aspectos intrínsecos de las familias de plaguicidas citadas en este trabajo son:

- Carbamatos. Poseen baja estabilidad química y no se acumulan en los tejidos biológicos, por lo que son rápidamente eliminados por vía urinaria. Poseen una baja presión de vapor y son poco solubles en agua.
- Organoclorados. Son poco solubles en agua, son persistentes en el ambiente (adsorbidos a suelos y sedimentos) y poseen un alto factor de bioacumulación, dando paso a la biomagnificación por los niveles tróficos. La exposición humana ocurre principalmente al consumir alimentos que contienen pequeñas cantidades de estos compuestos, en particular carne de res, de pescado y de ave. La eliminación del organismo humano es muy lenta. En cuerpos de agua se unen a sólidos suspendidos y a sedimentos, donde se almacenan por años, pero pueden ser removidos, disolverse en agua e ingresar a la red trófica.
- Organofosforados. Son poco solubles en agua, volátiles, fácilmente hidrolizables y tienen baja estabilidad química. Su tiempo de vida media en el ambiente es relativamente corto y su eliminación del organismo humano es rápida. En cuerpos de agua, se adsorben a coloides.
- Los piretroides son solubles en agua pero son poco persistentes en el suelo. Se degradan por fotólisis y por acción microbiana.

Los hidrocarburos y los plaguicidas en estudio son compuestos lipofílicos o poco hidrosolubles, por lo que en cuerpos de agua superficiales tienden a acumularse en los sedimentos. Por esto los sedimentos representan una ruta de exposición para la biota

acuática a estos compuestos como así también un testigo confiable para el análisis ambiental.

### 3.4. Evaluación de riesgo ecotoxicológico mediante la relación Exposición-Toxicidad

La evaluación de riesgo ecotoxicológico tiene como objetivo estimar la probabilidad de que una sustancia tóxica supere cierta concentración umbral que se sabe origina daños en organismos no blanco del medio, tras su aplicación o emisión (de la Torre et al., 2004). La creciente preocupación sobre los efectos potenciales de los plaguicidas sobre el ambiente ha promovido el desarrollo y la utilización de índices de toxicidad para evaluar el riesgo ecotoxicológico de estos y otros contaminantes. Los objetivos y los métodos de cálculo son diversos, pero hay una convergencia general hacia el uso del concepto de la relación Toxicidad – Exposición (TER) que corresponde al cociente entre un punto final toxicológico crítico de una sustancia sobre individuos de una especie, denominado concentración de exposición crítica (CEC), y una concentración ambiental esperada del compuesto (CAE) a la que se encuentran expuestos los organismos (Köck-Schulmeyer et al., 2012). El principio es, básicamente, comparar el peligro potencial (toxicidad) de una sustancia para cierto organismo con el nivel de exposición al compuesto al que se encuentra en su ambiente. Así, el TER queda definido como:

$$TER = \frac{CEC}{CAE}$$

Para cada sustancia se puede hacer la evaluación de riesgo crónica y aguda.

La CEC se determina a partir de bioensayos de toxicidad de especies sensibles no blanco, presentes en el área de estudio. Si se trata de un estudio de riesgo por efectos agudos, se emplea  $DL_{50}$  (dosis que produce la muerte del 50% de una población),  $CL_{50}$  (concentración que produce la muerte del 50% de una población),  $CE_{50}$  (concentración que produce un cierto efecto adverso en el 50% de una población) o si se trata de un estudio de efectos crónicos, se emplea  $NOEC^6$  que es la concentración de efecto no observado. Estos datos se encuentran compilados en bases de datos en la web, como

---

<sup>6</sup>  $NOEC$ : *No Observed Effect Concentration*, nivel de efecto no observado por sus siglas en inglés.

ECOTOX de US EPA, PPDB (Pesticide Properties Data Base) o PAN Pesticide Database. La CAE del compuesto se determina a partir de un modelo teórico de predicción de concentraciones que mejor se ajuste al caso particular bajo estudio.

La Universidad de Milán (Italia) desarrolló un índice basado en el concepto TER para evaluar el riesgo agudo por plaguicidas en agua superficial, denominado PRISW-1 (Finizio et al., 2001). El índice está referido a especies de invertebrado, alga y pez, por tratarse de organismos cuyo ciclo de vida transcurre dentro del agua, son sensibles a la contaminación y pertenecen a distintos niveles tróficos (productores y consumidores). Para alga y para invertebrado se utiliza  $CE_{50}$  y para pez  $CL_{50}$ . La CAE de la sustancia se establece a partir de modelos teóricos de predicción, que estiman la masa del compuesto que alcanzará al cuerpo de agua superficial, siendo los principales mecanismos de transporte la deriva y el escurrimiento superficial.

Conocida la CEC de cada especie y determinada la CAE del compuesto, se calcula el valor de TER de cada especie, al que le corresponde un puntaje (Tabla 3).

Tabla 3. Puntajes índice PRISW-1 para alga, invertebrado y pez según relación TER.

TER	Puntaje
>10.000	0
10.000 – 1.000	1
1.000-100	2
100 – 10	4
10 – 2	6
<2	8

Estos puntajes sustituyen a A, B y C de la siguiente ecuación para obtener el valor del índice PRISW-1:

$$PRISW-1 = (A * 3) + (B * 4) + (C * 5,5)$$

En donde:

A es la puntuación asignada a la tasa  $CE_{50}/CAE$ , para una especie de alga.

B es la puntuación asignada a la tasa  $CE_{50}/CAE$ , para una especie de invertebrado.

C es la puntuación asignada a la tasa  $CL_{50}/CAE$ , para una especie de pez.

Según el resultado del índice, el riesgo se clasifica en:

<b>Rango del puntaje</b>	<b>Nivel de riesgo</b>
PRISW-1 < 5	Muy bajo
5 < PRISW-1 < 15	Bajo
15 < PRISW-1 < 40	Medio
40 < PRISW-1 < 80	Alto
PRISW-1 > 80	Muy Alto

Los efectos potenciales de la presencia de plaguicidas sobre las comunidades acuáticas pueden ser evaluados a través de su transformación en unidades tóxicas y posteriormente integradas en índices de riesgo, como PRISW-1 (Köck-Schulmeyer et al., 2012). La Unidad Tóxica de un plaguicida ( $UT_P$ ) para una especie acuática es la inversa de TER ( $UT_P = TER^{-1}$ ). En este caso, la CAE es la concentración real del compuesto medido en la muestra, es decir, la concentración del compuesto que efectivamente alcanzó el cuerpo de agua, por distintos mecanismos. Sumando los  $UT_P$  de los distintos plaguicidas para la misma especie se obtiene la UT total ( $UT_T$ ), que representa el riesgo de una mezcla de compuestos en el agua para esa especie en particular en un determinado sitio.

### 3.5. Normativa y guías de calidad de agua y sedimentos

Actualmente, rigen las disposiciones de la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación (SSRH) sobre los niveles guía de sustancias en agua. Estos valores varían según el uso (o tipo) al que está destinada el agua: consumo humano con tratamiento convencional (Tipo I), actividades recreativas con contacto directo (Tipo II), actividades recreativas sin contacto directo (Tipo III), actividades recreativas pasivas (Tipo IV), preservación de vida acuática con exposición prolongada (Tipo V) o preservación de vida acuática sin exposición prolongada (VI). Los usos de tipo I y V presentan las menores tolerancias debido a que protegen la salud humana y la de la flora y fauna acuática.

Los organismos nacionales de administración y fiscalización de cuencas adoptan las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de calidad ambiental

del Consejo Canadiense de Ministerios del Ambiente (CCME<sup>7</sup>). Este organismo ha desarrollado y compilado en su documento *Directrices de Calidad Ambiental* niveles guía para diversos contaminantes en agua continental y marina, sedimentos y suelo para la protección de la vida acuática. Se entiende por uso del agua para preservación de la vida acuática su empleo en actividades destinadas a mantener la vida natural de los ecosistemas sin causar alteraciones en ellos, o para actividades que permitan la reproducción, supervivencia, crecimiento, extracción y aprovechamiento de especies acuáticas en cualquiera de sus formas. La OMS ha publicado un documento guía de niveles de compuestos en agua destinada a consumo humano (OMS, 2004) En las Tablas 4 y 5 se recogen los valores guía de algunas sustancias.

Tabla 4. Niveles guía para sustancias en agua destinada a consumo humano y como fuente de agua potable con tratamiento convencional según SSRH y OMS.

<b>Sustancia</b>	<b>SSRH, uso Tipo I (µg/L)</b>	<b>OMS (µg/L)</b>
Carbaril	30	n/f
Carbofurán	5	7
Clorpirifos	n/f	30
DDT y sus metabolitos	n/f	1
Dimetoato	n/f	6
Hidrocarburos totales	< 50	n/f
Benzo[a]pireno	n/f	0,7

n/f: no fijado.

El rango de pH establecido para agua destinada a consumo humano es de entre 6 y 9. Además, la SSRH fija un valor de oxígeno disuelto mayor 4 mg/L a 20°C.

Tabla 5. Niveles guía para la protección de la vida acuática en agua dulce.

<b>Sustancia</b>	<b>SSRH, uso tipo V (µg/L)</b>	<b>CCME (µg/L)</b>
Carbaril	≤ 0,5	0,20
Carbendazim	≤ 1	n/f
Clorpirifos	≤ 0,006	0,002

<sup>7</sup> Canadian Council of Ministers of the Environment.

Sustancia	SSRH, uso tipo V ( $\mu\text{g/L}$ )	CCME ( $\mu\text{g/L}$ )
Dimetoato	$\leq 6,4$	6,2
Captan	n/f	1,3
Carbofurán	n/f	1,8
DDT	n/f	n/f
Metil azinfos	$\leq 0,02$	n/f
HTP*	$< 50$	n/f
Acenafteno	n/f	5,8
Antraceno	n/f	0,012
Benzo[a]antraceno	n/f	0,018
Benzo[a]pireno	n/f	0,015
Fluoranteno	n/f	0,04
Fluoreno	n/f	3
Naftaleno	n/f	1,1
Fenantreno	n/f	0,4
Pireno	n/f	0,025

n/f: no fijado

HTP\*: Hidrocarburos Totales del Petróleo

El rango de pH establecido para agua para protección de la vida acuática es 6 - 9. Además, la SSRH fija un valor de oxígeno disuelto mayor 5 mg/L a 20°C.

La Tabla 6 recoge los valores guía de calidad para sedimentos, tomados del documento *Directrices de Calidad de Sedimentos para la Protección de la Vida Acuática* del CCME.

Tabla 6. Valores guía de calidad de sedimentos para la Protección de la Vida Acuática del CCME.

Compuesto	Concentración ( $\mu\text{g/kg ps}$ )
Acenafteno	6,71
Acenaftileno	5,87
Antraceno	46,9
Benzo[a]antraceno	31,7

Compuesto	Concentración (µg/kg ps)
Benzo[a]pireno	31,9
Criseno	57,1
Dibenzo[ah]antraceno	6,22
Fluoranteno	111
Naftaleno	34,6
Fenantreno	41,9
Pireno	53
Clorpirifos	n/f
Dimetoato	n/f
Metil azinfos	n/f
p,p´ - Diclorodifenildicloroetano (p,p´-DDD)	3,54
p,p´-Diclorodifenildicloroetileno (p,p´-DDE)	1,42
p,p´ - Diclorodifeniltricloroetano (p,p´-DDT)	1,19
HCH (hexaclorociclohexano)	0,94

Para el caso de los AHs resueltos, el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP<sup>8</sup>) considera a los sedimentos libres de contaminación cuando presentan una concentración total inferior a 10 mg/kg ps (UNEP, 1992).

## 4. Antecedentes en el área de estudio

El grupo de investigación del Laboratorio de Cromatografía LIBIQUIMA-CITAAC<sup>9</sup> de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Comahue ha realizado estudios de la distribución de plaguicidas en el ambiente agrícola del bajo valle del río Neuquén, comprobando la migración de los agroquímicos fuera de sitio de aplicación hacia el suelo, aguas superficiales de canales de drenaje y subterráneas poco profundas por mecanismos de lixiviación, arrastre por escorrentía superficial y deriva (Loewy et al.,

<sup>8</sup> *United Nations Environment Programme*, por sus siglas en inglés.

<sup>9</sup> Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, Químicas y de Medio Ambiente – Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue.

2011). En el período estudiado (2008-2010) los plaguicidas con mayor frecuencia de detección en agua durante la temporada de aplicación fueron metil azinfos (76%), clorpirifos (73%), carbaril (41%) y en menor medida metidatió, propoxur y dimetoato ( $n=67$ ). Las concentraciones máximas fueron de 22,48  $\mu\text{g/L}$  para metil azinfos, 45,70  $\mu\text{g/L}$  para carbaril y 1,16  $\mu\text{g/L}$  para clorpirifos. Durante el periodo de control (previo a la aplicación) se detectaron residuos de plaguicidas en el agua subterránea poco profunda, pero en menores concentraciones y frecuencias. En muestras de suelo superficial, cercanas a los freáticos, las frecuencias de detección durante el periodo de aplicación fueron 100% para metil azinfos y clorpirifos, 75% para carbaril y 25% para metidatió ( $n=8$ ). Las concentraciones halladas variaron en un rango entre 1,1 y 60,5  $\mu\text{g/kg}$  de suelo, siendo clorpirifos el compuesto hallado en mayor concentración. Mediante experimentos a campo se comprobó que la deriva es un mecanismo de transporte significativo de plaguicidas hacia el agua de canales de drenaje y que los residuos de clorpirifos y metil azinfos hallados en horizontes del suelo más profundos son producto de la lixiviación y flujos preferenciales. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que, si bien el blanco de aplicación es la planta, una fracción activa alcanza el drenaje superficial de agua y el suelo.

El impacto potencial causado por plaguicidas organofosforados sobre organismos acuáticos en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén (en canales de drenaje, río y sitios de descarga de efluentes) fue evaluado por Tosi et al. (2009) mediante el procedimiento escalonado descrito en la Guía Técnica de Evaluación de Riesgo de la U.S. EPA, basado en la relación toxicidad/exposición. El coeficiente de riesgo (CR) fue calculado como el cociente entre la concentración máxima de plaguicida y los valores de  $CL_{50}$ . El criterio de decisión elegido para identificar a los tóxicos con mínimo efecto ecológico fue  $CR < 0,1$ ; aquellos plaguicidas que cumplen con esta regla se consideran que presentan la mínima toxicidad aguda sobre los organismos acuáticos. El grupo identificó a metil azinfos y a carbaril como los plaguicidas de mayor probabilidad de producir efectos agudos en las especies más sensibles, mientras que dimetoato, fosmet y difenilamina presentaron CR menores al valor de corte, lo que significa un mínimo riesgo agudo para los organismos acuáticos.

El potencial de percolado de plaguicidas hacia el agua subterránea fue evaluado por Dufilho et al. (2012) en la zona agrícola de Colonia Centenario, mediante el modelo numérico de base física MACRO 5.2 que tiene en cuenta los flujos preferenciales,

concluyendo que la disminución de la lámina de riego y el alejamiento de la fecha de pulverización del riego constituyen prácticas que reducen la carga de plaguicidas en los acuíferos.

La Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los ríos Limay, Neuquén y Negro (AIC) comunicó los resultados de un monitoreo de residuos de agroquímicos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, fungicidas y antiescaldantes) realizado durante los meses de febrero, abril y agosto de 2005 en el río Neuquén y desagües agrícolas de la zona comprendida entre Añelo y la capital neuquina (Boland et al., 2005). En el río y en periodo de aplicación, los plaguicidas dimetoato, metil azinfos, carbaril y heptacloro fueron detectados a nivel de trazas y en forma esporádica, en concentraciones inferiores a los valores establecidos por la SSRH y valores guía de la CCME. Dimetoato fue el único plaguicida hallado por encima del límite de cuantificación en agua del río Neuquén, siendo la mayor concentración de 0,0905  $\mu\text{g/L}$  a la altura del barrio Rincón de Emilio (ciudad de Neuquén). Fuera del periodo de aplicación, no se detectaron plaguicidas. El análisis de las muestras de agua de drenaje agrícola reveló que el colector principal de Colonia Centenario fue el desagüe más comprometido, con el mayor número de agroquímicos detectados y en las mayores concentraciones: carbaril 2,85  $\mu\text{g/L}$ , metil azinfos 0,773  $\mu\text{g/L}$ , carbendazim 0,641  $\mu\text{g/L}$ , fosmet 0,157  $\mu\text{g/L}$  y dimetoato 0,102  $\mu\text{g/L}$ . El análisis de las muestras de sedimentos del desagüe de Centenario mostró la presencia de heptacloro, gamma HCH y alfa HCH.

En cuanto a la afectación a la biota por plaguicidas, estudios de poblaciones de macroinvertebrados asociados a análisis químico realizados por Macchi et al. (2016) en los años 2011 y 2012 en canales de riego y drenajes de zonas agroproductivas en Colonia Centenario, Provincia del Neuquén, mostraron diferencias significativas en los atributos de las comunidades de macroinvertebrados y también en la abundancia de ciertas taxa durante la estación de aplicación de plaguicidas. Mientras que en los canales de riego abundaron crustáceos y las larvas de insectos (especies sensibles), en los drenajes se hallaron especies tolerantes (moluscos, gasterópodos y bivalvos). Los niveles de plaguicidas detectados en muestras de agua (n=24) y de sedimentos (n=12) evidenciaron que existe afectación del agua de los drenajes. En ambas matrices clorpirifos fue el de mayor frecuencia de detección (82% en sedimentos, 50% en agua), seguido por el metil azinfos (18% en sedimentos, 17% en agua) y finalmente el carbaril que sólo fue detectado a nivel de trazas.

El origen y la distribución de los hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos en sedimentos del río Neuquén y en los embalses Los Barreales y Mari Menuco fueron estudiados por Monza et al (2013). En este trabajo se encontraron AHs resueltos en un rango de concentraciones que fue de 0,41 a 54,05  $\mu\text{g/g ps}$ . En el área agrícola de Vista Alegre y Colonia Centenario los AHs resueltos variaron entre 0,45 y 6,03  $\mu\text{g/g ps}$  y fueron clasificados como biogénicos terrígenos recientes. La relación AHs resueltos/MCNR resultó muy baja, denotando un proceso de degradación avanzado de hidrocarburos. En la zona de yacimientos de petróleo, el aporte resultó mixto (petrogénico y biogénico). Aguas abajo de canales de descarga agrícola, el origen de los AHs fue determinado como biogénico, presentando las mayores concentraciones de todo el estudio. En la zona urbana próxima a la ciudad de Cipolletti, los AHs resueltos detectados fueron clasificados como antropogénicos y se encontraron naftaleno (40 ng/g ps) y pireno (50 ng/g ps). En los embalses Los Barreales y Mari Menuco, las concentraciones de AHs resueltos totales fueron las menores de todo el estudio y no se detectó MCNR. El origen de los AHs de Los Barreales fue clasificado como petrogénico, sin embargo, el bajo nivel detectado no implica contaminación. Los índices de referencia para el embalse Mari Menuco indicaron AHs de origen biogénico y las concentraciones de AHs halladas fueron fijadas como nivel de base para la zona.

Un estudio realizado por la Secretaría de Medio Ambiente de la Provincia del Neuquén de la calidad del agua del río Neuquén y de los embalses Mari Menuco y Los Barreales en cuatro campañas durante los años 2012 y 2013 no detectó la presencia de hidrocarburos totales del petróleo (TPH), hidrocarburos poliaromáticos ni aromáticos mononucleares (BTEX) en agua.

## SEGUNDA PARTE

### 5. Validación de extracción asistida por ultrasonido en micro-columnas para análisis de plaguicidas en suelo

#### 5.1. Ultrasonido aplicado al análisis de muestras

Los procedimientos tradicionales de preparación de la muestra para el análisis de contaminantes son cruciales y dentro de todo el proceso analítico son considerados la etapa más laboriosa. Consisten en una extracción con solvente o una digestión química, generalmente seguida por una purificación del extracto (*clean up*). Normalmente emplean un gran volumen de solvente e insumen gran cantidad de tiempo, lo que reduce el número de muestras analizadas por día y requiere mayor espacio disponible en el laboratorio (Castro Jimenez, 2002). En respuesta a todas estas limitaciones, se han desarrollado métodos de preparación de la muestra que reducen el tiempo y el costo del análisis. Algunos de ellos emplean la energía ultrasónica a tal fin.

La energía ultrasónica causa un efecto conocido como cavitación, que genera numerosas burbujas pequeñas en un medio líquido, erosión mecánica de los sólidos y ruptura de partículas. Esto provee un contacto eficiente entre la masa sólida y el líquido extractante, lo que mejora las recuperaciones de los compuestos (Tadeo et al., 2010). Estas ventajosas propiedades del ultrasonido han sido aprovechadas para el desarrollo de un método de extracción denominada extracción asistida por ultrasonido (EAU).

El método convencional de extracción de compuestos de muestras sólidas es por Soxhlet (Figura 2). Es un tipo de extracción sólido-líquido, en la que una porción de la muestra es extraída en ciclos de 15 minutos durante cierta cantidad de horas, con un solvente orgánico de mayor afinidad por los analitos que la matriz (Albero Romano, 2009). Se emplea un gran volumen del líquido extractor por muestra, y se trabaja a la temperatura de evaporación del solvente con refrigeración hidráulica. A pesar de las excelentes recuperaciones obtenidas mediante la extracción Soxhlet, la técnica presenta algunas desventajas operativas, listadas a continuación:

- instrumental delicado y costoso;

- el tiempo requerido para la extracción se comprende entre 6-24 horas;
- alto consumo de solvente orgánico tóxico por muestra (entre 50 y 300 mL), que luego se transforma en un desecho que requiere tratamiento;
- es necesaria una etapa de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos;
- gran consumo de energía;
- gran consumo de agua para refrigeración (condensación de vapores);
- análisis de un bajo número de muestras por jornada; y
- no es aplicable a analitos termolábiles.



Figura 2. Extracción Soxhlet de muestras de suelo.

La eficiencia de la EAU depende de cada situación específica, debido a que no todos los compuestos se comportan de la misma manera y a que mantienen diferentes interacciones con la matriz (Tadeo et al., 2010). Así, para maximizar la extracción es necesario optimizar diferentes factores como el tipo de solvente de extracción, el dispositivo sonicador y las condiciones de la sonicación (temperatura, frecuencia de la onda y tiempo de extracción).

## 5.2. Fundamentos del ultrasonido

El ultrasonido consiste en ondas mecánicas que necesitan un medio elástico para propagarse. La frecuencia de la onda del ultrasonido se encuentra en el rango de los 20 kHz a 10 MHz y está por encima de la frecuencia de la audición humana. El ultrasonido de baja intensidad (alta frecuencia) involucra a las ondas de entre 100 kHz a 1 MHz y se emplea para el análisis no destructivo.

Las ondas acústicas, de naturaleza mecánica, no pueden ser absorbidas por las moléculas; deben transformarse en una forma químicamente útil a través de un proceso indirecto y complejo denominado *cavitación*. Como el sonido, el ultrasonido se propaga a través de una serie de ondas de compresión y expansión que viaja dentro de un medio elástico. Los ciclos de compresión juntan a las moléculas del medio mientras que los ciclos de expansión las separan (Figura 3). En un medio líquido, el ciclo de expansión del ultrasonido puede generar suficiente presión negativa como para romper las fuerzas de cohesión de las moléculas del líquido, separándolas y creando allí una microcavidad o burbuja. Normalmente, esto tiene lugar en zonas donde existen pequeñas partículas, gases disueltos o microburbujas. Las cavidades formadas van creciendo en los sucesivos ciclos acústicos, desde una medida inferior al micrómetro hasta unas decenas de micrómetros, hasta alcanzar finalmente una medida crítica en la que ya no puede absorber eficientemente energía. Sin ella, la cavidad no puede mantenerse y el líquido que la rodea entra violentamente a la cavidad, ocasionando su implosión.

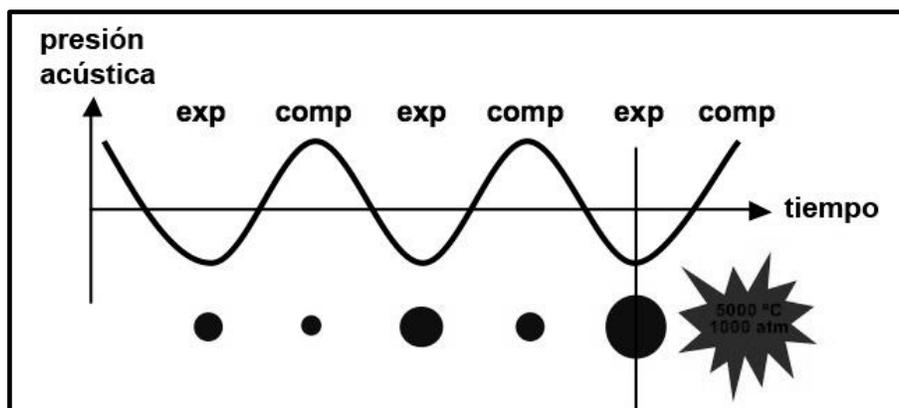


Figura 3. Variación del tamaño de la burbuja en el tiempo según la presión acústica.

Fuente: <http://www.ub.edu/talq/es/node/252>

La rápida compresión de los gases dentro de la burbuja genera temperaturas y presiones enormes, de hasta 5.000 °C y 1.000 atm, respectivamente. Dado que las burbujas son muy pequeñas en comparación con el volumen del medio líquido, el calor generado se “disipa” muy rápidamente con lo cual las condiciones del medio se mantienen esencialmente inalteradas. El rápido colapso genera ondas de choque que pueden inducir efectos mecánicos, como fragmentaciones y erosiones de sólidos.

### 5.3. Aplicaciones de la energía ultrasónica al análisis de residuos de plaguicidas en muestras de suelo

Una técnica de extracción basada en la radiación ultrasónica, llamada extracción asistida por ultrasonido en micro columnas (EAUMC) fue desarrollada por Sánchez-Brunete et al. (1998) en muestras de suelos fortificadas para la determinación de 50 plaguicidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas) de distintas polaridades y en concentraciones que variaron entre 0,2 – 1 µg/g, empleando tres solventes distintos: acetato de etilo, metanol y acetona. Brevemente, la metodología de la EAUMC consiste en dos extracciones consecutivas de una masa de 5 g de muestra de suelo dentro de una pequeña columna de polipropileno con 4 mL de solvente, llevada a baño ultrasónico por un lapso de 15 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se colectan los extractos dentro de un tubo de ensayo por el extremo inferior de la columna, a presión atmosférica. La determinación de los analitos se lleva a cabo por cromatografía gaseosa acoplada a un detector nitrógeno-fósforo (GC-NPD). En general, las recuperaciones obtenidas por Sánchez-Brunete et al. (1998) fueron mayores con acetato de etilo debido a la baja eficiencia de extracción del metanol para compuestos poco polares y no polares, y a la gran concentración de impurezas co-extraídas por la acetona. El grupo de investigación obtuvo recuperaciones entre 89 – 109%, una buena reproducibilidad (desviación estándar relativa, DER, entre 2,4 y 10,6%) y límites de detección entre 0,001 y 0,02 µg/g.

Castro et al. (2001) han realizado más pruebas sobre la EAUMC para la determinación de residuos de insecticidas organoclorados, piretroides y organofosforados en suelo. En su trabajo, han estudiado las recuperaciones (para lo cual se ensayó con muestras de suelos fortificadas a 0,1; 0,5 y 1 µg/g de concentración final en suelo), el efecto del tiempo de residencia de los analitos en el suelo (25 minutos, 1, 15 y 30 días)

para evaluar si la eficiencia de la técnica se ve afectada por fenómenos de adsorción, el tipo de material de las columnas (vidrio y plástico) y la influencia del contenido de humedad del suelo (5% y 10%). Se empleó acetato de etilo como solvente extractante (8 mL por muestra), dos suelos distintos, baño ultrasónico y un cromatógrafo gaseoso acoplado a un detector de captura electrónica (GC-ECD). Las condiciones de sonicación fueron: 150 W de potencia, frecuencia de 33 kHz, temperatura ambiente y dos sonicaciones.

Los resultados de las recuperaciones de los tres niveles de fortificación variaron entre 90,4 y 108,5% con un DER entre 0,9 y 11,3%. Las pruebas de contenido de humedad no mostraron diferencias significativas entre ambos niveles. Los resultados de la evaluación de la influencia del tiempo de residencia son muy similares entre todos los períodos de tiempo y siempre se obtuvieron recuperaciones mayores a 90% y DER menores a 12%. Respecto al material de las columnas, no se observaron diferencias significativas, siendo los resultados de las recuperaciones de entre 90,3 y 106,7% con DER entre 1,3 y 11,5%.

## 5.4. Validación de un método analítico

La validación de un método analítico consiste en demostrar experimental y formalmente su capacidad para la obtención de información analítica que sea útil para los requerimientos de un problema analítico específico (Soto Chinchilla, 2007). La validación de un método analítico se realiza a través de ensayos de recuperación de muestras fortificadas a distintas concentraciones. La aceptabilidad del método se decide en base a la evaluación de la linealidad, rango dinámico, exactitud, precisión y límites de detección y de cuantificación obtenidos.

### 5.4.1. Linealidad y bondad de ajuste

En primer término, se busca establecer una relación lineal entre las cantidades  $x$  de analito y la respuesta  $y$  del equipo de detección, es decir, que  $y$  varíe proporcionalmente a  $x$  en un rango definido y así obtener una ecuación de la recta con la menor dispersión de puntos posible. Si se cumple que la relación entre estas variables es fuertemente lineal, se podrán realizar predicciones con un alto grado de confianza estadístico. La

expresión matemática de la relación lineal viene dada por  $y = ax + b$  donde los coeficientes  $b$  (ordenada al origen) y  $a$  (pendiente de la recta) dependen del tipo de sistema que se estudia, e  $y$  es la variable dependiente de  $x$ . La magnitud  $y$  es conocida (área bajo la curva del pico cromatográfico), mientras que  $x$  representa la concentración del analito de un experimento dado que llega al detector, produciendo la señal  $y$ .

Para determinar la linealidad de la respuesta del instrumento a la concentración de un compuesto se prepara una serie de mínimo cinco disoluciones de su estándar, comprendiendo las concentraciones estimadas de trabajo (la selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionada con la aplicación real del método), con un exceso de al menos 50% sobre el límite superior y un defecto de 50% debajo del límite inferior (Vinagre, 1995). Estas soluciones se inyectan en el cromatógrafo y se leen las respuestas  $y_i$ . De este modo, se dispone de una serie de puntos  $(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$  que, representados gráficamente, deberían caer sobre una línea recta. Sin embargo, los errores experimentales hacen que no se hallen perfectamente alineados y que por esto la recta no pase exactamente por todos los puntos, sino que se ajusta lo mejor posible a la dispersión de los puntos  $xy$  por regresión lineal. En consecuencia, la recta no determinará exactamente los valores de  $y$ . Al calcular la diferencia entre el valor observado y el que predice la recta, se obtiene un valor llamado residuo ( $e_i$ ).

El método más efectivo para determinar los coeficientes  $a$  y  $b$  es a través de la suma de los cuadrados de los residuos  $e_i$  más pequeños (método de los mínimos cuadrados).

La medida que indica el grado de covariación entre las variables y que permite decidir si el ajuste lineal es suficiente o se debe buscar un modelo alternativo es el coeficiente de determinación  $R^2$  (1).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (1)$$

Donde  $\hat{y}_i$  es el valor estimado,  $\bar{y}$  es la media de las observaciones e  $y_i$  es el valor real. Este coeficiente toma valores entre 0 y 1. Si  $R^2$  es igual a 0, no existe ninguna relación entre las variables; y si  $R^2$  es 1, todos los puntos se encuentran sobre la recta existiendo una correlación que es perfecta y directa. En la validación de un método analítico, se busca que las variables sean directamente proporcionales, es decir, que  $R^2$

sea lo más cercano a 1 posible. Se consideran valores de  $R^2$  aceptables aquellos que sean iguales o mayores a 0,99.

### 5.4.2. Exactitud

La exactitud del método analítico indica su capacidad para obtener resultados lo más próximos posibles al valor verdadero, es decir, es la concordancia entre la mejor estimación de una cantidad y su valor real (Castillo Aguilar & González Hernández, 1997).

La exactitud queda determinada por la recuperación media de los compuestos, obtenida mediante experimentos de fortificación en porciones de matriz con probada ausencia de los analitos. Para ello, se fortifica la matriz con una solución de analitos de concentraciones conocidas, se ejecuta el método y se analiza qué cantidad de cada compuesto se recupera. La recuperación del compuesto es el cociente entre la concentración obtenida a lo largo de todo el procedimiento y la concentración de fortificación. Es necesario ensayar varias réplicas, a fin de realizar el cálculo de la recuperación media a través del promedio aritmético  $\bar{x}$  (2).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{n=1}^{n=i} X_i \quad 100\% \quad (2)$$

Donde  $X_i$  es el  $i$ -ésimo valor de las recuperaciones y  $n$  es la cantidad de réplicas.

Como criterio de aceptación de las recuperaciones medias de los plaguicidas, se adoptó el establecido por el documento guía sobre control de calidad analítica y validación de procedimientos para análisis de residuos de pesticidas en alimentos y forraje SANCO 12571/2013 de la Comisión Europea de Salud y Protección del Consumidor. Esta guía fue desarrollada para proteger la salud humana por consumo de alimentos de origen vegetal. Para el caso de las recuperaciones medias, el rango es de 70-120% (European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General, 2013).

### 5.4.3. Repetibilidad

La precisión se puede expresar a través de la repetibilidad y corresponde al grado de

concordancia entre los resultados de experimentos independientes, cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea bajo las mismas condiciones experimentales: mismo operario, mismo laboratorio, mismos equipos, presiones, temperaturas, solventes y reactivos (Soto Chinchilla, 2007). La repetibilidad permite evaluar la incertidumbre en la estimación de la media, es decir, el error aleatorio que se corresponde con la dispersión de los datos alrededor de la media (Castillo Aguilar y González Hernández, 1997). El parámetro estadístico que caracteriza a la repetibilidad es la desviación estándar relativa (DER). Su expresión matemática se muestra en la ecuación (3).

$$DER = \frac{DS}{\bar{X}} 100\% \quad (3)$$

Siendo DS (desviación estándar)  $DS = \sqrt{\frac{\sum_1^i (X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}}$

Donde  $X_i$  es el valor de recuperación observado para el compuesto de la  $i$ -ésima réplica,  $n$  es la cantidad de ensayos y  $\bar{X}$  es el promedio de las recuperaciones del compuesto.

Se adoptó como valor límite de aceptabilidad de DER el establecido por la Guía SANCO 12571/2013. La misma considera que un valor de DER igual o inferior al 20% es aceptable (European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General, 2013).

#### 5.4.4. Límites de detección y de cuantificación

El límite de detección (LD) se define como la concentración del analito a la menor señal medida, que con una cierta confianza estadística puede ser interpretada como indicativa de la presencia del analito en la muestra y diferente de la señal de una muestra blanco o señal de fondo (Soto Chinchilla, 2007). Por debajo del LD no se pueden calcular concentraciones, por lo que se informa “no detectado” (ND). Existen varias formas de calcular el límite de detección, aunque va en aumento la tendencia de calcularlo como la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la del blanco ( $Y_B$ ) más tres veces la

desviación estándar (DS) del blanco (Miller & Miller, 2002):

$$LD = Y_B + 3DS$$

El límite de cuantificación (LC) se define como la menor concentración del analito en la muestra que puede ser determinada cuantitativamente con una cierta confianza estadística (Soto Chinchilla, 2007). Por debajo del LC, la sustancia no puede ser cuantificada, pero si detectada, por lo que se informa que se haya a nivel de trazas. La expresión matemática viene dada por la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la del blanco ( $Y_B$ ) más diez veces la desviación estándar (DS) del blanco (Miller & Miller, 2002):

$$LC = Y_B + 10DS$$

## 5.5. Validación de EAUMC en el Laboratorio de Cromatografía – UNCo

El método de extracción asistida por ultrasonido en microcolumnas desarrollado por Sánchez – Brunete et al (1998) fue validado en el laboratorio de Cromatografía de la UNCo en dos tipos de suelos: un aridisol colectado en la zona agrícola de Colonia Centenario, con un contenido de materia orgánica de 0,4%, y un andisol de San Martín de los Andes, Provincia del Neuquén, con un contenido de materia orgánica del 11%. Se constató que ambas muestras estuvieran libres de residuos de plaguicidas.

El Laboratorio de Cromatografía seleccionó 10 plaguicidas representativos para la validación del método, conforme a los análisis de rutina que lleva a cabo. Estos plaguicidas son: propoxur, dimetoato, carbofurán, carbaril, metil azinfos, fosmet, fenamifos, metidatió, triazofos y clorpirifos.

El método fue validado en 3 niveles de concentración: 0,2; 0,5 y 1,0  $\mu\text{g/g}$  en suelo. Las soluciones de calibración fueron preparadas en 5 niveles de concentración: 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 y 1,0 ppm en solvente acetato de etilo.

### 5.5.1. Ensayos de recuperación de plaguicidas organofosforados y carbamatos

Los suelos se tamizaron a través de malla de 2 mm y luego se separaron submuestras de 10 g, que fueron colocadas dentro de columnas de polipropileno con filtros de papel AP40 EM microfibra de vidrio y 2 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro en el fondo. La sal se adicionó para retener los posibles restos de humedad que pudiera contener el extracto. Las muestras de suelo fueron fortificadas con disoluciones que contenían una mezcla de los plaguicidas a estudiar para alcanzar unas concentraciones finales en suelo de 0,2; 0,5 y 1,0 µg/g suelo (Figura 4). Para cada nivel, se realizaron 7 réplicas. Seguidamente, a cada columna se le agregó 0,5 mL de acetato de etilo para evitar la pérdida de masa de plaguicidas por volatilización y se colocaron las tapas de ambas aberturas (inferior y superior). Transcurridos 25 minutos, se agregaron 8 mL de solvente a cada columna (Figura 5) y se llevaron a sonicar a baño ultrasónico, por espacio de 15 minutos. Se ajustó el nivel de agua de la cuba del sonicador con el nivel del solvente dentro de la columna. Las condiciones de la sonicación fueron potencia de 150 W, frecuencia de 35 kHz y temperatura ambiente. Después, se llevaron las columnas al sistema de filtrado, recogiendo los extractos líquidos en tubos graduados de vidrio y a presión atmosférica, permitiendo un goteo pausado y constante. Cuando todo el líquido fue recolectado, se agregaron otros 8 mL de acetato de etilo y se repitió el procedimiento. Por último, se agregaron 2 mL de solvente a cada columna para enjuague final y se dejó filtrar completamente.

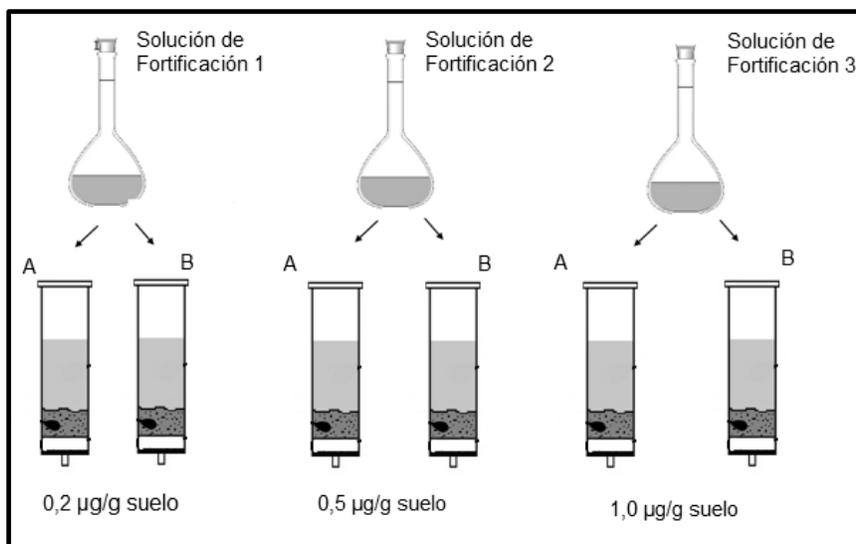


Figura 4. Representación de las fortificaciones de las fracciones de suelo. Elaboración propia.

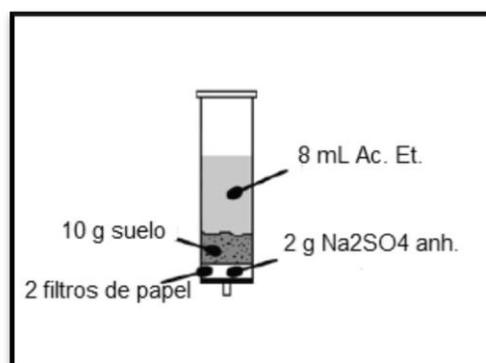


Figura 5. Disposición de los elementos en la micro-columna. Elaboración propia.

Los extractos fueron concentrados bajo corriente de nitrógeno hasta un volumen de 10 mL y vializados, para su posterior inyección al cromatógrafo.

Para obtener los LD y LC se realizaron ensayos de recuperación en suelo ( $n=7$ ) al nivel de fortificación más bajo ( $0,2 \mu\text{g/g}$ ), concentrando hasta sequedad y agregando  $900 \mu\text{L}$  de acetato de etilo y  $100 \mu\text{L}$  de estándar interno Sulfotep. Para cada compuesto se calculó la desviación estándar de la media de las réplicas.

El blanco de método EAUMC fue realizado con la microcolumna, papel de filtro, sulfato de sodio anhidro y solvente, sin matriz y sin fortificación. El extracto de blanco fue concentrado, vializado e inyectado al cromatógrafo.

### 5.5.2. Análisis cromatográfico

Los extractos fueron inyectados en un cromatógrafo gaseoso Agilent Technologies 6890 equipado con un detector de nitrógeno y fósforo (NPD), en modo splitless con N<sub>2</sub> como gas acarreador. La temperatura inicial del horno fue de 70°C, la rampa de temperatura fue de 20°C/min hasta alcanzar 160°C, luego de 4°C/min hasta 240°C durante 9 minutos. La temperatura del inyector fue de 250°C y la del detector 300°C.

De forma intercalada a los viales de los ensayos, se inyectaron las soluciones de estándares en 5 niveles de concentración (0,05; 0,10; 0,25; 0,50 y 1,00 ppm en acetato de etilo) para cuantificación de los compuestos. Para realizar la identificación de los picos de los cromatogramas de las muestras, se compararon los tiempos de retención con los de un cromatograma de una solución de estándares intermedia.

### 5.5.3. Parámetros analíticos de la EAUMC

La cuantificación de las recuperaciones se llevó a cabo por el método del estándar interno y de curvas de estándares de calibración. El mismo consiste en graficar las curvas de calibración de cada sustancia a partir de la inyección al cromatógrafo de una serie de disoluciones de estándares para obtener la ecuación de la recta por ajuste de la dispersión de puntos a un modelo de regresión lineal (método de los mínimos cuadrados) (Figura 6). La concentración del compuesto se calcula hallando el valor de  $x$  de la expresión  $y = ax + b$  donde  $a$  y  $b$  son los coeficientes obtenidos de las curvas de calibración e  $y$  es la respuesta del detector (el área bajo la curva del pico cromatográfico). El valor de  $x$  tiene unidades de concentración, en el orden de magnitud de la concentración de los estándares.

La linealidad de la respuesta del equipo a la concentración de los compuestos fue evaluada a partir del coeficiente de determinación obtenido de la curva de calibración de cada estándar. El método muestra una excelente linealidad en el rango de concentraciones estudiado para todos los compuestos, siendo  $R^2 > 0,99$ . En el Anexo 11.1 se muestran las curvas de calibración de los estándares.

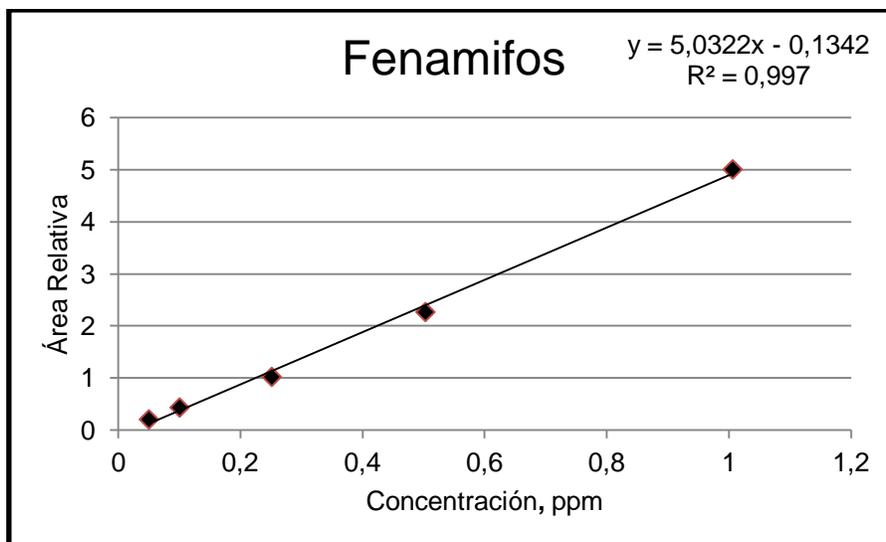


Figura 6. Curva de calibración de un estándar ajustada por regresión lineal.

## 5.6. Resultados de los ensayos de recuperación

Un resumen de las recuperaciones medias y su desviación estándar relativa de cada compuesto en los tres niveles de fortificación se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Resumen de las recuperaciones en los suelos para los 3 niveles de fortificación.

Plaguicida	Nivel de fortificación final en suelo ( $\mu\text{g/g}$ )	Aridisol		Andisol	
		Recuperación media (%)	DER (%)	Recuperación media (%)	DER (%)
Propoxur	0,2	107,65	10,88	81,78	7,36
	0,5	89,99	6,38	92,50	1,44
	1,0	95,58	5,64	92,57	0,98
Dimetoato	0,2	99,66	2,73	83,28	3,84
	0,5	81,96	7,80	80,05	-
	1,0	84,93	6,38	92,57	0,98
Carbofurán	0,2	134,32	8,78	86,41	7,12
	0,5	106,78	7,63	93,15	3,09
	1,0	108,30	4,41	120,35	3,08
Carbaril	0,2	96,60	8,07	82,25	8,93
	0,5	79,91	7,66	93,05	6,35
	1,0	90,21	5,14	117,95	4,72
Clorpirifos	0,2	91,01	5,64	61,39	5,96
	0,5	83,00	6,12	98,94	0,54
	1,0	95,94	4,33	118,11	1,36
Metidati3n	0,2	92,81	3,11	70,60	3,02
	0,5	71,55	7,22	93,82	1,33
	1,0	86,30	6,65	118,77	0,46
Fenamifos	0,2	88,35	4,78	75,69	7,21
	0,5	73,54	5,53	104,41	2,73
	1,0	91,45	7,00	132,75	1,39
Triazofos	0,2	94,20	3,05	80,59	4,03
	0,5	74,64	6,43	90,54	3,31
	1,0	89,47	4,00	121,92	2,39
Fosmet	0,2	100,57	2,51	89,98	9,69
	0,5	79,23	8,84	79,48	0,96
	1,0	90,88	8,02	104,10	8,04
Metil azinfos	0,2	97,84	3,29	86,91	6,94
	0,5	79,41	9,73	68,47	5,49
	1,0	93,39	10,53	85,46	8,43

Con respecto a la exactitud del método, el aridisol presentó recuperaciones medias entre 79%-107% para carbamatos y 71%-100% para organofosforados. Las recuperaciones medias de carbamatos para andisoles fueron 81%-120% y 70,6%-121%

para organofosforados. Estos valores se encuentran dentro del rango establecido por la guía SANCO 12571/2013, que establece un rango de 70%–120%. Unas pocas recuperaciones caen por fuera del citado intervalo: fenamifos (132,75%), clorpirifos (61,39%) y metil azinfos (68%) en el andisol y carbofurán (134,32%) en el aridisol.

En cuanto a la precisión del método, medida como desviación estándar relativa, varió entre 2,5% y 10,88% para los aridsoles y entre 0,54% y 9,69% para los andisoles, siendo en todos los casos menores a 20%.

El límite de detección para carbamatos fue de 10 µg/kg y el límite de cuantificación de 34 µg/kg. Para los plaguicidas organofosforados el LD fue de 7 µg/kg y el LC de 24 µg/kg.

Se procesaron muestras reales de sedimentos por extracción Soxhlet y EAUMC con el objetivo de comparar las eficiencias de extracción entre los métodos. Los resultados fueron ajustados a un modelo lineal (mediante regresión lineal simple) y analizados mediante la prueba t de Student de datos pareados para valorar si las medias de las recuperaciones de ambos métodos son estadísticamente diferentes entre sí. Se encontró que no existe diferencia significativa entre los métodos de extracción ( $p < 0,05$ ;  $n = 12$ ) y que la variación de los resultados obtenidos por EAUMC (variable dependiente) es explicada en un 87% ( $R^2 = 0,87$ ) por los resultados de las extracciones Soxhlet (variable predictora) a través del modelo de regresión lineal (Figura 7).

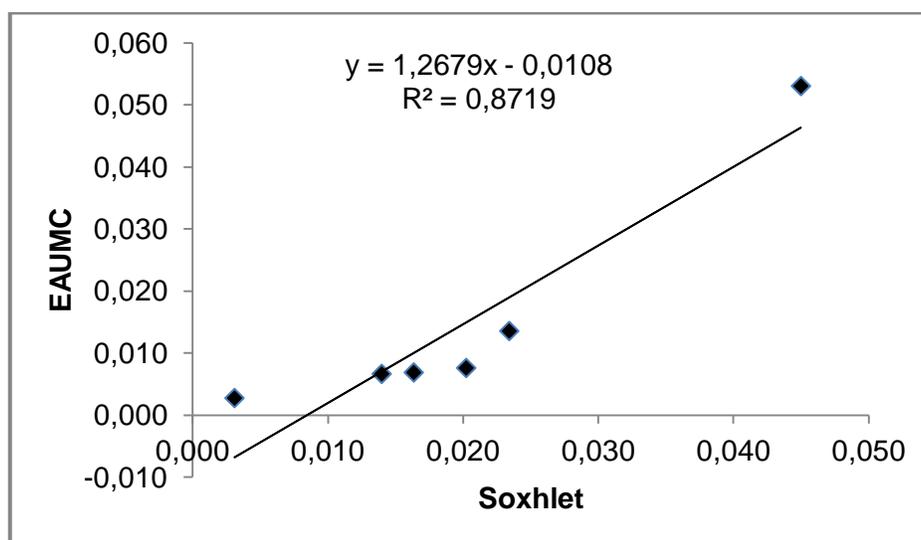


Figura 7. Ajuste lineal de los resultados del análisis de muestras reales de sedimentos por extracción Soxhlet y EAUMC.

Los parámetros analíticos obtenidos de la EAUMC para pesticidas carbamatos y organofosforados en suelos y la diferencia no significativa entre los métodos de extracción de los compuestos en sedimentos validan al método para el análisis de rutina en el Laboratorio de Cromatografía. La extracción asistida por ultrasonido demostró ser un método rápido de adquisición de resultados y capaz de determinar múltiples plaguicidas simultáneamente, aún en matrices con distinto contenido de materia orgánica.

# TERCERA PARTE

## 6. Materiales y Métodos

### 6.1. Área de estudio

El área de estudio se ubica en los departamentos de Añelo y Confluencia de la Provincia del Neuquén y está comprendida entre el paraje rural Sauzal Bonito y 4.000 m aguas arriba de la confluencia del río Neuquén con el río Limay (Figura 8), coincidiendo con estudios desarrollados y en desarrollo de equipos de docentes-investigadores del LIBIQUIMA-CITAAC. Las campañas de muestreo se encuadran dentro del proyecto institucional 04/I-200 “*Estudio multidisciplinario de la afectación del ambiente asociada a las actividades productivas de la región del Alto Valle: distribución, destino y transporte*” dirigido por la MSc. Ruth Miriam Loewy. En este proyecto, los compuestos de interés son hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos, metales pesados y plaguicidas carbamatos, organofosforados, piretroides y organoclorados.

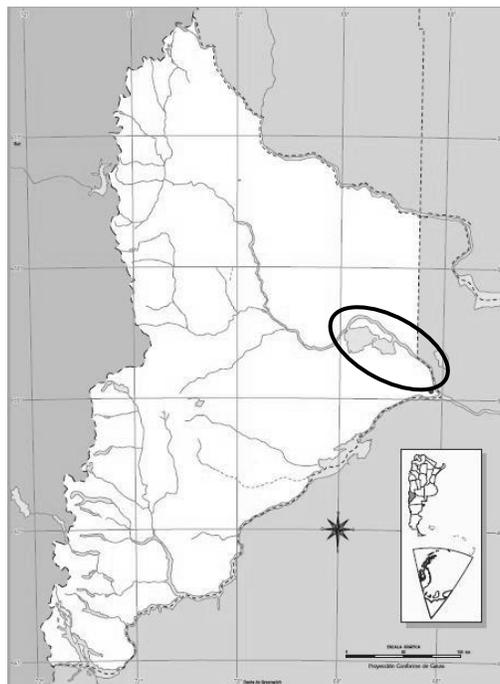


Figura 8. Área de estudio, comprendida entre el Sauzal Bonito y aguas arriba de la confluencia con el río Limay.

Los sitios de recolección de muestras fueron escogidos por la presencia de tomas de agua para abastecimiento humano y proximidad a pozos de extracción de hidrocarburos y zonas agrícolas.

Se llevaron a cabo cuatro campañas de muestreo en noviembre de 2014, octubre y diciembre de 2015 y marzo de 2016. Las Figuras 9, 10 y 11 y la Tabla 8 muestran los sitios de toma de muestras del área de estudio.

Tabla 8. Georreferencia de los sitios de muestreo.

<b>Denominación sitio</b>	<b>Descripción del sitio</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>
R-11	Zona agrícola- Sauzal Bonito	38°36'42.00" S	69°07'19.00" O
L-12	Lago Barreales- Yac. Loma La Lata	38°28'00.67" S	68°46'08.15" O
L-14	Lago Barreales-Istmo	38°30'18.80" S	68°42'10.57" O
L-15	Lago Mari Menuco-Istmo	38°33'01.31" S	68°32'20.71" O
L-16	Lago Mari Menuco-toma de agua	38°34'54.25" S	68°29'31.31" O
R-18	Aguas Abajo Portezuelo Grande	38°26'56.00" S	68°56'35.00" O
R-3	Camping Municipal Vista Alegre	38°44'43.08" S	68°08'13.03" O
R-4	Margen Norte Yacimiento Río Neuquén	38°42'29.07" S	68°13'12.08" O
R-6	Brazo zona agrícola antes de la restitución	38°33'44.04" S	68°26'55.03" O
R-7	Puente sobre el brazo del río Neuquén. Dentro de Loma de la Lata	38°32'41.08" S	68°36'36.15" O
R-8	Brazo zona agrícola en Añelo	38°23'48.34" S	68°42'18.51" O
R-9	Bajo Añelo. Aguas arriba de las chacras	38°22'30.01" S	68°44'47,08" O
R-10	Toma de agua- Añelo	38°22'41.09" S	68°48'15,07" O
C-19	Canal de riego A-Microcuenca Centenario	38°51'18.92" S	68°06'38.42" O
D-20	Drenaje EF-Microcuenca Centenario	38°51'36.16" S	68°05'42.47" O
D-21	Drenaje Calle 1-Centenario	38°53'00.20" S	68°04'59.22" O
R-2	Río zona agrícola Centenario	38°52'58.94" S	68°04'31.79" O
D-23	Drenaje Calle 3-Centenario	38°51'57.79" S	68°05'23.86" O
D-22	Drenaje Calle 2-Centenario	38°52'26.59" S	68°05'30.48" O
R-1	Aguas abajo- Parque Industrial Este	38°54'33.00" S	68°03'58.00" O
R-24	Aguas arriba- Rincón de Emilio	38°55'09.90" S	68°02'57.96" O
R-25	Balneario Municipal- Calle Figueroa	38°57'35.10" S	68°00'26.83" O
R-26	4.000 m aguas arriba de la confluencia	38°58'12.13" S	68° 0' 23.33" O

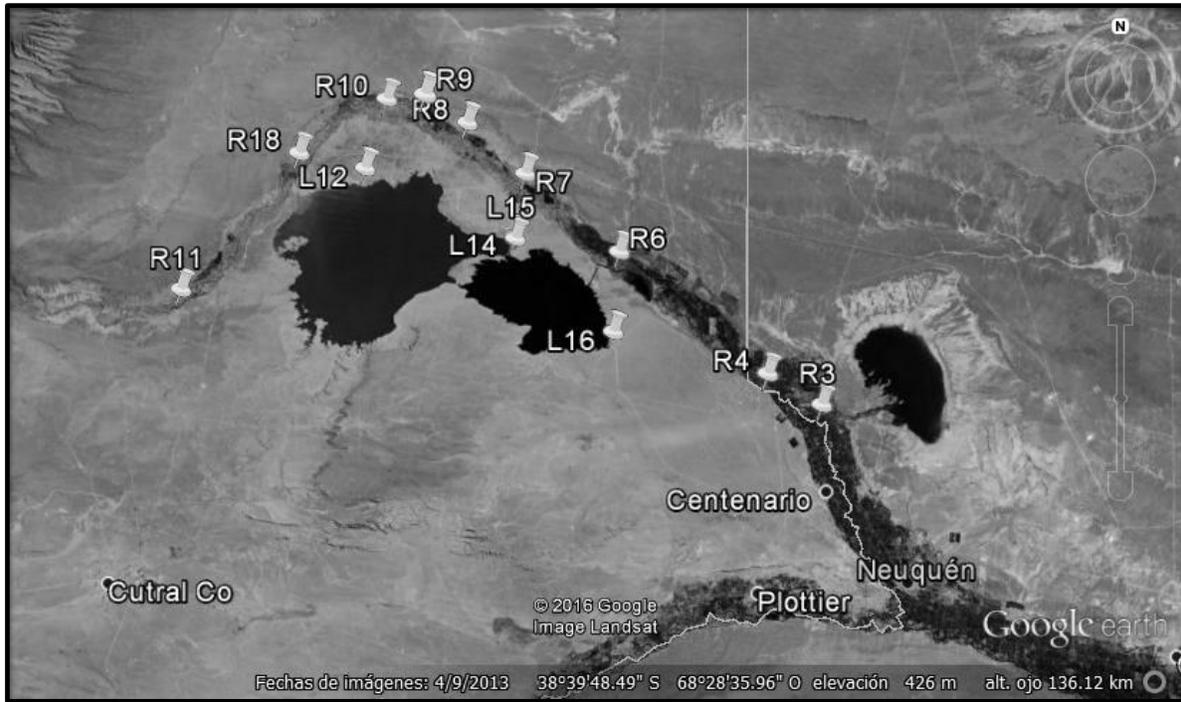


Figura 9. Sitios de muestreo para análisis de plaguicidas e hidrocarburos, campaña noviembre de 2014. Imagen: Google Earth.



Figura 10. Sitios de muestreo para análisis de plaguicidas campañas octubre y diciembre de 2015. Imagen: Google Earth.

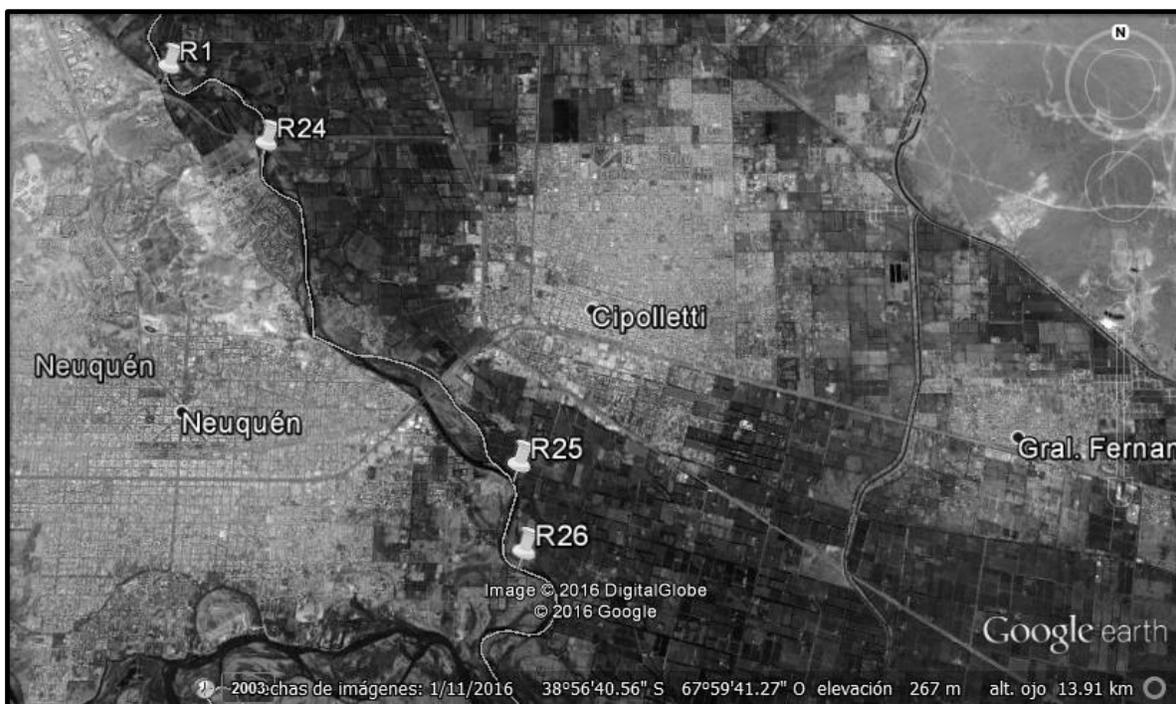


Figura 11. Sitios de muestreo para análisis de hidrocarburos, campaña marzo de 2016. Imagen: Google Earth.

Las muestras de agua fueron tomadas con botellas de vidrio color caramelo, con la abertura orientada en contracorriente. Fueron colocadas en conservadoras con hielo en gel y mantenidas a 4°C hasta su llegada al laboratorio.

Las muestras de sedimentos fueron colectadas con muestreador de núcleo tipo CORE y dispuestas en frascos de vidrio, almacenadas durante el transporte de la misma forma que las muestras de agua.

En cada punto de muestreo y en cada campaña, se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y temperatura del agua y potencial redox del sedimento. Los valores de las determinaciones realizadas in situ de las campañas de muestreo se muestran en el Anexo 11.2.

### 6.1.1. pH del agua

El pH del agua afecta el equilibrio de solubilidad de algunos iones y, por otra parte, las especies acuáticas se desarrollan en un rango de pH determinado que, si es alterado, se inhiben o perturban ciertos procesos biológicos. Por lo general, las aguas naturales superficiales (no contaminadas) exhiben un rango de pH entre 6 y 9.

En las cuatro campañas de muestreo realizadas, el pH del agua resultó neutro a levemente alcalino (entre 6,90 y 9,09). Los menores valores resultaron para los puntos ubicados dentro de la microcuenca Colonia Centenario (canales de riego y de drenaje).

### 6.1.2. Temperatura del agua

El agua de un río intercambia calor con la atmósfera y el lecho. Normalmente, a lo largo de un río en estado natural, la temperatura aumenta a medida que disminuye la altitud. A ésta variación espacial se superpone una doble variación temporal, ya que la temperatura del agua varía según un ciclo diario y un ciclo anual. Por otra parte, el comportamiento térmico de un río puede ser alterado por circunstancias no naturales, como los vertidos térmicos procedentes de la refrigeración de una central térmica o por la presencia de un embalse.

La temperatura influye sobre la actividad biológica, acelerándola o retardándola, incidiendo en el metabolismo, reproducción y comportamiento las poblaciones acuáticas y en sus fuentes de alimentación, en la difusión de oxígeno desde la atmósfera y en la solubilidad de los compuestos en el agua.

Para la campaña de noviembre 2014, las mediciones de la temperatura del agua del río Neuquén evidenciaron un gradiente de mínima a máxima, debido al creciente aporte de energía solar al cuerpo de agua. En el punto extremo aguas arriba (a la altura de Sauzal Bonito) el registro de temperatura fue de 16,4°C mientras que el punto extremo aguas abajo (a la altura de Vista Alegre) fue de 25,7°C.

Las mediciones realizadas en la microcuenca Colonia Centenario en octubre de 2015 muestran valores menores de temperatura para el tramo del río aguas arriba de la microcuenca y para el canal principal de riego que los canales colectores y canales de riego.

En los puntos de muestreo de la campaña de marzo de 2016, las mediciones de temperatura del agua del río resultaron homogéneas, entre 21 y 22,7 °C.

### 6.1.3. Oxígeno disuelto

La presencia del oxígeno en el agua superficial corriente se debe principalmente a la

difusión desde el aire, y es un proceso determinado por la temperatura (la cual está en función a la estación del año y la hora del día). A 20°C, la concentración de oxígeno disuelto es de 8,84 mg/L. Otras fuentes de oxígeno son la fotosíntesis de organismos acuáticos autótrofos, el oleaje producido por el viento y saltos del agua debidos al terreno y obstáculos. Las aguas superficiales corrientes y no contaminadas suelen estar saturadas de oxígeno. Niveles bajos de oxígeno disuelto indican contaminación elevada por materia orgánica o una intensa actividad bacteriana y conduce a la mortalidad de organismos aerobios; por ello, el nivel de OD es considerado un indicador de contaminación.

Las mediciones de OD realizadas en el área de estudio resultaron en un rango de entre 8 y 13 mg/L. Sólo dos mediciones resultaron menores a este rango, con un valor de 6,2 mg/L y correspondieron a puntos sobre el río aguas arriba de Portezuelo Grande.

#### 6.1.4. Conductividad eléctrica del agua

La conductividad eléctrica es una medida indirecta de la concentración de iones en solución. En ríos, refleja el equilibrio en el ecosistema (lecho, vegetación, etc.) y varía en la dimensión longitudinal. Este equilibrio puede verse alterado por el aporte de efluentes con mayor carga iónica.

En este estudio se observó que los valores de conductividad aumentaron regularmente desde el punto más extremo aguas arriba (Sauzal Bonito) hasta el punto cercano a la Confluencia. El tramo del río Neuquén antes de la derivación en Portezuelo Grande (sitios R18 y R11) exhibió valores de conductividad de 122  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . En el tramo regulado del río, aguas arriba de la zona agrícola de Añelo, se midieron valores de entre 136 y 282  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . El agua del río después de la restitución y que alimenta a los canales de riego de la zona agrícola de Colonia Centenario (sitio R3) y el canal principal de riego (C19) presentaron una conductividad del orden de los 290  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . En el drenaje de chacras de Colonia Centenario (D20) se midieron 963  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y en el tramo que bordea a la zona urbana de Neuquén capital entre 310 y 340  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

#### 6.1.5. Potencial redox de sedimentos

El potencial redox es la magnitud que mide la capacidad de un medio de oxidar o

reducir sustancias. Muchas de las reacciones que ocurren en la naturaleza son de óxido-reducción. Los procesos de oxidación y reducción ejercen un importante control sobre la distribución de las especies químicas. En aguas superficiales, el potencial redox está estrechamente relacionado con el pH y con el oxígeno disuelto: un sedimento con un elevado potencial redox contiene una apreciable cantidad de oxígeno, predominando las especies químicas oxidadas de iones y compuestos; por el contrario, un sedimento con bajo potencial redox será rico en especies químicas reducidas.

Las determinaciones de potencial redox en sedimentos de este estudio mostraron una gran variabilidad espacial, pero en general los sitios alejados de actividades antrópicas registraron valores positivos y altos, mientras que las mediciones en los sitios próximos a zonas urbana o frutícola resultaron valores positivos bajos o negativos. Los embalses Barreales y Mari Menuco presentaron las mediciones más altas (entre 230 mV y 316 mV) por lo que son ambientes en los que las reacciones de oxidación están favorecidas. Los sedimentos del drenaje agrícola de Colonia Centenario (D20) y aguas abajo de la descarga al río (R2) presentaron valores de -230 mV y -31 mV respectivamente. La zona de Neuquén capital también exhibió potenciales bajos o negativos (entre 39 y -47 mV).

### 6.1.6. Granulometría de los sedimentos

Desde el punto de vista geomorfológico, el curso alto de un río es el área donde se producen mayormente los sedimentos aportados al sistema fluvial. El material de fondo consiste en rocas y piedras. El curso medio es la zona de transferencia, donde la entrada y salida de sedimentos son similares. Generalmente tiene un fondo de grava o de arena. El curso bajo es el área de deposición de los sedimentos limosos.

En el laboratorio, se llevó a cabo un ensayo granulométrico de una porción seca de las muestras de sedimentos. Se utilizaron tamices de abertura de malla de 2.000 y de 80  $\mu\text{m}$ . Casi la totalidad de los sedimentos presentaron como fracción predominante al limo.

## 6.2. Métodos de extracción y análisis de los compuestos

### 6.2.1. Hidrocarburos

El análisis de AHs y PAHs en sedimentos se realizó mediante una modificación del método EPH – 04; Revisión 1.1 (Method for the Determination of Extractable Petroleum Hydrocarbons) de MADEP (Massachusetts Department of Environmental Protection). El mismo consiste en la extracción Soxhlet de los compuestos mediante cloruro de metileno (150 mL) de una porción de 30 g de sedimentos, concentración en evaporador rotatorio, cambio de solvente a hexano y fraccionamiento de AHs (fracción 1 en hexano) y PAHs (fracción 2 en cloruro de metileno) en columna de sílica gel (Bond Elut Mega BE-SI 1mg, Agilent Technologies) (Figura 12 a). Luego se cuantifican los *n*-alcanos desde el alcano *n*-C9 hasta *n*-C36 y los 16 PAHs prioritarios establecidos por US EPA: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, 1,2-benzoantraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[a,h]antraceno y benzo[g,h,i]perileno. La cuantificación de AHs y PAHs se llevó a cabo en un cromatógrafo en fase gaseosa (GC) Agilent 6890 (Figura 12 b) equipado con columna capilar HP-05 y detector de ionización de llama (FID). Se utilizó un estándar surrogado. Se cuantificaron los compuestos mediante curvas de calibración de 5 niveles de concentración (0,2; 0,5; 1,0; 2,5 y 5,0 ppm).



(a)



(b)

Figura 12. (a) Fraccionamiento de AHs y PAHs. (b) Cromatógrafo gaseoso.

### 6.2.2. Plaguicidas organoclorados

Las determinaciones de plaguicidas organoclorados en muestras de agua se realizaron mediante extracción líquido-líquido (EPA 3510C), con solvente hexano (Figura 13). La identificación y cuantificación de los compuestos se realizó por cromatografía de gases y detector de captura electrónica ( $\mu$ ECD) mediante estándar externo (curvas de calibración de 5 niveles de concentración: 2; 4; 8; 20 y 40 ppb).

La extracción de organoclorados en sedimentos se realizó conjuntamente con los hidrocarburos. Se reunieron las fracciones F1 y F2, se intercambi6 el solvente a hexano y a continuación se sigui6 el mismo esquema cromatogr6fico que el de las muestras de agua para organoclorados. Los compuestos detectados fueron confirmados por  $\mu$ ECD cambiando la columna HP-05 por una HP-17.



Figura 13. Ampollas para extracción líquido- líquido de plaguicidas organoclorados en agua.

### 6.2.3. Plaguicidas organofosforados y carbamatos

La extracción de plaguicidas organofosforados y carbamatos en agua se realizó por fase s6lida (SPE, *Solid Phase Extraction*) seg6n M6todo EPA 3535A modificado, con cartucho polim6rico de fase reversa (Strata™ Phenomenex) (Figura 14). Luego del secado al aire y bajo corriente de nitr6geno, los cartuchos se eluyeron con hexano y cloruro de metileno. Los extractos se concentraron hasta sequedad, se agregaron 250  $\mu$ L

de hexano y 25  $\mu\text{L}$  de estándar interno Sulfotep. Los extractos fueron analizados por Cromatografía Gaseosa con detector nitrógeno-fósforo (GC-NPD). La identificación y cuantificación de los compuestos se realizó mediante curvas de calibración en 5 niveles de concentración (0,05; 0,1; 0,25; 0,50 y 1 ppm). La confirmación fue realizada por cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas (GC-MS).

En sedimentos, los compuestos fueron extraídos por el método validado de extracción asistida en pequeñas columnas, como se explicó en el apartado 5.5.1.



Figura 14. Extracción en fase sólida de organofosforados y carbamatos en agua.

## 6.3. Parámetros analíticos

### 6.3.1. Exactitud

La exactitud fue evaluada mediante ensayos de recuperación realizados en el

Laboratorio de Cromatografía en ocasión de la validación del método y ensayos de rutina de control de calidad analítica. Para la determinación de los plaguicidas organofosforados en agua y sedimentos se utilizó como estándar interno Sulfotep (ditiopirofosfato de o,o,o',o'-tetraetilo).

Las recuperaciones de plaguicidas organofosforados, carbamatos y clorados en agua se encuentran en el rango de 70 - 120%.

En sedimentos, las recuperaciones de plaguicidas organofosforados y carbamatos estuvieron en el rango de 70 - 120%.

Para determinar la exactitud del método para análisis de hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos se empleó COD (1-clorooctadecano). Las recuperaciones de COD en sedimentos estuvieron entre 70 y 90%.

### 6.3.2. Linealidad

Para determinar la linealidad de la respuesta del instrumento se inyectaron en el cromatógrafo, junto con cada serie de muestras, soluciones de estándares de AHs, PAHs, OCIs, OPs y Carbamatos en 5 y 4 niveles de concentración según corresponda. El coeficiente de determinación  $R^2$  de los compuestos fue en todos los casos mayor a 0,99.

### 6.3.3. Repetibilidad

Las desviaciones estándar relativa de las recuperaciones de COD en sedimentos por extracción Soxhlet fueron <0,12 %.

La desviación estándar relativa del método EAUMC para los plaguicidas organofosforados y carbamatos en sedimentos fue <12%.

En matriz agua, la desviación estándar relativa para todas las familias de plaguicidas en estudio fue <20%.

### 6.3.4. Límites de detección y de cuantificación

En la Tabla 9 se recogen los valores de límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) de las familias de plaguicidas e hidrocarburos y de compuestos individuales (casos especiales), en matriz agua y matriz sedimentos.

Tabla 9. Valores de LD y LC de los compuestos estudiados en agua y en sedimentos.

Compuestos	LD		LC	
	Agua, ppb	Sedimentos, µg/kg	Agua, ppb	Sedimentos, µg/kg
Carbamatos	0,030	10	0,110	34
Organofosforados	0,020	7	0,060	24
Clorpirifos	0,014	7	0,050	24
Metidati3n	0,010	7	0,030	24
Organoclorados	0,001	0,010	0,002	0,050
AHs de <i>n</i> -C9 a <i>n</i> -C20	0,5	22	1	40
AHs de <i>n</i> -C21 a <i>n</i> -C33	0,5	40	1	85
PAHs	0,5	23	1	40

Para AHs y PAHs los LD y LC se expresan para compuestos individuales en el rango.

## 6.4. Evaluaci3n de riesgo ecotoxicol3gico

La evaluaci3n preliminar del riesgo ecotoxicol3gico por residuos de plaguicidas se llev3 a cabo mediante la aplicaci3n del concepto de Unidades T3xicas (UT) (K3ck-Schulmeyer et al., 2012). Se trabaj3 con organismos de tres niveles tr3ficos: invertebrados acu3ticos (*Daphnia magna*), peces (trucha arco iris) y alga verde (especie no reportada). *Daphnia magna* es un peque1o crust3ceo que mide de 1 a 3 mm, se alimenta de algas microsc3picas y sirviendo, a su vez, de alimento a los peces. Esta es una de las especies m3s utilizadas en el mundo por su sensibilidad y eficiencia, adoptada por instituciones encargadas de las normas de control del medio ambiente como USEPA (USA.), OECD (Comunidad Europea), DIN (Alemania), AFNOR (Francia), etc. (Paggi & Paggi, s/f). Adem3s, su amplia distribuci3n geogr3fica, el importante papel que cumple dentro de la comunidad acu3tica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, un alto n3mero de descendencia y su corto ciclo de vida hacen de esta especie un indicador ideal para la evaluaci3n de toxicidad.

Las concentraciones de los puntos finales toxicol3gicos fueron obtenidas de la base de datos en l3nea PPDB (Pesticide Properties Data Base<sup>10</sup>) de la Universidad de Hertfordshire, Inglaterra. Luego se aplic3 el 3ndice PRISW-1 para cada compuesto detectado en cada sitio con el fin de conocer cu3l es el riesgo ecotoxicol3gico para el ecosistema en ese punto y su 3rea de influencia.

<sup>10</sup> Base de Datos de Propiedades de Pesticidas

Respecto a los hidrocarburos, las Directrices del CCME proveen un medio para evaluar el riesgo ecotoxicológico en el cual se contrastan las concentraciones de los hidrocarburos medidas en sedimentos con su respectivo nivel guía establecido en el documento “Directrices de Calidad de Sedimentos para la Protección de la Vida Acuática” (Viñas et al., 2010).

## 6.5. Origen de los hidrocarburos

Para estimar el origen de los AHs y PAHs se aplicaron los siguientes índices de referencia citados en el apartado 3.2.

# 7. Resultados

## 7.1. Primera campaña

El muestreo se desarrolló durante dos jornadas consecutivas en el mes de noviembre de 2014. El área abarcó desde el paraje rural Sauzal Bonito (sitio R11) hasta el camping Municipal de Vista Alegre (sitio R3), incluyendo los embalses y redes de canales de la zona agrícola (Figura 15). El objetivo fue realizar un reconocimiento del área, detectar zonas sensibles y sentar antecedentes para futuros muestreos. Se recolectaron 13 muestras de sedimentos para análisis de hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos poliaromáticos y plaguicidas organoclorados y 6 muestras de agua para análisis de plaguicidas organoclorados, piretroides, organofosforados y carbamatos.



Figura 15. Canal de riego zona agrícola Colonia Centenario.

### 7.1.1. Análisis de plaguicidas en agua

No se detectaron residuos de plaguicidas en ninguna de las muestras de agua.

### 7.1.2. Análisis de hidrocarburos

En la mayoría de los sitios analizados se encontraron *n*-alcanos en el rango *n*-C21 - *n*-C33. El rango de concentraciones halladas de hidrocarburos alifáticos en sedimentos varió entre ND (no detectado) y 51,44  $\mu\text{g/g}$  ps. En los sitios R10, L12 y L16 no se detectaron hidrocarburos. En ninguna de las muestras recolectadas se detectaron hidrocarburos poliaromáticos ni MCNR.

Mediante la aplicación de los índices Hidrocarburo Mayoritario (HM), carbono preferencial (ICP) e índice de Predominancia Par-Impar se halló que, en todos los sitios donde se detectaron AHs, éstos correspondieron a aportes recientes derivados de plantas vasculares terrestres, es decir, su origen es biogénico terrígeno. En cada sitio, el hidrocarburo mayoritario fue *n*-C27, *n*-C29 o *n*-C31 y el ICP varió entre 3,22 y 42,13 (Figura 16). El índice de Predominancia Par-Impar se comprendió entre 0,04 y 0,26 (Figura 17). No en todos los sitios fue posible calcular el ICP y el índice de Predominancia Par-Impar, por falta de datos. El índice BPM/APM no pudo ser calculado debido a que no

se detectaron *n*-alcanos de cadena menor a 21 átomos de carbono.

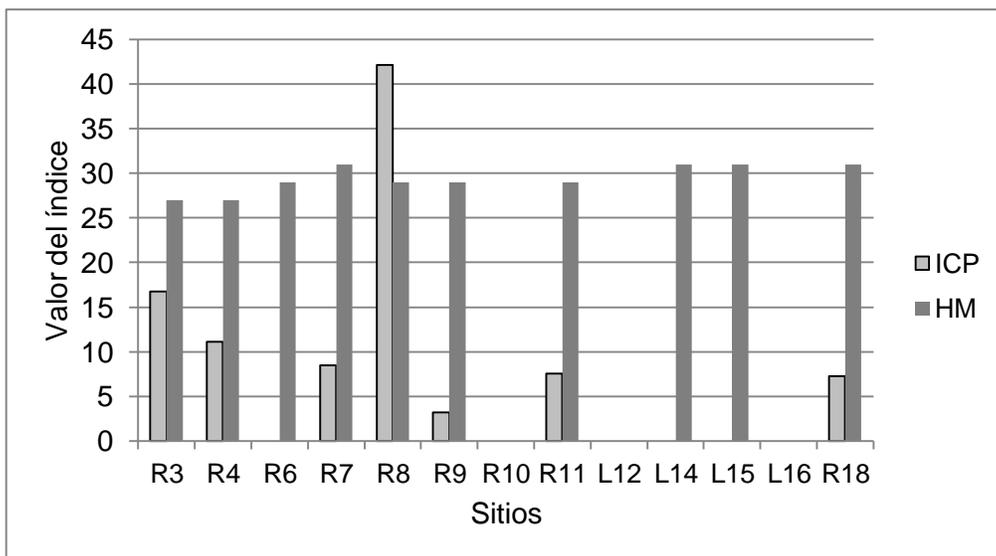


Figura 16. Valores de los índices HM e ICP de sedimentos de la primera campaña.

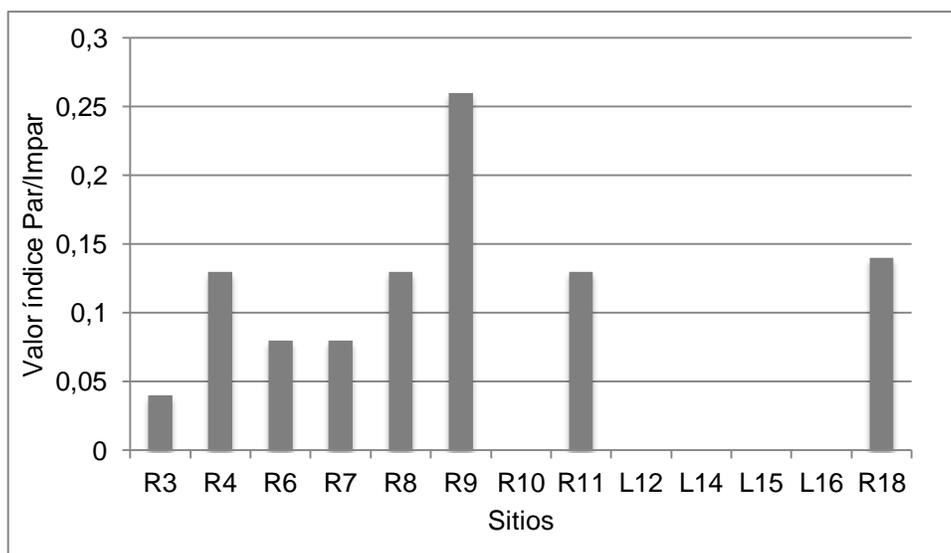


Figura 17. Valores del índice de Predominancia Par-Impar de sedimentos de la primera campaña.

Los sitios con mayores concentraciones de AHs fueron R3 y R4, correspondiendo a las localidades de Vista Alegre y Villa Manzano, respectivamente, principales sitios de producción agrícola del valle del río Neuquén. Los sedimentos de estos sitios presentan niveles de AHs superiores al establecido por UNEP (1992) de 10  $\mu\text{g/g}$  ps (Figura 18).

El punto del río ubicado en Sauzal Bonito fue seleccionado en este estudio como

“blanco” del muestreo de hidrocarburos de origen antropogénico, debido a su lejanía a los sitios de extracción hidrocarburífera y asentamiento poblacional pequeño. Este sitio presentó una concentración de AHs de origen biológico en sedimentos de 1,22  $\mu\text{g/g}$  ps, el cual puede ser establecido como su línea base actual y sentar antecedente para análisis comparativo en estudios posteriores.

Los sitios R6, L14 y L15 presentan únicamente carbonos impares de alta masa molecular: *n*-C27, *n*-C29, *n*-C31 y *n*-C33, en niveles inferiores a 1  $\mu\text{g/g}$  ps. Las concentraciones halladas en los embalses podrían ser consideradas como su línea de base actual.

La zona de mayor densidad de pozos productivos de petróleo y gas (sitios R7, R8, R9, R10 y R18) presentó un rango de concentraciones de AHs en sedimentos entre ND y 2,83  $\mu\text{g/g}$  ps. Este valor podría considerarse como nivel de base actual del tramo del río.

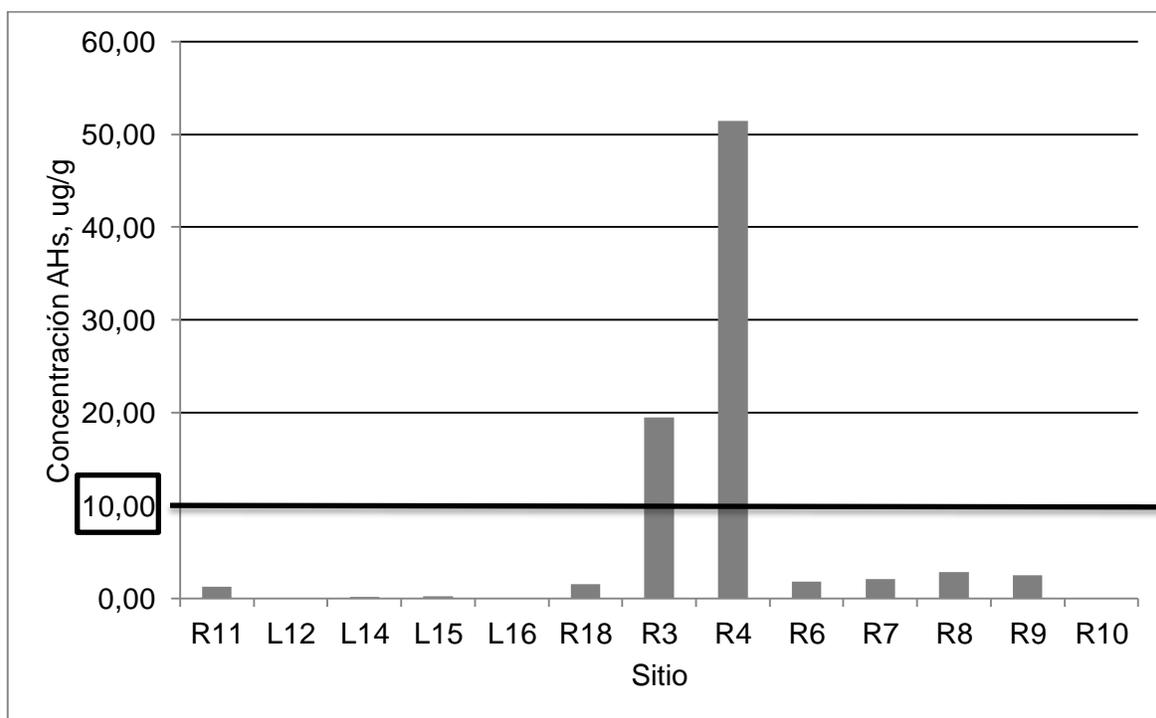


Figura 18. Concentraciones de AHs resueltos totales expresadas en  $\mu\text{g/g}$  de peso seco para cada sitio de muestreo. Se resalta el valor guía establecido por UNEP (1992).

El patrón de distribución de los *n*-alcanos en los sedimentos del río Neuquén muestra una predominancia de cadenas hidrocarbonadas alifáticas impares y cadenas de alta masa molecular por sobre las cadenas pares y de baja masa molecular (Figura 19). Los

carbonos impares mayoritarios fueron *n*-C25, *n*-C27, *n*-C29 y *n*-C31.

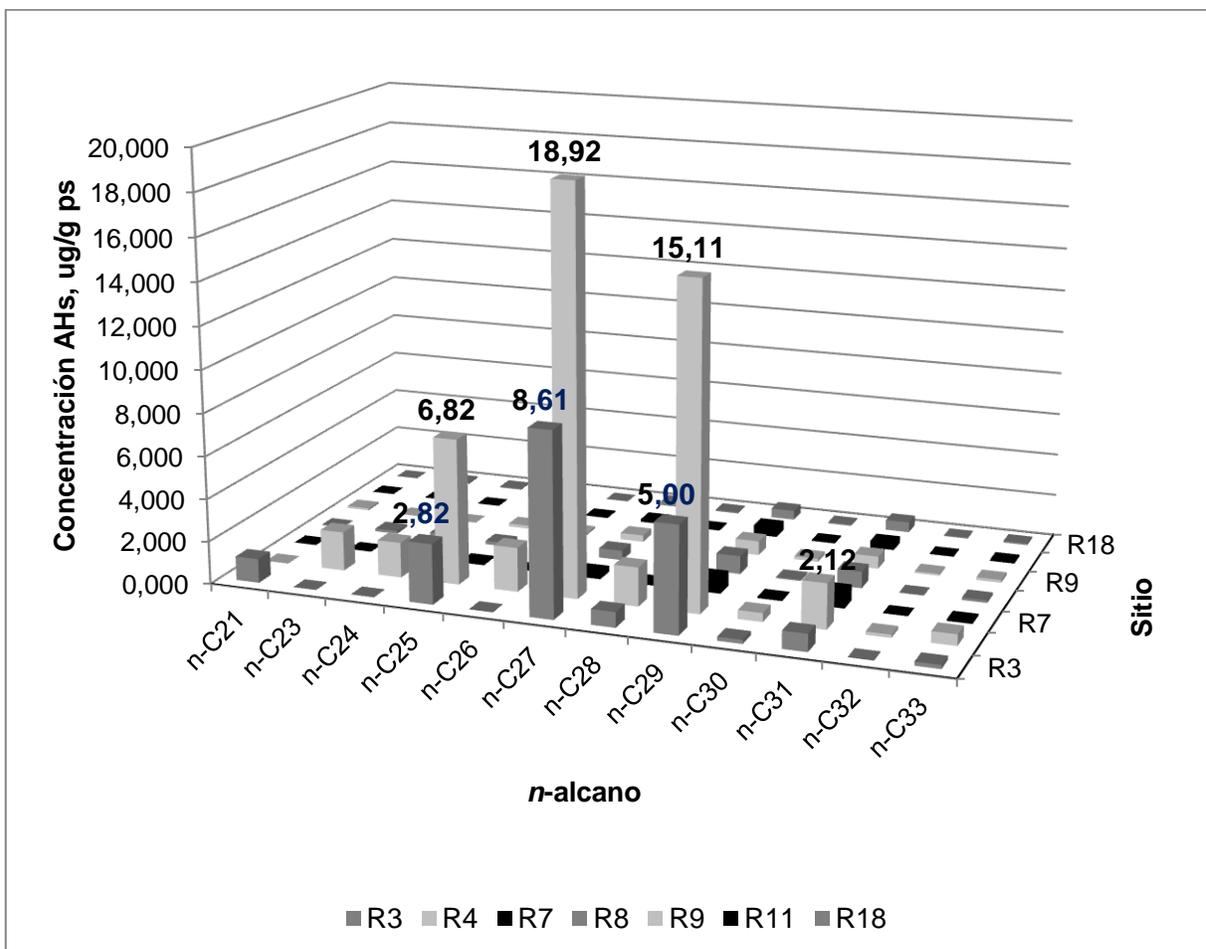


Figura 19. Patrón de distribución de los *n*-alcanos en los sedimentos del río Neuquén.

## 7.2. Segunda campaña

Esta campaña se realizó en el mes de octubre de 2015 en la zona agrícola que abarca desde Vista Alegre (R3) hasta aguas abajo de la zona agrícola de Colonia Centenario, sobre el río Neuquén (R2), incluyendo los puntos C19, D20 y D21 (microcuenca Colonia Centenario). Se tomaron muestras de sedimentos y de agua para análisis de residuos de plaguicidas organofosforados y carbamatos, correspondiendo al período de aplicación de estos plaguicidas. Los resultados del análisis cromatográfico muestran presencia de clorpirifos únicamente en la muestra de sedimentos del sitio D20,

con una concentración de 23 ppb. En el resto de las muestras no fue detectado ningún residuo de plaguicidas.

### 7.3. Tercera campaña

Esta campaña se realizó en la primera semana de diciembre de 2015, dentro del calendario de lucha contra la carpocapsa, repitiendo los puntos de muestreo de la campaña anterior, añadiéndose los drenajes D22 y D23, que en el mes de octubre estaban secos. El análisis de las muestras de agua no mostró presencia de plaguicidas, pero en sedimentos del sitio C19 se detectó clorpirifos a nivel de trazas.

### 7.4. Cuarta campaña

En marzo de 2016 se recolectaron muestras de sedimentos del río Neuquén para análisis de hidrocarburos y plaguicidas organoclorados, en la zona comprendida entre el Parque Industrial de Neuquén Este (R1) y 4.000 m aguas arriba de la confluencia con el río Limay (R26), incluyendo los puntos R24 (Rincón de Emilio) y R25 (balneario Municipal calle Figueroa). La Figura 20 a, b, c y d muestra imágenes de los sitios.



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 20. (a) Parque Industrial Neuquén Este. (b) Barrio Rincón de Emilio. (c) Balneario Municipal calle Figueroa. (d) Aguas arriba de la confluencia de los ríos Neuquén y Limay.

### 7.4.1. Análisis de hidrocarburos

Se detectó la presencia de hidrocarburos alifáticos resueltos. El patrón de distribución de los *n*-alcanos y de sus concentraciones se muestra en la Figura 21. Puede observarse que es similar al de la zona rural y agrícola de la campaña 1. Las mayores concentraciones medidas fueron para los AHs impares de alta masa molecular (*n*-C25, *n*-C27, *n*-C29 y *n*-C31), lo que determina que el índice de Predominancia Par-Impar sea menor a 1 y muy bajo.

El sitio con mayor concentración de AHs resueltos totales fue R26 (Figura 22). Se trata de una zona con abundante vegetación ribereña, correspondiente al sector sureste de la ciudad de Neuquén.

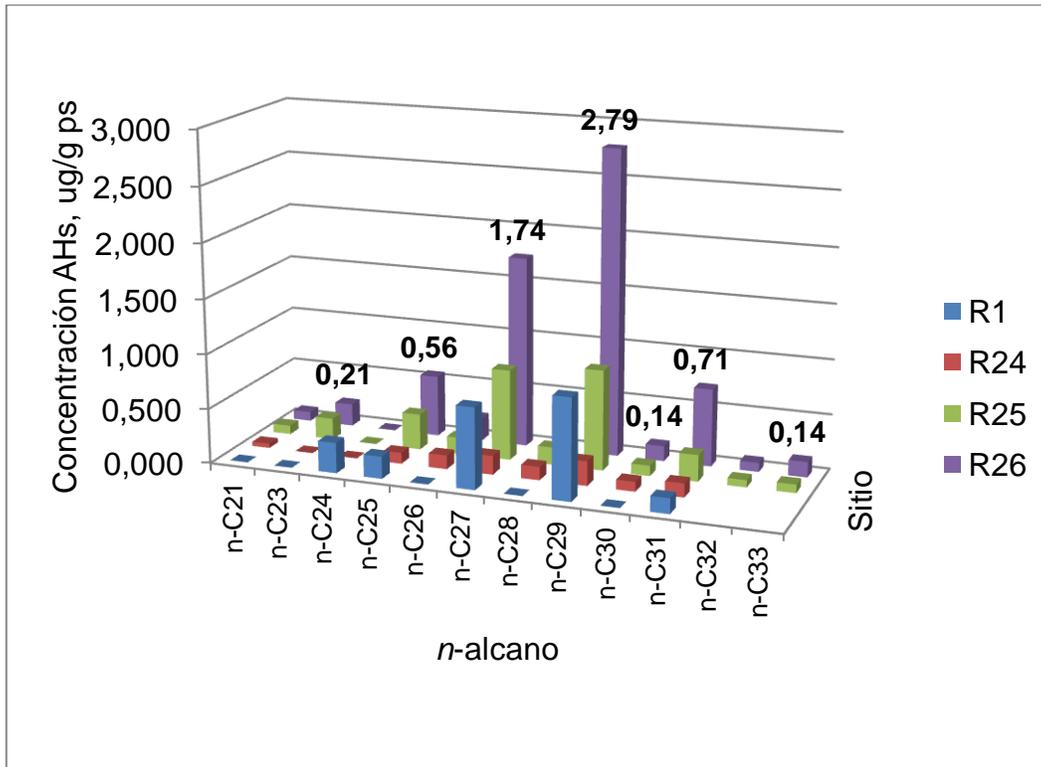


Figura 21. Patrón de distribución de concentraciones de los *n*-alcanos en sedimentos.

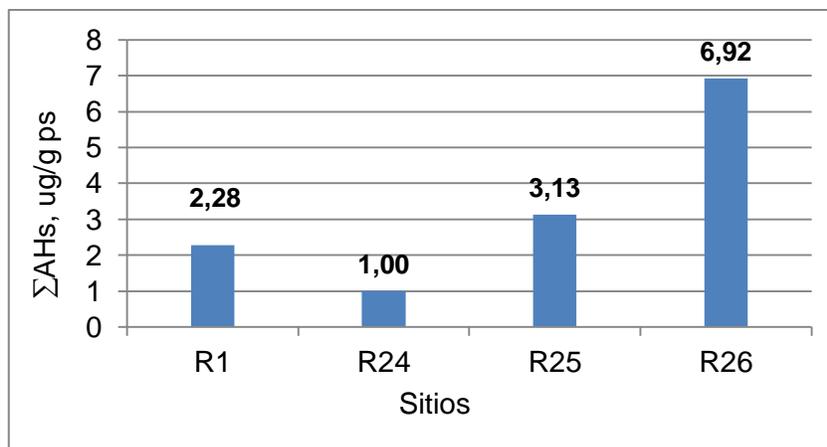


Figura 22. Concentraciones totales de AHs ( $\mu\text{g/g ps}$ ) de los sitios de muestreo.

En todas las muestras, el alcano mayoritario fue *n*-C29, indicando un origen de plantas vasculares terrestres. Los índices ICP y Predominancia Par-Impar se muestran en la Figura 23. Los valores de estos índices indican que los AHs poseen una procedencia biogénica y reciente. El cociente BPM/APM no pudo ser determinado debido a la ausencia de *n*-alcanos de cadena inferior a 21 átomos de carbono.

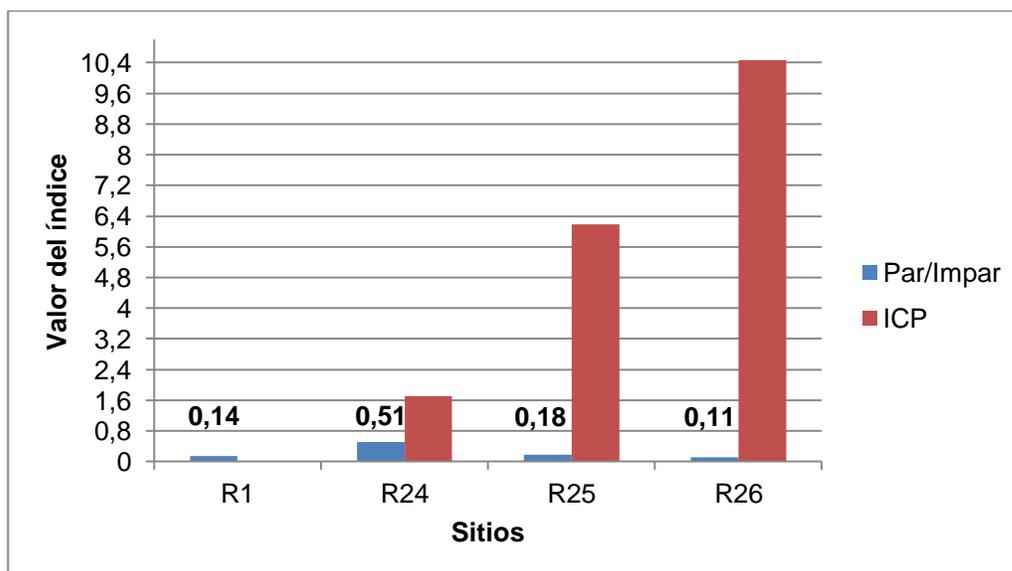


Figura 23. Valores de los índices de Predominancia Par-Impar e ICP de sedimentos del tramo del río que bordean a la capital neuquina.

## 7.4.2. Análisis de plaguicidas organoclorados

En la fracción 2 de los extractos de las muestras de sedimentos se detectó p,p'-DDE en concentraciones que fueron de 1,29 a 5,43  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ps. Se trata de un compuesto organoclorado, principal producto de degradación del diclordifeniltricloroetileno (DDT). En los sitios R1, R25 y R26 se excedió el valor guía de 1,42  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ps establecido por el CCME en sedimentos para la protección de la vida acuática.

## 7.5. Evaluación de riesgo ecotoxicológico

En este estudio no se detectaron residuos de plaguicidas en las muestras de agua, razón por la cual a través del índice PRISW-1 no se puede obtener un nivel de riesgo para los puntos muestreados del río. Sin embargo, a efectos de exponer la aplicación del índice y llegar a un nivel de riesgo ecotoxicológico, se simuló el procedimiento de cálculo para dos plaguicidas a concentraciones fijadas.

Los compuestos considerados fueron los insecticidas organofosforados clorpirifos y metil azinfos, ya que estos presentan las mayores frecuencias de detección en muestreos previos del área bajo estudio. Se realizó la búsqueda de las concentraciones de efecto agudo ( $\text{CE}_{50}$ ) de dichos compuestos para algas verdes y *Daphnia magna* y las concentraciones letales ( $\text{CL}_{50}$ ) para trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la base de datos PPDB (Tabla 10).

Tabla 10. Concentraciones de efecto crítico agudo de clorpirifos y metil azinfos para alga verde, *Daphnia magna* y trucha arcoiris.

Plaguicida	Alga verde $\text{CE}_{50}$ , $\mu\text{g}/\text{L}$	<i>D. magna</i> $\text{CE}_{50}$ , $\mu\text{g}/\text{L}$	<i>O. mykiss</i> $\text{CL}_{50}$ , $\mu\text{g}/\text{L}$
Clorpirifos	480	0,10	13
Metil azinfos	7.150	1,10	20

Se fijaron las concentraciones de los plaguicidas a nivel de los LD y LC del método analítico para cada compuesto en agua, como así también los valores guía para agua superficial establecidos por el CCME, la SSRH y la OMS. En la Tabla 11 se muestran los

valores seleccionados y las  $UT_P$  resultantes.

Tabla 11.  $UT_P$  para alga verde, *Daphnia magna* y trucha arco iris para clorpirifos y metil azinfos a concentraciones fijas.

Nivel fijo	Plaguicida	$UT_P$		
		Alga verde	<i>Daphnia magna</i>	Trucha arco iris
	<b>Clorpirifos, <math>\mu\text{g/L}</math></b>			
LD	0,014	0,00003	0,14	0,001
LC	0,050	0,00010	0,50	0,004
VG1	30	0,06250	300	2,308
VG2	0,006	0,00001	0,06	0,0005
VG3	0,002	0,000004	0,02	0,0002
	<b>Metil azinfos, <math>\mu\text{g/L}</math></b>	<b>Alga verde</b>	<b><i>Daphnia magna</i></b>	<b>Trucha arco iris</b>
LD	0,02	0,000003	0,018	0,001
LC	0,06	0,000008	0,055	0,003
VG1	Nd	---	---	---
VG2	0,02	0,000003	0,018	0,001
VG3	Nd	---	---	---

VG1: Valor máximo según OMS, considerando una ingesta de 2 L de agua por día por adulto.

VG2: Protección de la vida acuática según SSRH

VG3: Protección de la vida acuática de largo plazo según CCME

Nd: no disponible

Las  $UT_P$  calculadas indican que el organismo más afectado es el invertebrado acuático, lo cual es esperable dado que es un organismo muy sensible a la presencia de tóxicos en su ambiente. *Daphnia magna* es capaz de acusar 0,005 mg de mercurio en el agua, y aún menores concentraciones de numerosos pesticidas y residuos industriales (Paggi & Paggi, s/f). Sólo para el VG1 para clorpirifos, se supera el valor de  $UT_P > 1$  para este organismo y para trucha arco iris.

El concepto de  $UT_P$  ha sido diseñado para evaluar mezclas de plaguicidas y se aplica como la suma de todos los estresores químicos presentes para un organismo o nivel trófico en un cuerpo de agua. Es por ello que para evaluar la toxicidad de cada compuesto para la vida acuática en su conjunto se han desarrollado índices como PRISW-1, el cual se obtiene calculando los TER y aplicando la fórmula de ponderación

descrita en apartado 3.4. En la Tabla 12 se muestran los resultados del índice de riesgo aplicado.

Tabla 12. Nivel de riesgo ecotoxicológico según índice PRISW-1 para clorpirifos y metil azinfos a concentraciones fijas.

Nivel fijo	Plaguicida	Puntuación			PRISW-1 (A*3) + (B*4) + (C*5,5)	
		Alga verde (A)	Daphnia magna (B)	Trucha arco iris (C)	Valor PRISW-1	Nivel de riesgo
	<b>Clorpirifos</b> µg/L					
LD	0,014	0	6	2	35	<b>Medio</b>
LC	0,050	1	6	2	38	<b>Medio</b>
VG1	30	4	8	8	88	<b>Muy alto</b>
VG2	0,006	1	4	1	24,5	<b>Medio</b>
VG3	0,002	0	4	1	21,5	<b>Medio</b>
	<b>Metil azinfos</b> µg/L					
LD	0,02	0	4	1	21,5	<b>Medio</b>
LC	0,06	0	4	2	27	<b>Medio</b>
VG1	Nd	---	---	---	---	---
VG2	0,02	0	4	1	21,5	<b>Medio</b>
VG3	Nd	---	---	---	---	---

Nd: no disponible

Como se observa en la Tabla 12, ninguno de los niveles fijados arroja un riesgo despreciable, lo cual indica que si se detectara clorpirifos o metil azinfos en aguas del río, aún en concentraciones iguales al límite de detección, las poblaciones de especies sensibles de algas, invertebrados acuáticos y peces quedarían expuestas a cambios perceptibles en su riqueza y abundancia.

El nivel que fija la OMS como valor de referencia (30 ppb) para aguas destinadas al consumo humano con tratamiento, considera que este valor representa el 10% de la IDA (ingesta diaria admisible) para un adulto de 60 kg que consume 2 L de agua. Sin embargo, un agua con 30 ppb de clorpirifos resultaría no apta para la protección de la vida acuática.

## 8. Discusiones

### 8.1. Plaguicidas

Los resultados de las campañas de muestreo muestran la presencia de clorpirifos en sedimentos en D20 (canal de drenaje) en el mes de octubre de 2015 en una concentración de 23 ppb y en sedimentos de C19 (canal de riego) a nivel de trazas en diciembre del mismo año. Ambos sitios pertenecen a la zona agrícola de Colonia Centenario. Por otra parte, los análisis de las muestras de agua y sedimentos del río y de las muestras de agua de los canales de drenaje y de riego de la zona agrícola de Colonia Centenario no detectaron residuos de plaguicidas, a pesar de que los muestreos se realizaron dentro del periodo de aplicación de los compuestos estudiados (octubre a marzo), a diferencia de lo comunicado por Boland et al. (2005) y Loewy et al. (2011). Esto puede atribuirse al reemplazo de los plaguicidas organofosforados por otros principios activos no investigados en este estudio, al mayor número de emprendimientos productivos que emplean el control integrado de plagas (con la consecuente disminución del uso de plaguicidas), al caudal del río que le confiere capacidad de dilución y a la disminución del área frutícola en esta zona. Por otra parte, se ha prohibido el uso de determinados plaguicidas lo que ha llevado a que los organofosforados, carbamatos y piretroides estén siendo reemplazados por otros ingredientes activos menos tóxicos para los mamíferos, más selectivos y de menor impacto ambiental, como pirinidifen (una pirimidinamina), pimetozina (una piridina azometina), análogos de nereistoxina (una toxina natural del gusano marino *Lubriconeris heteropodo*), fluacripirim (un metaxiacrilato), entre otros.

Cabe destacar como ventaja competitiva natural de la región norpatagónica, la baja cantidad de agroquímicos aplicada para mantener la sanidad vegetal, en comparación con otras regiones agrícolas del mundo, como por ejemplo el valle del río Ebro en España (Herrero-Hernández et al., 2013) y el delta del río Mekong en Vietnam (Van Toan et al., 2013). En estos países se ha detectado un gran número de compuestos fitosanitarios en muestras de agua superficial y sedimentos, en algunos casos en concentraciones por encima de los valores guía y con mayores frecuencias de detección que las halladas en este trabajo.

La detección de clorpirifos en muestras de sedimentos de canales de la zona agrícola de Colonia Centenario puede ser explicada por su estabilidad hidrolítica (a pH próximo al

neutro), fotólisis acuosa con una media de 30 días, baja volatilización y tendencia a acumularse en la fase orgánica. Las directrices del CCME para la protección de la vida acuática no fijan un valor para clorpirifos en sedimentos. No obstante ello, clorpirifos es un plaguicida de amplio espectro de acción, que si se moviliza a la fase acuosa puede entrar en contacto con los organismos acuáticos para los que es un compuesto altamente tóxico ( $CE_{50}$  *Daphnia magna* = 0,10  $\mu\text{g/L}$  y  $CL_{50}$  *Oncorhynchus mykiss* = 13  $\mu\text{g/L}$ ) y un potente neurotóxico para mamíferos.

El hallazgo de p,p'-DDE en muestras de sedimentos del río de la zona Confluencia puede explicarse a partir de la contaminación y degradación de su precursor, el DDT (diclorodifeniltricloroetano), un plaguicida organoclorado muy estable que se transforma casi completamente en p,p'-DDE y que fue aplicado en Argentina hasta el año 1990. El DDT pudo haber ingresado al ambiente acuático por deposición atmosférica, proveniente de las operaciones de pulverización de los cultivos de las chacras próximas. Dada su baja solubilidad en agua, coeficiente de partición octanol-agua alto ( $\log K_{OW} = 6,36$ ) y lipofilicidad, la masa de DDT y sus metabolitos que alcanzaron el cuerpo de agua se unieron preferentemente a los sedimentos. Debido su estabilidad química permanecieron allí adsorbidos, y fueron detectados en el muestreo de este trabajo. La presencia de DDE en sedimentos es una fuente de exposición indirecta para la biota y para el ser humano. La pequeña fracción disuelta (y toda aquella que se transfiera del lecho de sedimentos a la columna de agua) puede acumularse en los tejidos adiposos de pequeños organismos, peces y mamíferos, alcanzando niveles más altos que en el agua (bioconcentración) y ascender por la cadena trófica a los niveles superiores (biomagnificación). Algunas de estas especies son consumidas por el hombre por lo que existe una potencial exposición ambiental a estos compuestos. Los efectos biológicos adversos del DDT y sus metabolitos incluyen cambios en su comportamiento y disminución de la diversidad y abundancia de invertebrados bentónicos, afectando la calidad ambiental del río en los sitios donde se detectó p,p'-DDE. Los efectos directos de la exposición al DDT y su metabolito el p, p'-DDE en humanos y cuyos residuos fueran encontrados en el muestreo, incluyen enfermedades neurológicas, reproductivas, efectos deletéreos sobre el desarrollo, cáncer, diabetes y obesidad en niños, etc. En los últimos años, concentraciones compatibles con las encontradas en la naturaleza se han asociado con una mayor incidencia de obesidad, hígado graso, ovarios poliquísticos e infertilidad masculina. Por otra parte, estas sustancias organocloradas pueden producir una herencia epigenética transgeneracional capaz de generar enfermedades y variaciones fenotípicas.

El efecto involucra las líneas germinales que transmiten marcas epigenéticas, las cuales producen enfermedades en los individuos en ausencia de exposición directa a los tóxicos. Esto significa que la exposición ambiental de los ancestros puede influenciar el desarrollo de enfermedades en las sucesivas generaciones sin que medie exposición directa. La masa de DDE en sedimentos será degradada al cabo de años debido a que se encuentra prohibida la comercialización y la aplicación del DDT.

La evaluación de riesgo ecotoxicológico aguda simulada para clorpirifos y metil azinfos arrojó un nivel de riesgo no despreciable, lo cual indica que si se detectaran en alguna muestra de agua del río, aún en concentraciones iguales al límite de detección, las poblaciones de especies de algas, invertebrados acuáticos y peces sufrirían cambios perceptibles en su riqueza y abundancia. Aquí radica el valor de los índices de riesgo: las sustancias tóxicas pueden ser detectadas en concentraciones muy bajas, satisfaciendo normas y directrices de calidad ambiental y protección de la salud, pero la consideración conjunta de su concentración con la toxicidad hacia especies del ecosistema y la consideración simultánea de todos los compuestos hallados no necesariamente implican ausencia de riesgo. Por este motivo, el manejo de la cuenca del río debería considerar la información generada por los índices de riesgo y no solamente constatar el cumplimiento de los valores guía individuales. En países donde el número, frecuencia y dosis de plaguicidas de uso agrícola son mayores y los ríos son poco caudalosos, el impacto de los agroquímicos es marcado, y se observa un incremento en el uso de índices de toxicidad en los programas de gestión de calidad ambiental y estrategias de manejo de los recursos hídricos.

## 8.2. Hidrocarburos

Los hidrocarburos hallados en este estudio fueron compuestos alifáticos resueltos. Mediante la aplicación de los índices de referencia, se determinó que en todos los casos los hidrocarburos son de origen biológico reciente, particularmente de plantas terrestres, aún en las zonas próximas a la urbanización y a las áreas de extracción de petróleo y gas.

Tomando el valor guía de 10  $\mu\text{g/g}$  de ps de AHs en sedimentos establecido por UNEP (1992), los puntos R3 (Vista Alegre) y R4 (Villa Manzano) presentan contaminación por materia orgánica. Las cadenas hidrocarbonadas de mayor contribución a la fracción

alifática en ambos sitios son *n*-C27 y *n*-C29. Tanto R3 como R4 pertenecen a la zona agrícola-rural, por lo que es esperable encontrar mayores valores de concentración de hidrocarburos biogénicos terrígenos, aunque sería necesario estudiar si existe correlación entre la materia orgánica de estos sitios y el aumento de la concentración de hidrocarburos alifáticos. Además, se debería estudiar la influencia de los factores abióticos (principalmente fertilizantes a base de nitritos, nitratos y fosfatos, descargas de aguas residuales, etc.) ya que éstos determinan, en gran medida, los componentes bióticos del ecosistema. Por otra parte la menor velocidad de la corriente del río favorecería la abundancia de la vegetación acuática.

En los embalses Mari Menuco y Los Barreales sólo se detectaron cadenas impares de alta masa molecular de origen biogénico y en niveles muy bajos que no suponen contaminación ( $\Sigma$ AHs resueltos  $<0,25 \mu\text{g/g ps}$ ).

Los análisis de las muestras de agua y de sedimentos aguas arriba de los sitios de captación del río para consumo humano (R1 - toma EPAS Neuquén y R10 - toma Añelo) arrojan buenos resultados: en R10 no se detectaron los compuestos objeto de estudio y en R1 sólo AHs biogénicos por debajo del valor guía. La concentración detectada en este punto ( $2,28 \mu\text{g/g ps}$ ) puede ser tomada como valor de base para la zona de Confluencia.

El rango de concentraciones de AHs resueltos, los hidrocarburos mayoritarios, el ICP y el índice de Predominancia Par-Impar obtenidos en este trabajo son similares a los reportados por Monza et al. (2013). Sin embargo, en su estudio se encontró MCNR en los puntos de descarga de canales de la zona agrícola, en el rango de  $12,28-70,91 \mu\text{g/g ps}$ . En la zona de explotación de yacimientos petroleros, los AHs en sedimentos del río fueron identificados como de origen mixto (petrogénicos y biogénicos). Por otra parte, los AHs hallados en el embalse Los Barreales en el mismo estudio fueron clasificados como petrogénicos (BPM/APM  $>1$  y el HM fue *n*-C20), a diferencia de lo encontrado en el presente trabajo. Sin embargo, ambos estudios coinciden en que las concentraciones de AHs resueltos totales son muy bajas, lo cual indica que no ha ocurrido contaminación de este origen en el sector analizado. De hecho, no se observaron variaciones en las concentraciones totales de AHs entre los dos estudios.

En la zona urbana cercana a la confluencia con el río Limay, el origen de los AHs fue clasificado por Monza et al. (2013) como antropogénico, presentando una contribución significativa de MCNR ( $24,81- 81,37 \mu\text{g/g ps}$ ) y se encontraron naftaleno ( $40 \text{ ng/g ps}$ ) y pireno ( $50 \text{ ng/g ps}$ ). Por el contrario, en este trabajo de tesis no fueron detectados hidrocarburos poliaromáticos.

Los niveles de hidrocarburos detectados en los sedimentos del área de estudio en este trabajo pueden ser considerados como antecedentes para análisis comparativo de estudios futuros. Sería deseable incrementar los puntos de muestreo para aumentar la certeza de los niveles propuestos para cada sector de la baja cuenca del río Neuquén. En la siguiente figura se muestran los valores de base para cada zona.

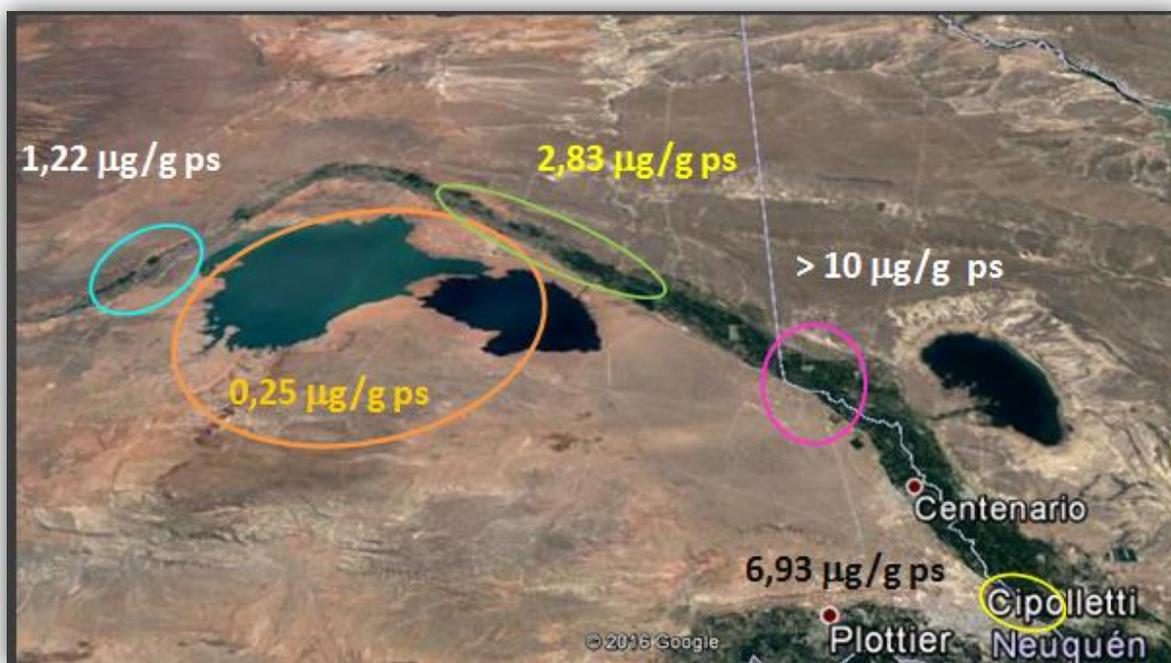


Imagen: Google Earth.

A modo de comparación con otras regiones de Argentina, un estudio sobre el origen y fuentes probables de hidrocarburos en sedimentos superficiales de la costa patagónica detectó PAHs en un rango entre ND-737,6  $\mu\text{g/g ps}$  y AHs entre ND-1.304,7  $\mu\text{g/g ps}$ , ambos asociados a aportes recientes de petróleo crudo (Commendatore et al., 2000), siendo el Golfo San Jorge (provincia de Chubut) la zona más afectada. En el río Chubut en cercanías al puerto, se detectaron AHs de origen antropogénico en sedimentos en una concentración de 460  $\mu\text{g/g ps}$ , asociado a actividades portuarias mientras que en los sitios de muestreo aguas arriba se hallaron AHs biogénicos en concentraciones entre 0,07 y 0,96  $\mu\text{g/g ps}$  (Commendatore & Esteves, 2004).

## 9. Conclusiones y recomendaciones

En base a lo expuesto en este trabajo, se puede concluir que la calidad química del agua del curso inferior del río Neuquén no se ha visto alterada por la presencia de plaguicidas e hidrocarburos en los sitios estudiados. El agua es apta para consumo humano con tratamiento convencional y es capaz de sostener la vida acuática y terrestre.

El escaso número de detecciones de plaguicidas puede atribuirse a la utilización de nuevos compuestos de menor persistencia en el ambiente y al efecto de dilución del caudal del río Neuquén atenuando, de esta forma, los efectos tóxicos sobre la biota.

La presencia de p,p'-DDE debe vincularse a su alta estabilidad química, ya que desde 1990 están prohibidas la comercialización y la aplicación de su precursor, el DDT. Esta disposición legal evita que aumenten los niveles de DDT y DDE en el ambiente, favoreciendo la degradación de la masa remanente al cabo de años, hasta alcanzar concentraciones inferiores al valor guía establecido en las directrices de calidad que protegen la vida acuática y la salud humana.

Los índices de evaluación de riesgo ecotoxicológico son una herramienta para la evaluación y manejo del recurso hídrico, ya que resumen mucha información a un valor numérico, el cual es asociado a una determinada escala o rango de valores de nivel de riesgo. La valoración del riesgo ecotoxicológico puede ser entendida como la confrontación entre la naturaleza tóxica de las sustancias para la biota con las concentraciones esperadas o medidas en las matrices ambientales. Se podría incorporar a los estudios locales de la cuenca del río un índice de riesgo ajustado a las condiciones de borde y para distintas familias de compuestos. Asimismo se recomienda realizar una revisión del desarrollo de los valores guía para la protección de la vida acuática respecto a plaguicidas e hidrocarburos.

Los métodos analíticos empleados en el monitoreo ambiental deben dar una respuesta rápida y confiable y ser capaces de llevar a cabo un análisis multi-residuo, para la detección temprana de la contaminación, en un escenario de múltiples contaminantes. En este sentido, la extracción de carbamatos y organofosforados de suelo y sedimentos asistida por ultrasonido en pequeñas columnas ha demostrado ser, desde los puntos de vista de calidad analítica y protección ambiental, un método válido para ser incorporado en los laboratorios de análisis ambiental, lo cual permite el procesamiento de un mayor número de muestras en simultáneo, en corto tiempo, con buena exactitud y precisión y límites aceptables de detección y cuantificación. Sería importante continuar el desarrollo

de métodos de extracción de contaminantes orgánicos más amigables con el ambiente como EAUMC, que consume sensiblemente menos solvente, energía y agua.

Finalmente, la presencia de plaguicidas e hidrocarburos antropogénicos en agua superficial depende de una multiplicidad de factores, como sus propiedades fisicoquímicas, prácticas agrícolas, condiciones ambientales, gestión de residuos y efluentes urbanos e industriales y características hidrológicas del curso receptor. Se debe mantener la vigilancia de la cuenca del río estableciendo campañas de muestreos, planificando el desarrollo territorial y verificando el cumplimiento de la normativa ambiental.

## 10. Bibliografía

- AIC - Autoridad Interjurisdiccional de las Cuenas de los ríos Limay, Neuquén y Negro. (2001). *Cuenca del Río Neuquén. Análisis del fenómeno precipitación - escorrentía*. Recuperado el 14 de marzo de 2016, de <http://www.aic.gob.ar/aic/publicaciones.aspx>
- Anastas, P. T. & Zimmerman, J. B. (2003). Through the 12 principles of Green Engineering. *Environmental Science and Technology. American Chemical Society*, 95-101.
- Albero Romano, M. B. (2009). *Determinación de residuos contaminantes orgánicos en miel y zumos*. Universidad Complutense de Madrid.
- Boland, H. P., Gil, M. I., Labollitta, H. A., Laurenzano, B., Novelli, M., Ramos, J., & Reyes, P. (2005). Monitoreo de agroquímicos en áreas bajo riego de los ríos Limay, Neuquén y Negro. In *XXI Congreso Nacional del Agua*.
- Calva, L. & Botello, A. (2005). Composición de hidrocarburos alifáticos en sedimentos de la laguna Sontecomapan, Veracruz, México. *Hidrobiológica*, 15(1), 97–107.
- CCME - Canadian Council of Ministers of the Environment. (2010) Guidelines for Canadian Drinking Water Quality. Recuperado el 8 de marzo de 2016, de <http://st-ts.ccme.ca/en/index.html>
- Casanova Rosero, R. F., Castellón-Castrillón, E. D. & Zambrano Ortiz, M. M. (2006). Evaluación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos superficiales de los esteros El Pajal y Cándamo de la Bahía de Tumaco. *Boletín Científico Centro Control Contaminación Del Pacífico*, (13), 85–96.
- Castillo Aguilar, B. & González Hernández, R. (1997). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Rev Cubana Farm* 30 (1).
- Castro Jiménez, J. (2002). Determinación, persistencia y distribución de insecticidas de uso agrícola en el medio ambiente. Universidad Autónoma de Madrid.
- Castro, J. & Tadeo, J. L. (2001). Multiresidue analysis of insecticides in soil by gas chromatography with electron – capture detection and confirmation by gas. *Journal of Chromatography A*, 918, 371–380.
- Chicon, L. & Fernández, D. (2011). Aspectos relevantes en el control de Carpocapsa en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Recuperado el 10 de julio de 2015, de [http://inta.gob.ar/documentos/aspectos-relevantes-en-el-control-de-carpocapsa-en-el-alto-valle-de-rio-negro-y-neuquen/at\\_multi\\_download/file/alternativas.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/aspectos-relevantes-en-el-control-de-carpocapsa-en-el-alto-valle-de-rio-negro-y-neuquen/at_multi_download/file/alternativas.pdf)
- Commendatore, M.G. & Esteves, J.L. (2004). Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Elsevier. Marine Pollution Bulletin* 48 (10), 910–918.
- Commendatore, M.G., Esteves, J.L. & Colombo J.C. (2000). Hydrocarbons in Coastal Sediments of Patagonia, Argentina: Levels and Probable Sources. *Elsevier. Marine Pollution Bulletin* 40 (11), 989–998.
- Companiononi-Damas, E. Y., Núñez-Clemente, A. C., Cora-Medina, M. O., Rosabal-Rodríguez, M., González-Bravo, L., Marbot-Ramada, R., Montes de Oca-Porto, R. & Díaz-Díaz, M. A. (2011). Anthropogenic hydrocarbons in sediments of the northeastern Havana seaboard. *Ciencias Marinas*, 37(2), 227–235.
- Dabrowski, J. M., Bollen, a., Bennett, E. R., & Schulz, R. (2005). Pesticide interception by emergent aquatic macrophytes: Potential to mitigate spray-drift input in agricultural streams. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 111, 340–348.
- De la Torre, A., Nuñez, M. J., & Carballo, M. (2004). Evaluación Medioambiental y

- Ecotoxicológica. Repercusión ambiental. Curso sobre Toxicología Ambiental y Seguridad Química. En *Sanidad Ambiental*. Murcia: Sanidad Ambiental. CISA.
- Dirección Provincial de Estadísticas y Censos provincia de Neuquén. Recuperado el 15 de marzo de 2015, de <http://www.estadisticaneuquen.gob.ar/>
- Dixon, D. R., Pruski, A. M., Dixon, L. R. J. & Jha, A. N. (2002). Marine invertebrate ecogenotoxicology : a methodological overview. *Mutagenesis*, 17(6), 495–507.
- Dufilho, A. C., Monza, L. B. & Loewy, R. M. Simulación de la influencia de prácticas agrícolas en la lixiviación de plaguicidas al acuífero libre del Río Neuquén - Patagonia. XI Congreso Latinoamericano de Hidrogeología. Trabajo completo con presentación oral, libro de resúmenes pág. 177. Cartagena de Indias, 19 al 24 de agosto de 2012.
- European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. (2013). *SANCO/12571/2013 - Safety of the food chain Chemicals, contaminants, pesticides Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed*.
- Finizio, A., Calliera, M. & Vighi, M. (2001). Rating Systems for Pesticide Risk Classification on Different Ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 262-274.
- FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2003). *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas*. Recuperado el 4 de marzo de 2016, de <http://www.fao.org/docrep/w1604s/w1604s04.htm#¿qué son los plaguicidas Roma>.
- Ferrari, A. (2011). Efectos adversos de los plaguicidas en organismos no blanco. En Montagna M. (editoras), *Clasificación y Toxicología de plaguicidas* (pp 267-308). Neuquén: Editorial Universidad Nacional del Comahue (EDUCO).
- FUNBAPA. (2007). *Evaluación Técnico Económica del Impacto de Carpocapsa en la Producción de Frutas de Pepita de la Norpatagonia Argentina*.
- Ganzelmeier, H. (1995). *Studies on the spray drift of plat protection products*. Berlín: Arno Brynda.
- García, A. V., Viciano, M. S., Prados E. G. & Sánchez, M. V. (1992). Adsorption of chlorpyrifos on Almeria soils. *Science Total Environment*. 124 (3), 541 – 549.
- García Martínez, M. J. (2005). *Los hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados a combustibles fósiles. Caracterización, análisis y remediación*. Recuperado el 20 de septiembre de 2015, de [http://oa.upm.es/400/1/MARIA\\_JESUS\\_GARCIA\\_MARTINEZ.pdf](http://oa.upm.es/400/1/MARIA_JESUS_GARCIA_MARTINEZ.pdf)
- García-Valcárcel, A. I., & Tadeo, J. L. (2009). A combination of ultrasonic assisted extraction with LC-MS/MS for the determination of organophosphorus pesticides in sludge. *Analytica Chimica Acta*, 641, 117–123.
- González Sepúlveda, E., Loyola Sepúlveda, R., Neira Hinojosa J., Neira González, F. (2013). Contenido, distribución y origen de Hidrocarburos en sedimentos de tes lagunas urbanas de Concepción - Chile. *Quim. Nova*, 36(5), 669–674.
- Guerrero-Bosagna C. & Skinner M.K. (2012). Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of phenotype and disease. *Mol Cell Endocrinol*. 354(1–2), 3–8.
- Guo, J., Wu, F., Luo, X., Liang, Z., Liao, H., Zhang, R., Mai, B. (2010). Anthropogenic input of polycyclic aromatic hydrocarbons into five lakes in Western China. *Environmental Pollution*, 158(6), 2175–2180.
- Harris, K. A., Yunker, M. B., Danger, N., & Ross, P. S. (2011). Sediment-associated aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal British Columbia, Canada: Concentrations, composition, and associated risks to protected sea otters. *Environmental Pollution*, 1 – 10.

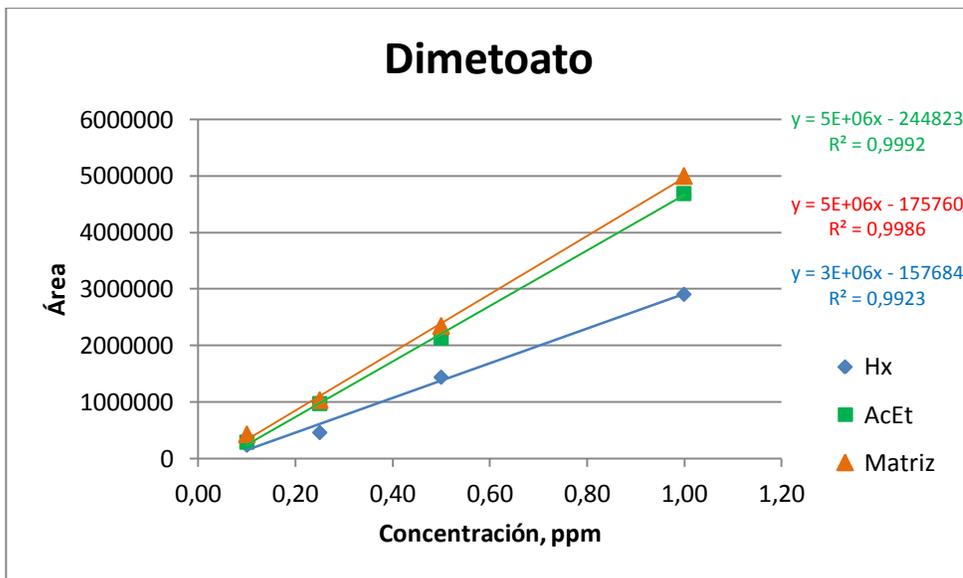
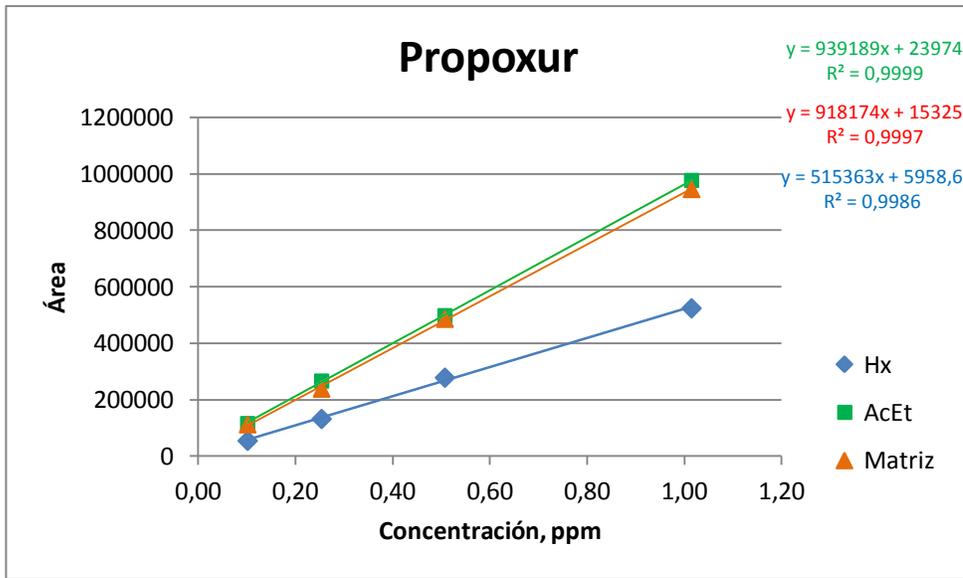
- Herrero-Hernández, E., Andrades, M. S., Álvarez-Martín, A., Pose-Juan, E., & Rodríguez-Cruz, M. S. (2013). Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *Elsevier*, 486, 234–245.
- Humberto Campos, O., Garmendia, M., Ocando, L. (2005). Distribución de hidrocarburos alifáticos en aguas costeras superficiales de Cumaná, Estado de Sucre, Venezuela. *IDESIA (Chile)*, 23(2), 23–32.
- IAE - Instituto Argentino de Energía. (2012). *Informe: evolución de las reservas de hidrocarburos en Argentina entre 2002 y 2011*. Recuperado el 5 de marzo de 2016 de [http://www.iae.org.ar/especiales/informe\\_reservas\\_2011.pdf](http://www.iae.org.ar/especiales/informe_reservas_2011.pdf)
- IARC - International Agency for Research on Cancer. (1987). Fecha de consulta: 5 de marzo de 2016, de <https://www.iarc.fr/>
- INDEC - Instituto de Estadísticas y Censo. (2014). Censo Nacional de Poblacional, Hogares y Viviendas 2010. Recuperado el 10 de junio de 2015, de [http://www.censo2010.indec.gov.ar/CuadrosDefinitivos/P1-P\\_Neuquen.pdf](http://www.censo2010.indec.gov.ar/CuadrosDefinitivos/P1-P_Neuquen.pdf)
- INTA - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. (2014). Nuevos ingredientes activos y métodos de monitoreo para los desafíos 2014/15.
- Köck-Schulmeyer, M., Ginebreda, A., González, S., Cortina, J. L., de Alda, M. L., & Damia, B. (2012). Analysis of the occurrence and risk assessment of polar pesticides in the Llobregat River Basin (NE Spain). *Elsevier Chemosphere*, 86, 8–16.
- Loewy, R. M. (2011). Dinámica ambiental de plaguicidas. En Montagna, C. M. & Anguiano, O. L. (editoras) *Clasificación y Toxicología de plaguicidas* (pp. 237 -265) 340). Neuquén: Editorial Universidad Nacional del Comahue (EDUCO).
- Loewy R. M., Monza L. B., Kirs V. E., S. M. C. (2011). Argentina Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, (August), 662–670.
- Macchi, P., Monza, L. B., Lares, B. A. & Loewy, R. M. (2016). Aplicación de macroinvertebrados como bioindicadores de la degradación de la calidad del agua en cuencas agrícolas. 3er. Congreso Latinoamericano de macroinvertebrados de agua dulce. 11-18 de marzo de 2016. Santa Marta, Colombia.
- MADEP - Massachusetts Department of Environmental Protection. (2004). Method for the determination of extractable petroleum hydrocarbons (EPH). Revision 1.1. Recuperado el 20 de septiembre de 2014, de <http://www.mass.gov/eea/docs/dep/cleanup/laws/eph0504.pdf>
- Magnarelli, G., Rovedatti, M. G., Pechén de D'Angelo, A. M. (2011). Plaguicidas y salud humana. En Montagna, C. M. & Anguiano, O. L. (editoras). *Clasificación y Toxicología de plaguicidas* (pp. 309 - 340). Neuquén: Editorial Universidad Nacional del Comahue (EDUCO).
- Miller, N. J. & Miller, J. C. (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. Cuarta edición, Madrid: Editorial Pearson Educación S. A.
- Montagna, C. M. (2011). Principios básicos de toxicología. En Montagna, C. M, & Anguiano, O. L. (editoras). *Clasificación y Toxicología de plaguicidas* (pp. 15-60). Neuquén: Editorial Universidad Nacional del Comahue (EDUCO).
- Monza, L. B., Loewy, R. M., Savini, M. C., & Pechen de d'Angelo, A. M. (2013). Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments from the Neuquen River, Argentine Patagonia. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/hazardous Substances & Environmental Engineering*, 48(4), 370–9.
- Nilsson E. & Skinner M. (2015). Environmentally Induced Epigenetic Transgenerational Inheritance of Reproductive Disease. *Biol Rep.* 93 (145) 1-8.

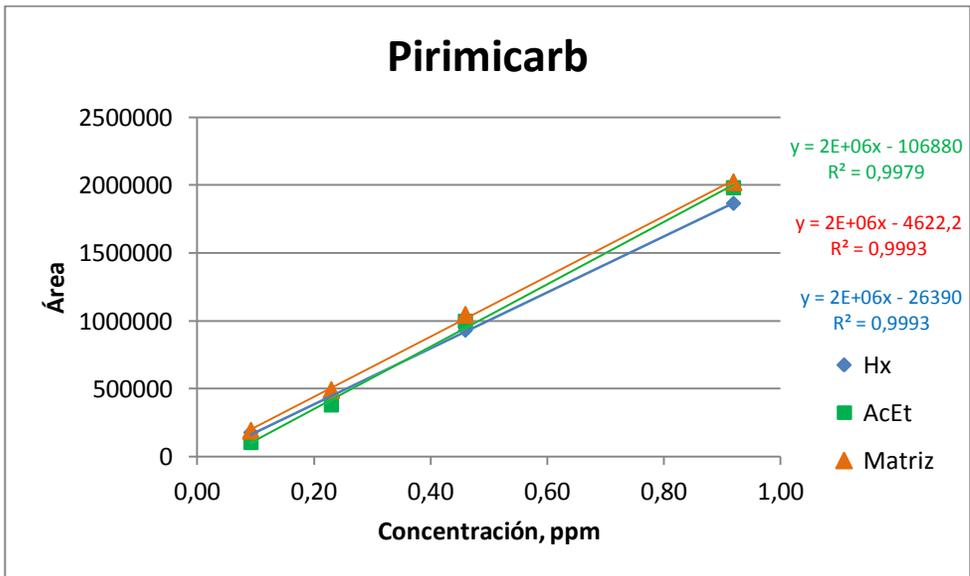
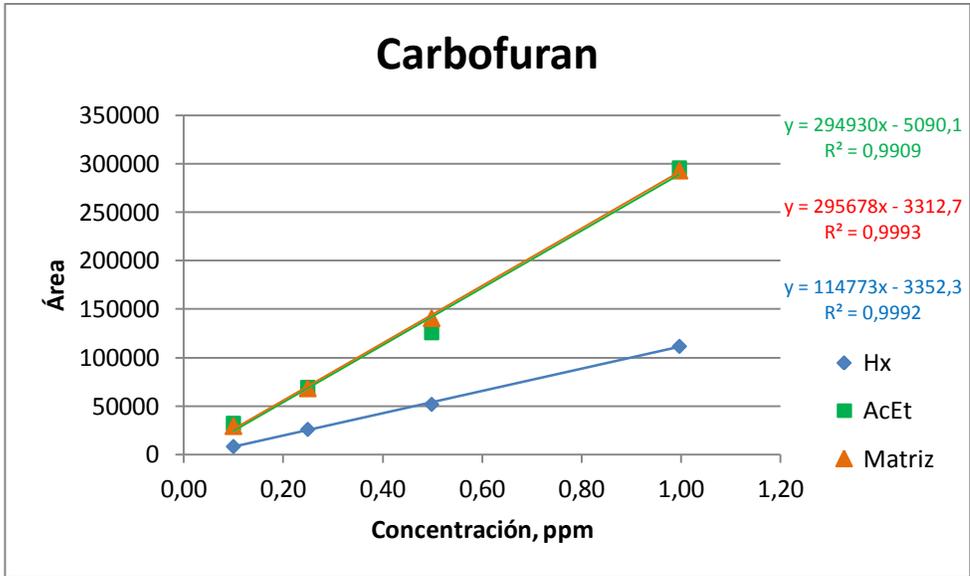
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2004). *Guidelines for Drinking-water Quality. Recommendations*. Vol 1: 3<sup>rd</sup> ed. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Ortiz-Salinas, R., Cram, S., Sommer, I. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils of the low alluvial plain in the state of Tabasco, Mexico. *Universidad Y Ciencia*, 28(2), 131–144.
- Paggi, J.C. & Paggi, S. J. (s/f). Daphnia magna: el canario de las aguas. Recuperado el 29 de agosto de 2016, de <http://www.santafe-conicet.gov.ar/servicios/comunica/canario.htm>
- PPDB - Pesticide Properties DataBase. Recuperado el 20 de marzo de 2016, de <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/search.htm?keywords=clorpirifos&go=SEARCH>
- Pinheiro, N., Barreira, L., Lopez, B., Bebiana, M. J. (2013). Assessment of oil contamination in the bay of POrto Grande (Cape Verde) using the mullet *Chelon bispinosus*. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 7(7), 657–670.
- Radonich, M., Ciarallo, A., Vecchia, T., Grosso, J., Cardelli, S., Kopprio, S., & Osorio, R. (2008). Migración, trabajadores rurales y construcción social del territorio en el Alto Valle de Río Negro. *Boletín Geográfico*, 31, 301–318.
- Sánchez-Brunete, C., Miguel, E. & Tadeo, J. L. (2002). Multiresidue analysis of fungicides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 976, 319–327.
- Sánchez-Brunete, C., Pérez, R. A., Miguel, E. & Tadeo, J. L. (1998). Multiresidue herbicide analysis in soil samples by means of extraction in small columns and gas chromatography with nitrogen-phosphorus and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 823, 17–24.
- Sánchez-Palencia, Y., Ortiz, J. E. & Torres, T. De. (2015). Origen y distribución de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en sedimentos actuales de la Laguna de El Hito (España central). *Sociedad Geológica España*. 57, 127–130.
- Secretaría de Política Económica y Planificación del Desarrollo. (2014). *Complejo fruta de pepita. Serie "Complejos Productivos"*
- SENASA. (2014). *Anuario Estadístico 2013. Centro Regional Patagonia Norte*.
- Skinner M.K., Manikkam M., & Guerrero-Bosagna C. (2010). Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends Endocrinol. Metab.* 21, 214–222.
- Sociedad Internacional para la Restauración Ecológica. Principios de SER International. (2004). Recuperado el 27 de agosto de 2016, de <http://www.ser.org/docs/default-document-library/spanish.pdf>
- Soto Chinchilla, J. J. (2007). *Nuevas aportaciones al análisis de residuos de plaguicidas y antibióticos en aguas y alimentos*. Universidad de Granada.
- Subsecretaría de Energía, Minería e Hidrocarburos. Gobierno de la Provincia del Neuquén. (2016). Recuperado el 18 de abril de 2016, de <http://www.energianequen.gov.ar/cms/files/contenido/89/pozos%20prod%20no%20conven.png>.
- SSRH - Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. (s.f.). Anexo: *Criterios utilizados para la definición de los valores asociados a cada zona de uso*. Recuperado el 15 de abril de 2016, de <http://www.acumar.gov.ar/ACUsentencias/CausaMendoza/2009abril/060409e/Anexollusos060409.pdf>
- Tadeo, J. L., Sánchez-Brunete, C., Albero, B. & García-Valcárcel, A. I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2415–2440.

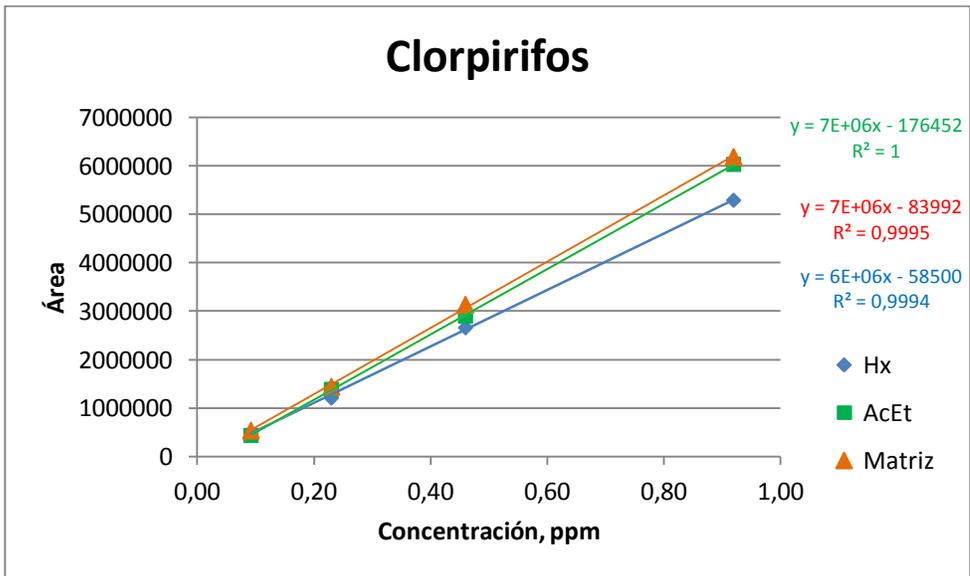
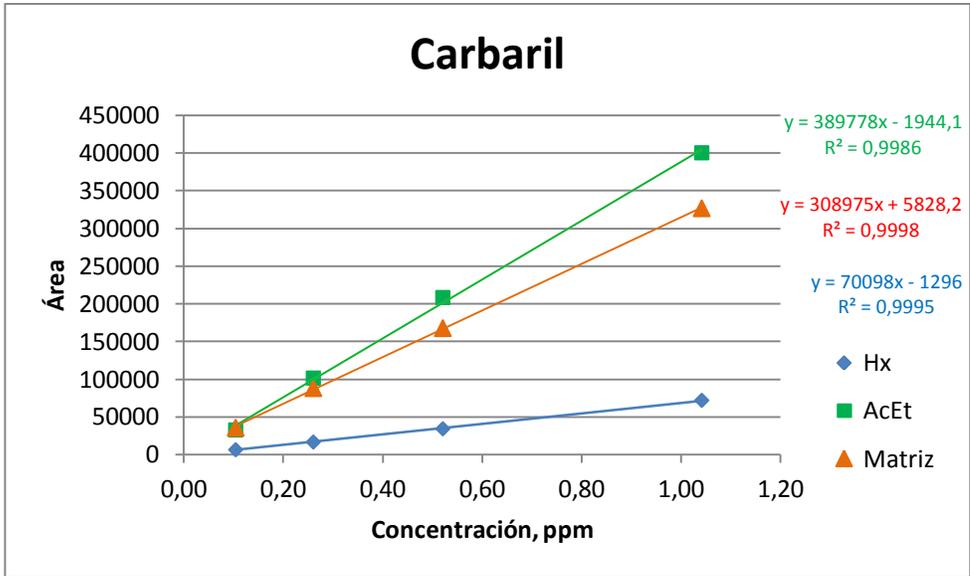
- Tosi, A., Pechen de D'Angelo A. M., Savini, M. & Loewy, R. M. (2009). Evaluación de riesgo por plaguicidas sobre aguas superficiales de la región norpatagónica argentina. *Acta Toxicol. Argent.*, 17(1), 1–6.
- UNEP - *United Nations of Environmental Protection* (1992). Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. *References Methods For Marine Pollution Studies* N° 72.
- Van Toan, P., Sebesvari, Z., Blasing, M., Rosendahl, I. & Renaud, F. G. (2013). Pesticide management and their residues in sediments and surface and drinking water in the Mekong Delta, Vietnam. *Science of the Total Environment*, 452-453.
- Villarreal, P., Mattei, S., Villegas Nigra, M., & Forchetti, G. (2010). Evaluación del impacto del Programa Nacional de Supresión de Carpocapsa en la fruticultura de pepita de los valles irrigados de la Norpatagonia. Recuperado el 4 de marzo de 2016, de <http://www.funbapa.org.ar/wp-content/uploads/2013/06/impacto-carpocapsa.pdf>
- Vinagre, J. (1995). Calidad de métodos analíticos. Taller sobre Producción y Manejo de Datos de Composición Química de Alimentos en Nutrición. Santiago de Chile, 9 al 27 de octubre de 1995.
- Viñas, L., Angeles Franco, M., Antonio Soriano, J., José González, J., Pon, J. & Albaigés, J. (2010). Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Spanish northern continental shelf. Assessment of spatial and temporal trends. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 158(5), 1551–60.
- Wade, L. G. (2004). *Química Organica*. (Pearson Educación S.A., Ed.) (5th ed.). Barcelona.
- Watts, M. (2012). Clorpirifos: Un posible COP a nivel global. Recuperado el 17 de mayo de 2016, de [http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Clorpirifos\\_Rev\\_.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Clorpirifos_Rev_.pdf)
- Zambrano, M., Robinson Casanova, F., Prada, J., Arencibia, G., Vidal, A. & Capetillo, N. (2012). Bioacumulación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) (Arcoidea: Arcidae). *Guayana*, 76(1), 1–9.

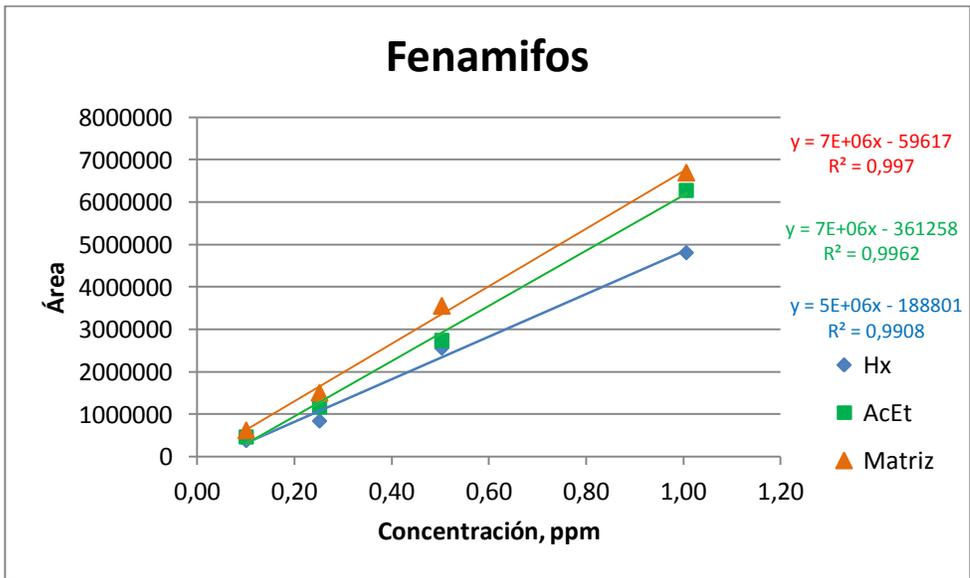
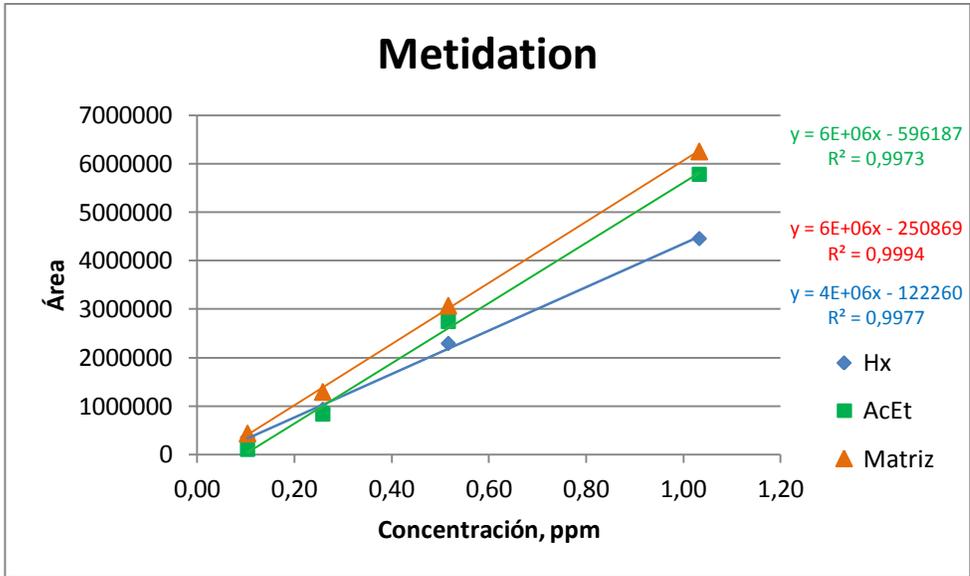
# 11. Anexos

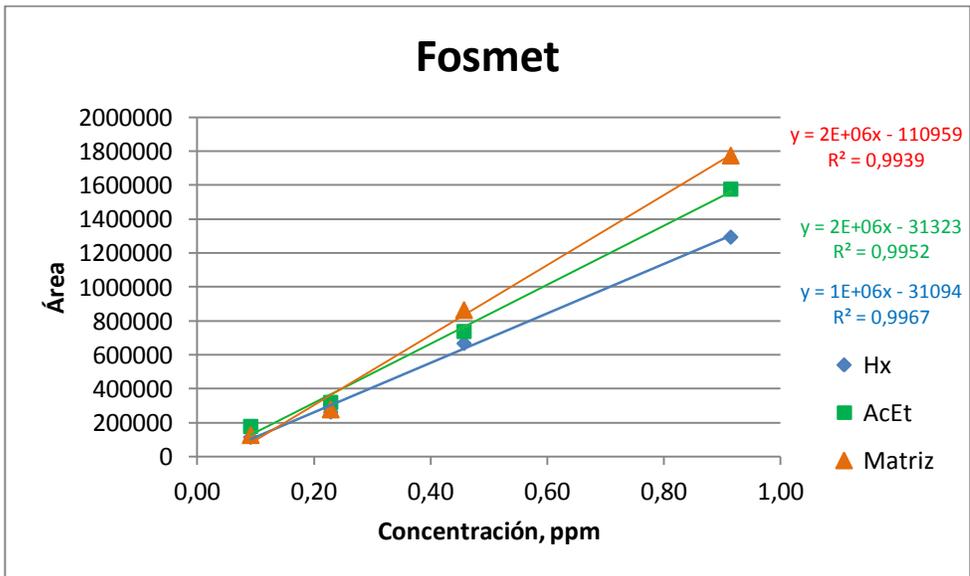
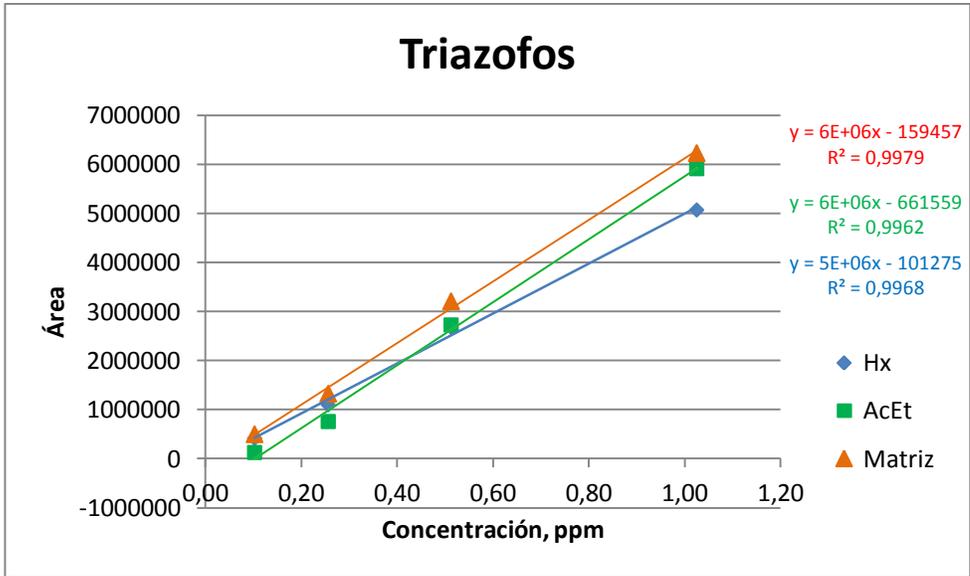
## 11.1. Curvas de estándares para calibración de la validación de EAUMC.

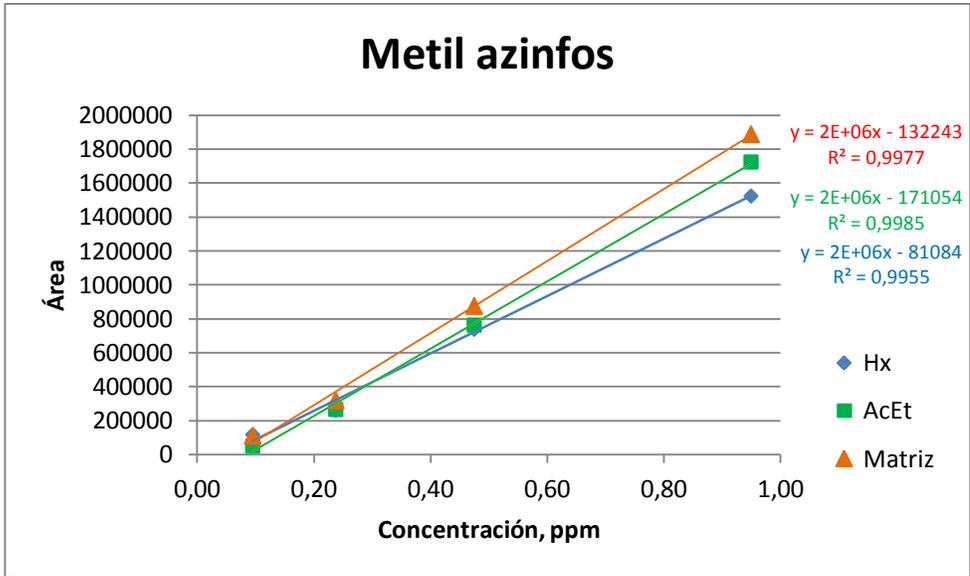












## 11.2. Determinaciones fisicoquímicas del agua

Sitio	pH agua	OD (mg/L)	Temperatura (°C)	Conductividad (μS/cm)
<b>Primera campaña – Noviembre 2014</b>				
R11	8,23	6,21	16,4	122,07
R3	8,74	9,25	25,2	251
R4	9,09	11,09	20,9	250
R6	8,9	10,83	23,2	282,83
R8	8,43	9,58	20,4	170,88
R9	8,68	8,47	20,2	136
R18	8,61	6,20	16,4	-
<b>Segunda campaña – Octubre 2015</b>				
R3	7,68	13,6	12,4	292
C19	7,90	9,7	13,5	294
D20	6,90	10,1	14,5	963
D21	7,03	10,9	15,8	277
R2	7,67	11,8	15,9	290
<b>Tercera campaña – Diciembre 2015</b>				
R3	7,84	9,2	20,4	239
C19	8,05	10,3	22,0	244
D23	7,72	11	18,6	271
D21	7,40	10	20,0	253
D22	7,61	10,6	20,5	253
R2	7,32	9,3	21,0	276
<b>Cuarta campaña – Marzo 2016</b>				
R1	7,04	-	21,0	310
R24	7,13	-	21,2	340
R25	8,13	-	21,2	320
R26	8,30	-	22,7	320