

**Trabajo de Fin de Máster
Halloysita para liberación controlada de fungicidas
iónicos y moleculares en árboles frutales**



Universidad de Valladolid

Alumna: Iosody Silva Castro

Tutor: Jesús Martín Gil

... a tutti i miei amici



Halloysita para liberación controlada de fungicidas iónicos y moleculares en árboles frutales

Resumen

En el presente estudio se evalúa la capacidad de la halloysita, una arcilla natural, para retener y liberar dos diferentes fungicidas, oxicloruro de cobre y dithianón. La halloysita se caracteriza por su alta capacidad de adsorción-desorción de sustancias químicas orgánicas e inorgánicas. En este estudio se utiliza para prolongar el efecto de los tratamientos fungicidas en árboles frutales de kiwi y manzana golden en un campo de cultivo del Piamonte (Norte de Italia) en diferentes estaciones del año. El seguimiento se lleva a cabo por análisis de AAS, UV-vis, SEM, EDS y ATR-FTIR. Se encuentra una relación directa entre la disponibilidad de los fungicidas y las condiciones climáticas, la precipitación particularmente, consiguiendo una liberación más lenta de los fungicidas en los tratamientos en los cuales se adiciona halloysita frente a los tratamientos con los fungicidas originales. Se comprueba mediante análisis de adsorción, que la halloysita posee las características ideales para adsorber a los fungicidas iónicos y moleculares probados.

Palabras clave: fungicidas, adsorción, desorción, efecto residual, aplicaciones en campo

Abstract

This work assesses the ability of the halloysite, a natural clay, to hold and release two different fungicides, a metal ion and an organic molecule (Copper oxychloride and dithianon). The halloysite is characterized by its high capacity of adsorption-desorption of organic and inorganic chemicals. This study is used to prolong the effect of fungicide treatment kiwi fruit trees and golden apple on a farm field in Piedmont (Northern Italy) in different seasons. The monitoring is carried out by analysis AAS, UV-vis, SEM, EDS and ATR-FTIR. Is a direct relationship between the availability of the fungicides and weather conditions, particularly rain, obtaining a slower release of fungicides which treatments halloysite was added to treatments with original fungicides. Is tested by adsorption analyzes, that halloysite has the ideal characteristics for adsorbing the ionic and molecular fungicides tested.

Keywords: fungicides, adsorption, desorption, residual effect, field applications

1. Introducción

El uso masivo de sustancias químicas como pesticidas en diversos cultivos agrícolas provoca severos problemas medioambientales, entre ellos la contaminación de suelos y de mantos acuíferos, así como serios problemas toxicológicos en plantas, animales y humanos [1], [2] y [3].

Actualmente, se emplean productos químicos, incorporados en la fórmula comercial, o adicionados *in situ* a los pesticidas, capaces de modificar sus propiedades físicas y químicas para aumentar su eficacia y efecto residual, es decir, para mantenerlo por un mayor periodo de tiempo disponible en los árboles. Los aditivos más comunes son sustancias emulgentes, adherentes, fluidificantes y estabilizantes [4]. Sin embargo son compuestos químicos antropogénicos que implican impactos ambientales y mayores costes económicos en la producción agrícola.



La halloysita es una arcilla natural de la familia química de los aluminosilicatos, la fórmula empírica es $\text{Al}_4(\text{OH})_8/\text{Si}_4\text{O}_{10} \times 10\text{H}_2\text{O}$ [5]; representa uno de los más importantes subgrupos del caolín, minerales interlaminares con capacidad y potencial de adsorción de iones metálicos y compuestos orgánicos [6]. Sin embargo, la halloysita es diferenciada de los demás grupos por contener moléculas de agua entre sus capas (fig. 1a) [7] y por su morfología tubular a nivel nanométrico [8], esta estructura brinda una alta capacidad de adsorción al interior de los nanotubos, por la presencia de grupos hidroxilo dentro de las capas tetraédricas del Si y octaédricas del Al [5]; así como de liberación gradual, puesto que en la superficie tiene carga eléctrica negativa y forma enlaces débiles por intercambio iónico [9]. La halloysita ha sido estudiada desde hace varias décadas en investigaciones sobre adsorción de amonio [10], ácido fenólico [11] y recientemente por sus aplicaciones nanotecnológicas sobre liberación controlada de fármacos [12] y adsorción-desorción de insecticidas [13].

En el presente estudio se analiza la aplicación en campo de la halloysita, como optimizador de tratamientos con dos diferentes fungicidas comerciales, uno molecular y otro iónico. El primero es el dithianón, una molécula orgánica de la familia química de las quinonas, su fórmula es $\text{C}_{14}\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ (fig. 1b) [14]. El segundo se trata de oxicloruro de cobre, compuesto químico de fórmula $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ (fig. 1c), también llamado clochloruro tribásico de cobre (TBCC). Por otra parte, se analiza la capacidad de adsorción de estos fungicidas por la halloysita para su posterior liberación.

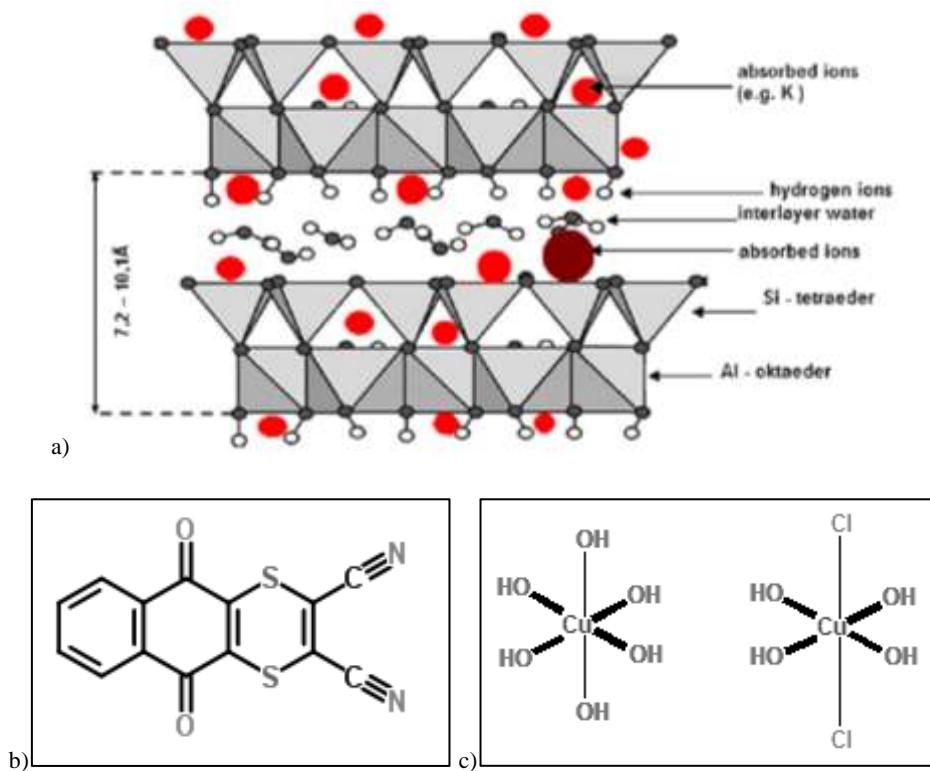


Figura 1. Estructura química de la halloysita y los fungicidas empleados para el estudio: a) Capas tetraédricas de Si y octaédricas de Al con moléculas de aguas intermedias en la halloysita. Adsorción de iones, superficial e interna, b) molécula de dithianón, c) molécula de oxicloruro de cobre en su forma coordinada cuando está unido a atacamita (mineral formador).



2. Materiales y métodos

Tratamientos y muestreos

La experimentación se lleva a cabo a través de 4 tratamientos: A) dos tratamientos con 100 g/hL de Cupravit® (Bayer®), oxicloruro de cobre al 50% (p/p), colocados uno en hojas y otro en ramas de árboles de kiwi, durante otoño-invierno de 2012-2013, y B) dos tratamientos con 75 g/hL de Delan® WG (BASF®), dithianón al 70% (p/p), colocados sólo en hojas de árboles de manzana golden, durante primavera de 2013. La halloysita en polvo PJF (Intermark®) de alta superficie específica, aprox. 70-85 m²/g, extraída de la mina *Dinuno*, localizada en Polonia [5] se mezcla, en proporción 1:1, a una suspensión del fungicida, preparada previamente en las concentraciones señaladas, se mantiene en constante agitación en el tanque de un tractor Eurotech®, durante 15 min y a lo largo de la pulverización de las sustancias sobre los árboles.

Las parcelas de tratamiento observadas en la fig. 2a, se localizan en Barge, provincia de Cuneo (Italia). La primera está compuesta de 5 filas de árboles de manzana golden y la segunda de 7 filas de árboles de kiwi, cada una cuenta con 60 árboles por fila aproximadamente, obteniendo un total de alrededor de 720 árboles tratados. Para el estudio las parcelas se dividen en dos secciones: (i) Este, aplicación de la mezcla (halloysita y fungicida) y (ii) Oeste, aplicación convencional del fungicida, fig. 2b.

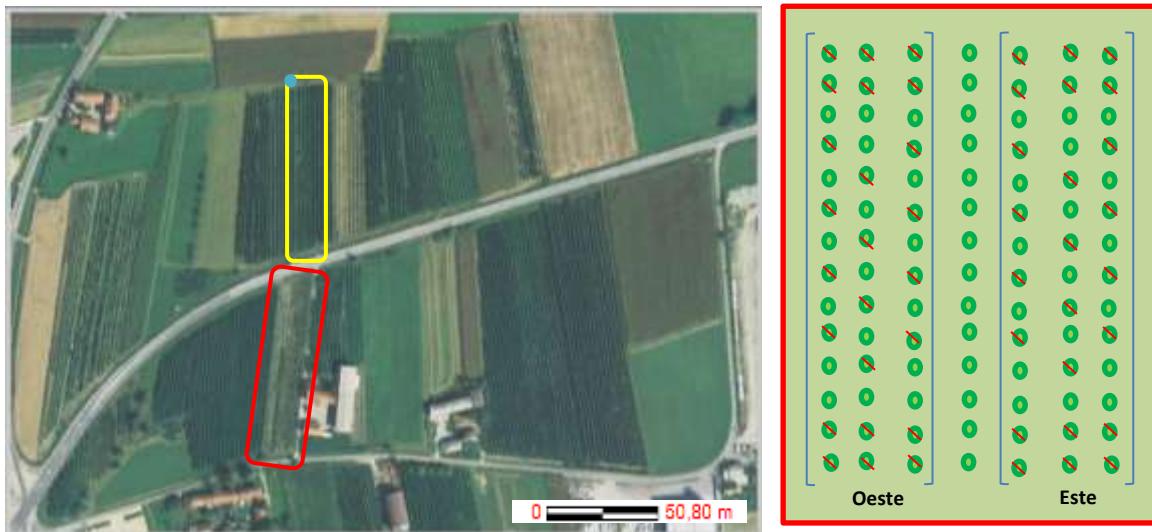


Figura 2. a) Ortofoto del campo de cultivo, Barge, Italia, fuente: <http://www.pcn.minambiente.it/viewer/>.

En amarillo: manzana golden, rojo: kiwi, azul: estación meteorológica, b) Diagrama de tratamientos y muestreos

Por otra parte, la estación meteorológica *Barge*, ubicada en las coordenadas UTM32 ETRS89 370474E y 4955254N [15], (junto a la zona de estudio, fig. 2a), proporciona información de temperatura media (°C), humedad media (%), precipitación (mm) e interceptación (h, tiempo de retención de agua sobre las hojas) a lo largo de la experimentación en campo. Los datos anteriores se requieren para analizar el comportamiento de los fungicidas en los árboles frutales respecto a las condiciones climáticas, estos datos son expuestos en las tablas 1 y 2, así como las fechas de los tratamientos, muestreos y la nomenclatura de cada muestra. La toma de muestras se efectúa periódicamente, de forma aleatoria en uno de cada dos árboles (de acuerdo al diagrama de la fig. 2b). Las muestras se analizan por triplicado en el Laboratorio de Edafología de la ETSIA de la Universidad de Valladolid, campus Palencia, España.



Análisis UV-vis, AAS, SEM y EDS.

La presencia de los fungicidas sobre los árboles se cuantifica de acuerdo a los siguientes procedimientos:

1. Análisis de dithianón (fig. 3): se realizan extractos de 1 g de hoja en 20 ml de dioxano (BASF®), durante 24 horas, medidos por espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis) en un equipo Hitachi® U 2001 a 283 y 350 nm [16], con la apropiada curva de calibración de dithianón (Delan® WG) en dioxano.
2. Análisis de cobre (fig. 4): se analiza por espectrometría de adsorción atómica (AAS), en un equipo Varian® mod. AA240, previa preparación de la muestra por secado en estufa a 60 °C y posterior digestión ácida con 3 mL HF al 40% (Panreac®), 4mL HNO₃ al 65% (Scharlau®) y 1 mL H₂O₂ al 33% (Panreac®) en un microondas Milestone® mod. Ethos-one, [17].

La microscopía electrónica de barrido (SEM) se realiza sobre hojas tratadas con el fungicida más halloysita un equipo Zeiss® mod. EVO HD25. El microanálisis de dispersión de energía (EDS) se efectúa sobre las partículas depositadas en las hojas con un equipo ESEM FEI® mod. Quanta 200F.

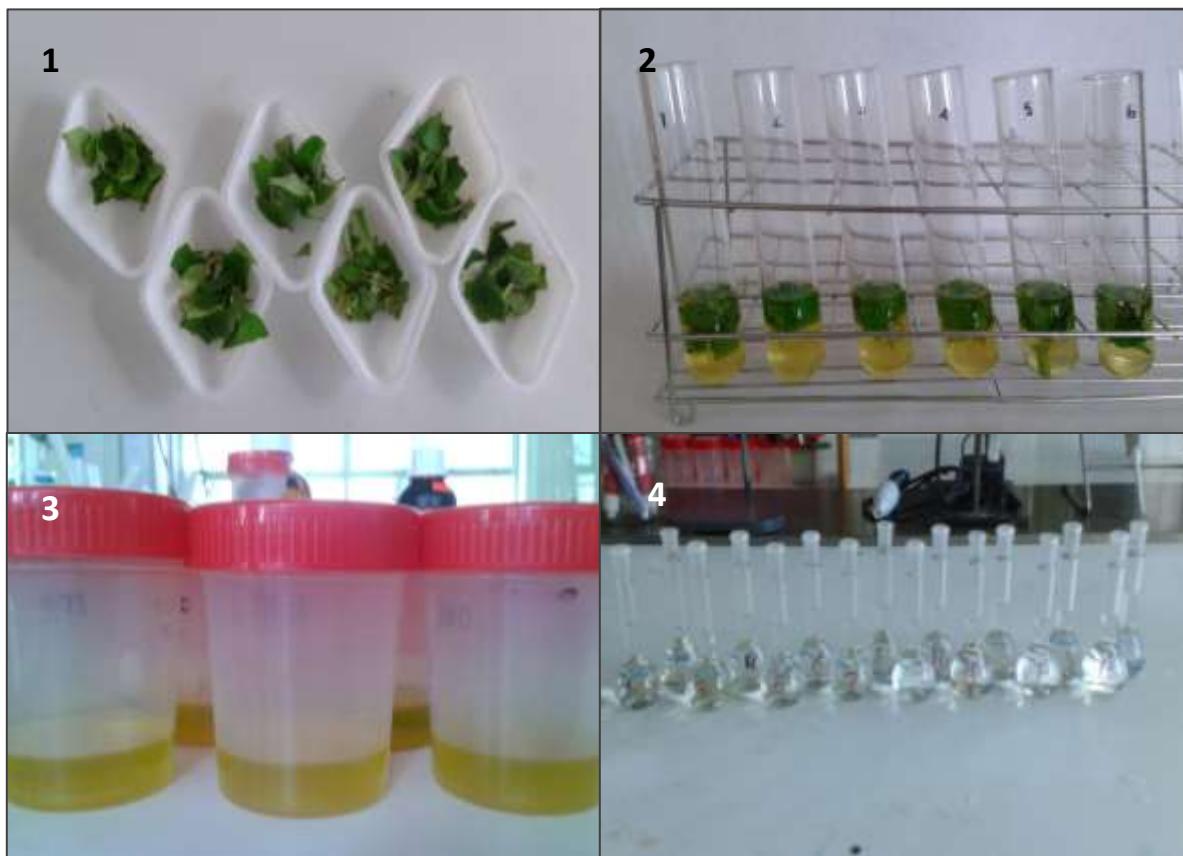


Figura 3. Diagrama de análisis de dithianón: 1. Peso de 1 g de hoja, 2. Extracción en 20 mL de dioxano por 24 h., 3. Decantación del extracto líquido, 4. Dilución para lecturas en eq. UV-vis.



Figura 4. Diagrama de análisis de Cu (II): 1. Corte de corteza (ramas de kiwi), 2. Secado (hojas y ramas), 3. Molienda, 4. Muestra en polvo, 5. Peso y adición de ácidos, 6. Digestión en microondas, 7. Filtración y aforo, 8. Preparación para lectura en eq. AAS.



Curvas de Adsorción y ATR-FTIR

La adsorción de cada fungicida por halloysita (fig. 5 y 6), se determina con la solución de 0,2 g de oxicloruro de cobre o dithianón en 100 mL de agua desionizada, en proporción 1:0.5, 1:1 y 1:2, de fungicida-halloysita, en un tiempo de contacto de hasta 120 min con agitación constante, se toman alícuotas de 5 mL a diferentes intervalos de tiempo (5, 30, 60 y 120 min), se filtra y se analiza por UV-Vis y AAS. Los análisis de halloysita y fungicida adsorbido se llevan a cabo por espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier, con sistema de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) en un equipo Thermo Nicolet 380 FT-IR®.

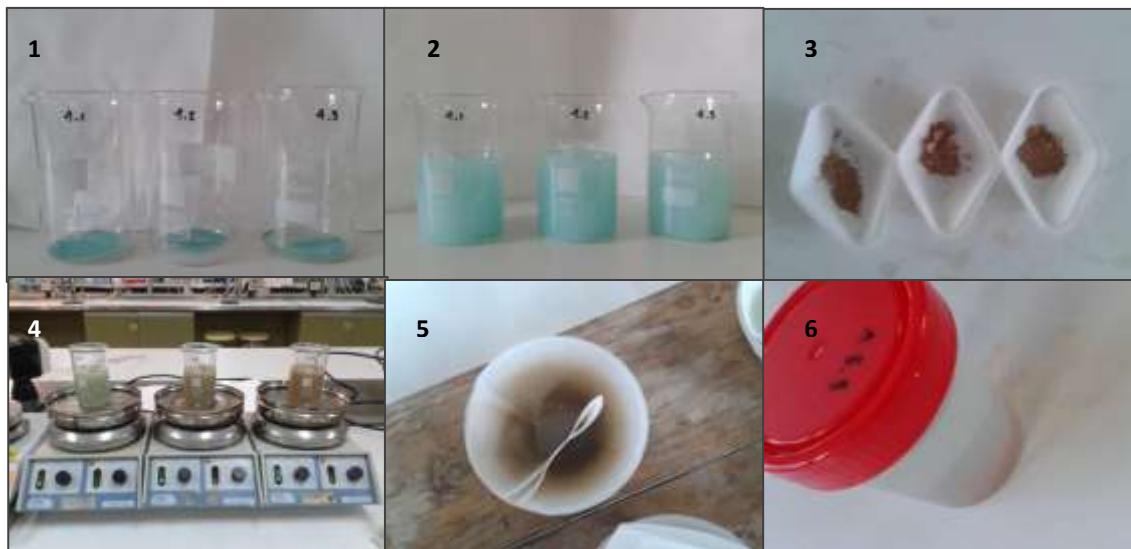


Figura 5. Diagrama de adsorción de Cu (II): 1. Peso 0.2 g $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$, 2. Dilución 100 mL de H_2O , 3. Peso 0.1, 0.2 y 0.4 g de halloysita, 4. Mezcla y agitación, 5. Filtración, 6. Muestra para lectura en eq. AAS.

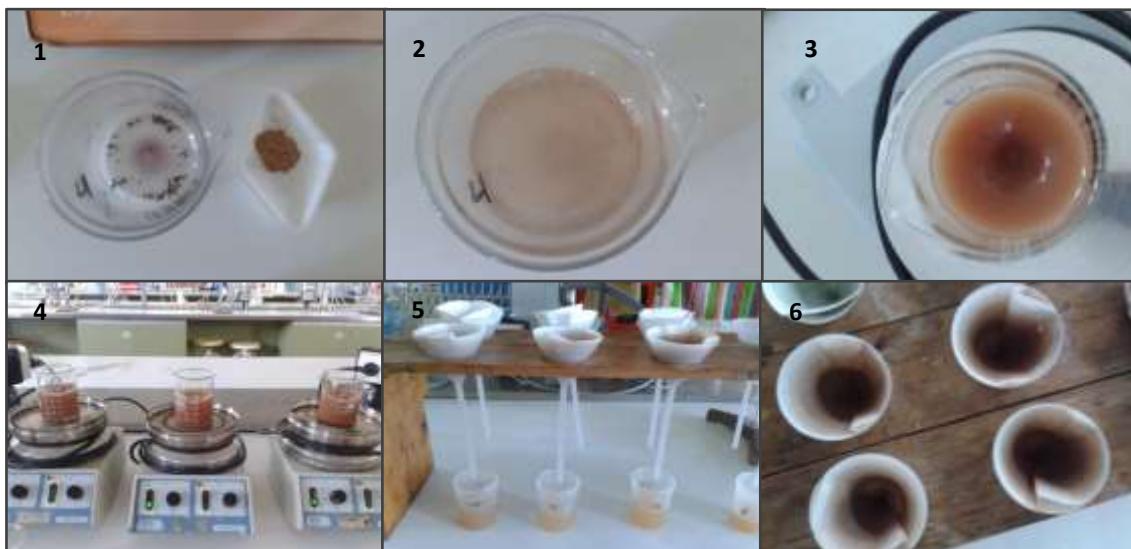


Figura 6. Diagrama de adsorción de dithianón: 1. Peso 0.2 g $\text{C}_{14}\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$, y halloysita 2. Adición 100 mL de H_2O , 3. Dilución, 4. Mezcla halloysita y agitación, 5. Filtración, 6. Secado de filtros.



3. Resultados y discusión

Contenido de cobre

De acuerdo a la fig. 7 y la tabla 1, se registra una mayor disponibilidad de Cu (II) en el primer tratamiento (KHA1-1) cuando se adiciona halloysita, con 212 mg/Kg frente a 146 mg/ Kg del fungicida empleado convencionalmente, una semana después de la aplicación del tratamiento. Un mes después, tras un incremento en la precipitación total, 131 mm, y mayor retención de agua sobre las hojas, 374 horas (02-dic), la disponibilidad del ion Cu (II) aumentó en ambos casos llegando a 94 y 174 mg/ Kg, con y sin halloysita (KHA1-2) respectivamente. Evidentemente, una gran presencia de agua solubiliza al fungicida e incrementa los niveles de cobre leídos, formando iones de Cu^{2+} , $Cu(OH)^+$ y $Cu_2(OH)_2^{+2}$ en el medio acuoso [18], no obstante, en el tratamiento con halloysita se adquiere una mayor retención del principio activo, con 50 mg/L por debajo del nivel de cobre del fungicida aplicado individualmente.

La disponibilidad de Cu (II) en el primer muestreo del segundo tratamiento (KRA2-1), es 19 mg/ Kg mayor cuando se adiciona halloysita, con niveles bajos de lluvia y temperatura observados (07-feb). A través de los siguientes muestreos (KRA2-2 y KRA2-3) los iones Cu^{2+} disponibles disminuyen en el Este (con halloysita), mientras en el Oeste (sin halloysita) hay una reducción y un aumento; en paralelo la cantidad de lluvia y la temperatura tiende a ir incrementando (01-mar y 19-mar). En un último muestreo (KRA2-4) se registran mayores cantidades de cobre en ambas zonas, 204 y 326 mg/ Kg en Este y Oeste, junto a un significativo aumento del tiempo de interceptación (416 h). En este tratamiento se obtuvieron mayor número de datos, sin embargo el comportamiento en la liberación de cobre es similar a lo largo del tiempo que el tratamiento previo, consiguiendo una liberación más lenta con la aplicación de halloysita. Se observa, particularmente, una relación más directa entre los iones solubles y la temperatura, que disminuyen y aumentan paralelamente, contrario al proceso de adsorción de Cu (II) por halloysita que decrece cuando la temperatura incrementa [18].

Tabla 1. Tratamientos de halloysita y oxicloruro de cobre en árboles de kiwi.

Kiwi tratados con oxicloruro de cobre							
Tratamiento (fecha)	Muestreo (fecha)	Muestra (tipo)	Nomenclatura	Temperatura med (°C)	Humedad med (%)	Precipitación (mm)	Interceptación (h)
A1 (03.nov.12)	1 (12.nov.12)	Hojas	KHA1-1*	8.5	85	67	142
	2 (02.dic.12)		KHA1-2	6.9	100	131.4	374
A2 (18.ene.13)	1 (07.feb.13)	Ramas	KRA2-1	2.2	82	30.6	259
	2 (01.mar.13)		KRA2-2	1.1	80	37.2	271
	3 (19.mar.13)		KRA2-3	6.1	84	71	256
	4 (20.abr.13)		KRA2-4	9.7	82	107.4	416

* Nomenclatura muestras: K= kiwi, R= rama, A=tratamiento con Cupravit® No.-No.=tratamiento-muestreo.



Contenido de dithianón

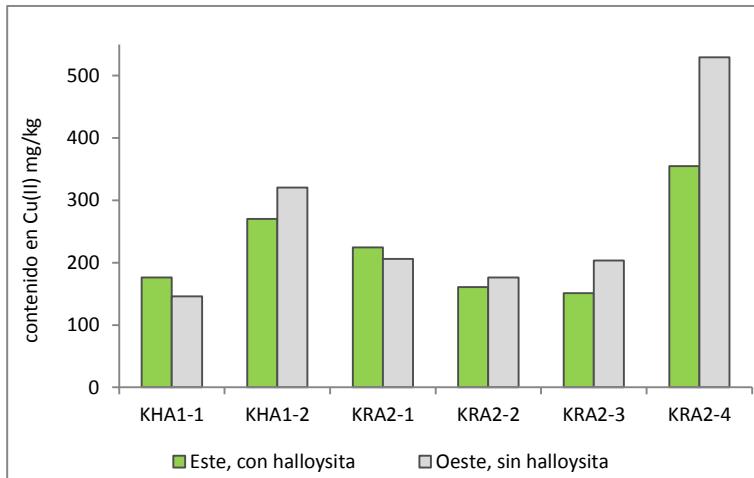
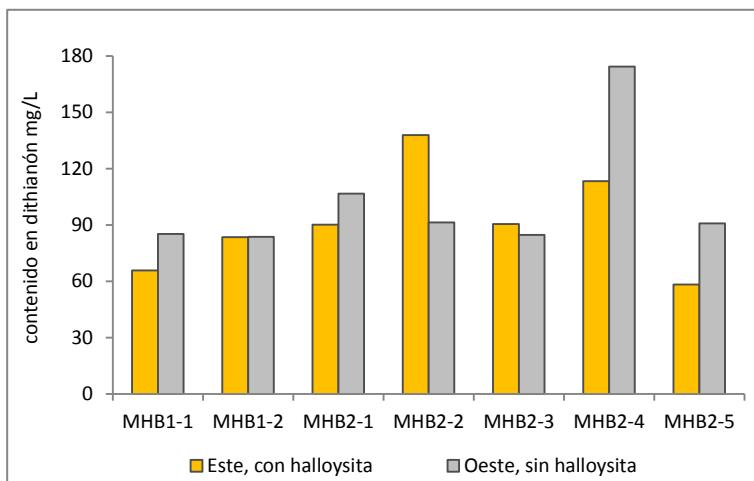
En la fig. 8 y la tabla 2, se observa en las muestras MHB1-1, tratadas por el fungicida con y sin halloysita, que el dithianón está disponible en 65 mg/L y 85 mg/L, un día después de la aplicación del primer tratamiento, cuando la temperatura es de 10 °C, la cantidad de lluvia 23 mm y el tiempo de interceptación 23 h (22-abr). Al segundo día, muestras MHB1-2, el dithianón aumenta 17.7 mg/L en el Este, mientras disminuye ligeramente en el Oeste (1.4 mg/L); a pesar de la nula precipitación, se registran 14 horas de agua sobre las hojas y una temperatura media de 16 °C (23-abr), lo cual ocasiona la desorción de las moléculas de dithianón desde la halloysita, gracias al contacto con un medio acuoso y una mayor temperatura ambiente; este proceso ocurre de forma similar en la desorción de ditiazem contenido en halloysita [12]. Por otro lado, la falta de lluvia, no permitió la solubilidad de las moléculas de dithianón en el tratamiento del fungicida aplicado individualmente, lo cual provocó la disminución observada.

En el segundo tratamiento (MHB2-1), se encuentran 16.6 mg/L de dithianón más en el tratamiento con fungicida individual frente al que contiene halloysita, sin embargo, la diferencia entre ambos tratamientos se incrementa 46.4 mg/L el segundo día (MHB2-2) luego de alta precipitación (54.2 mm), siendo mayor en el Este. En el tercer y cuarto día, la cantidad de dithianón disponible fluctúa en ambos casos, reduciéndose hasta 58.3 y 90.8 mg/L en el último muestreo (MHB2-5). Paralelamente, la lluvia y la temperatura registran el mismo comportamiento de incremento y disminución, con lo cual se evidencia la influencia directa de estos fenómenos en el comportamiento de los fungicidas sobre las hojas de los árboles. No obstante, las fluctuaciones en el contenido de dithianón entre las diferentes etapas del tratamiento, se pueden adjudicar además, a la complejidad de las moléculas orgánicas, por su tamaño, movilidad, afinidad de adsorción, solubilidad en agua, etc. tal como se ha encontrado en la adsorción-desorción de amonio y ditiazem en halloysita [11] [12].

Tabla 2. Tratamientos de halloysita y dithianón en árboles de manzana

Manzanos Golden tratados con dithianón							
Tratamiento (fecha)	Muestreo (fecha)	Muestra (tipo)	Nomenclatura	Temperatura med (°C)	Humedad med (%)	Precipitación (mm)	Interceptación (h)
B1 (21.abr.13)	1 (22.abr.13)	Hojas	MHB1-1*	10.1	96	23.0	23.0
	2 (23.abr.13)		MHB1-2	16.3	89	0.0	14.0
B2 (14.may.13)	1 (15.may.13)		MHB2-1	15.8	80	1	12
	2 (16.may.13)		MHB2-2	12.8	99	54.2	24
	3 (17.may.13)		MHB2-3	12.6	97	31.2	24
	4 (18.may.13)		MHB2-4	14.2	91	4.6	17
	5 (21.may.13)		MHB2-5	13.1	86	50.8	0.7

* Nomenclatura muestras: M=manzana, H=hoja, B=tratamiento con Delan®, No.-No.=tratamiento-muestreo.

**Figura 7.** Contenido de cobre en hojas de kiwis.**Figura 8.** Contenido de dithianón en hojas de manzanos.

Análisis por SEM y EDS

En la fig. 9, se observan distintas imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) realizadas sobre hojas tratadas con halloysita. La imagen 1, muestra las nervaduras de las hojas perfectamente, puesto que se realiza a una escala pequeña (200 µm). En la imagen 2, a una escala de 100 µm, se observa un relieve bastante abrupto y se alcanzan a identificar algunas partículas depositadas sobre los valles de la hoja. Con una escala de 20 µm (3), se identifican partículas de diferentes tamaños, partículas dispersadas con diámetros de 2 µm hasta aglomerados con dimensiones de 20 µm, depositados principalmente en los valles del relieve de la hoja. A una escala más cercana (4) se logra apreciar la morfología de las partículas, esencialmente se observan cristales polimorfos, sin embargo, se hallan un par de estructuras cilíndricas (señaladas por el círculo rojo), de un tamaño aproximado entre 4 y 5 µm. Esta estructura tubular es la típica morfología de la halloysita, puede encontrarse en dimensiones de 2.5 µm de largo por 0.15 µm de diámetro externo [6], hasta longitudes más cortas de menos de un micrómetro [7]. No obstante, en este último artículo, en el cual emplean halloysita procedente de la misma mina (Dinuno, Polonia) que en el



presente estudio, se observan partículas aglomeradas en formas más cúbicas, tales como las que se aprecian en las imágenes mencionadas. Esto se debe a que a la halloysita empleada en este estudio, no se le aplicaron procesos de activación previos, así, algunas partículas de halloysita en polvo permanecen aglomeradas mientras la pulverización, y es como se encuentran, en su mayoría, sobre las hojas.

En la fig. 10a, se identifican dos diferentes estructuras por el brillo que presentan ante el microscopio, señaladas por la zonas: Z1 y Z2, en la cuales se efectúa un análisis de dispersión de electrones (EDS). Los resultados del análisis para Z1, fig. 10b, evidencian la presencia de un aluminosilicato, teniendo una composición alta de Al, Si, O y trazas de Mg y Fe. El análisis de la zona 2 (no mostrado), presenta un alto contenido de carbono y oxígeno, pero bajos niveles de minerales como Fe, Mg, Al, Si, y Ti. Por lo anterior se asume que la mayoría de las partículas corresponden a halloysita retenida sobre las hojas, evidenciando la capacidad de la halloysita para retener los fungicidas.

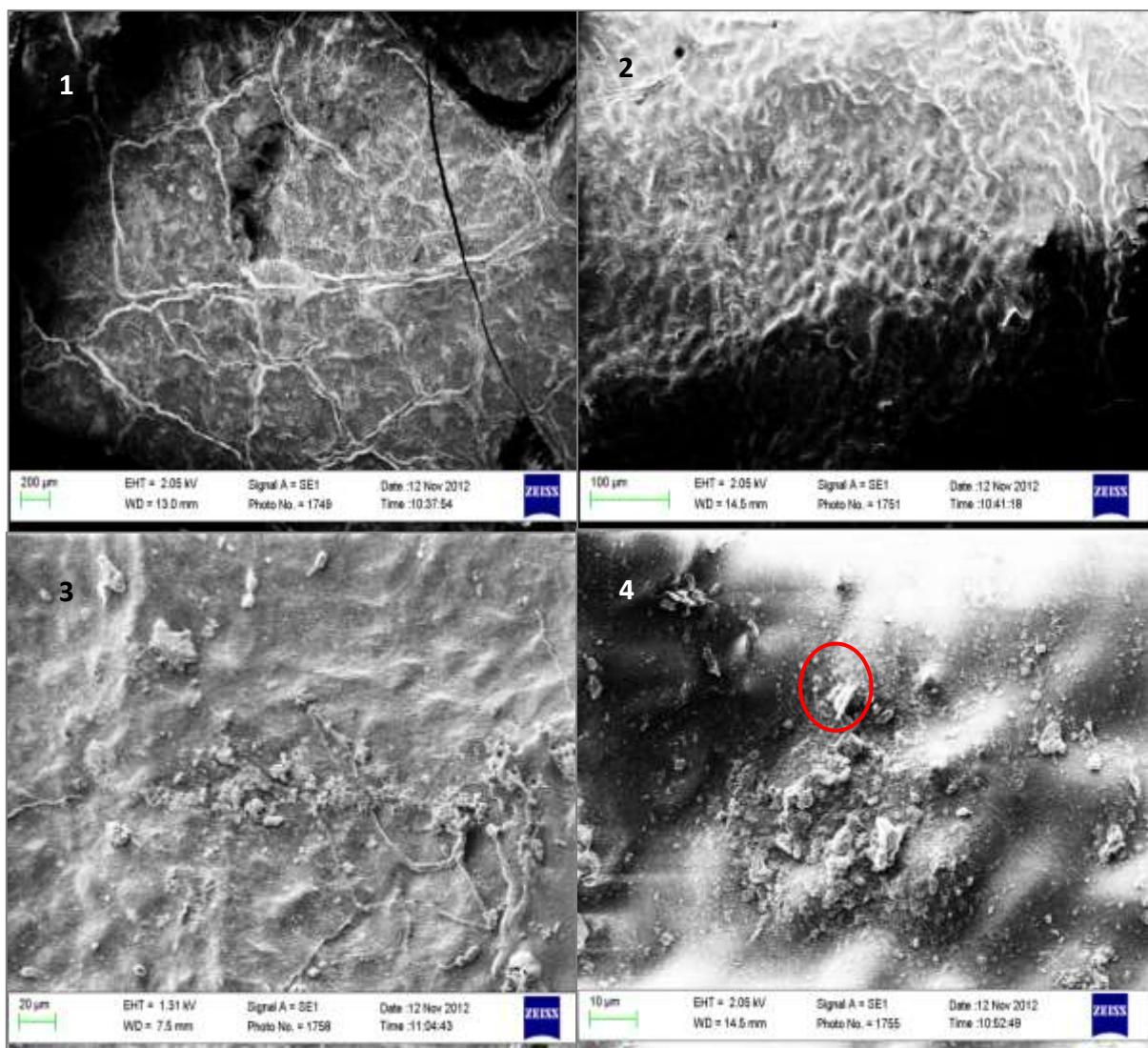


Figura. 9. Microscopia electrónica de barrido de hojas tratadas con halloysita a diferentes escalas de análisis: 1. 200 μm , 2. 100 μm , 3. 20 μm y 4. 10 μm

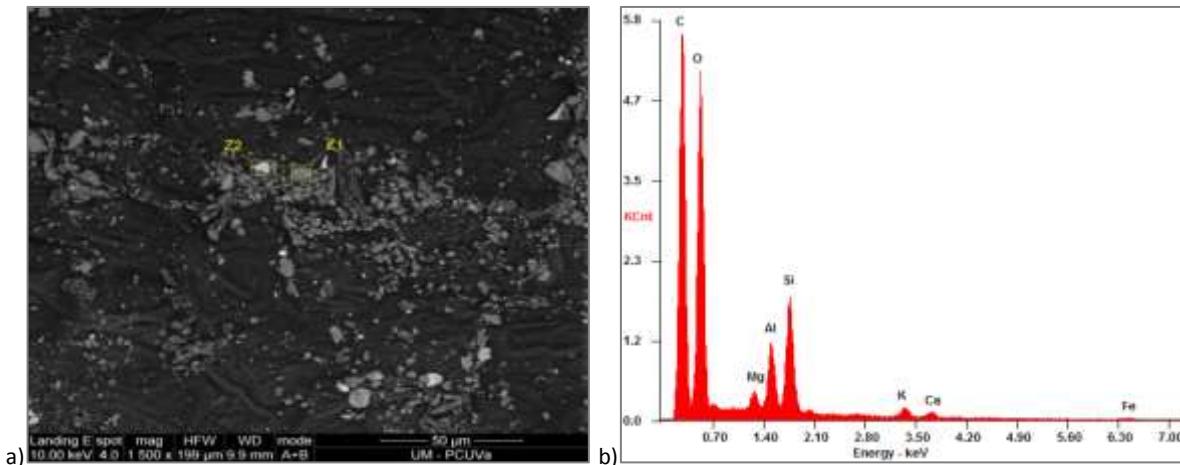


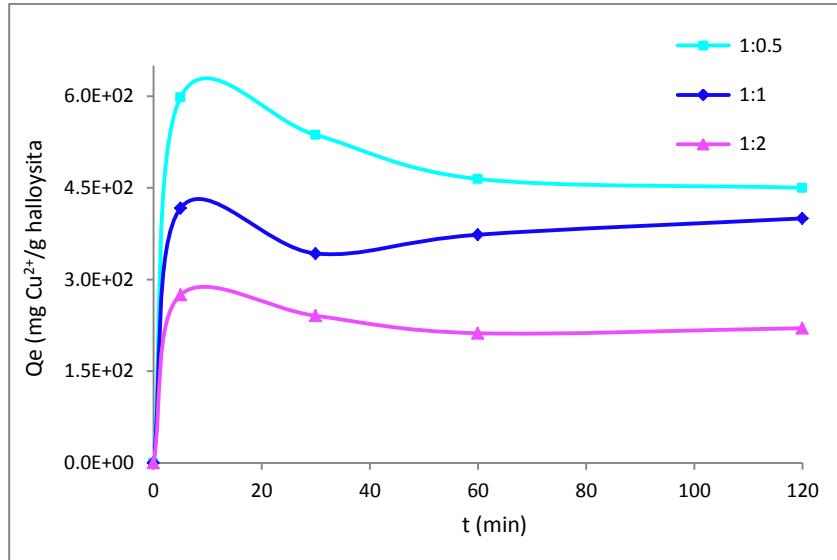
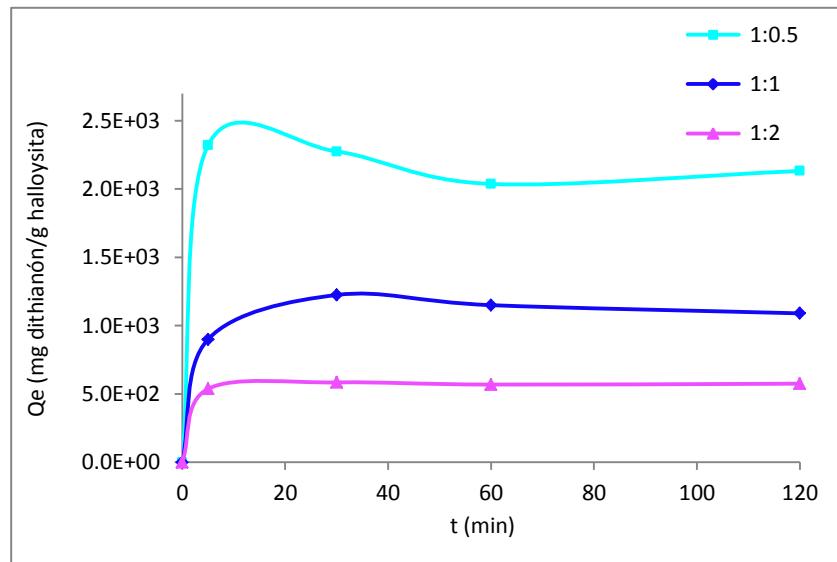
Figura. 10. Espectrometría SEM y EDS. a) Identificación de dos partículas distintas b) análisis de composición de partícula de la zona 1

Adsorción y análisis ATR-FTIR

La adsorción de iones de cobre por la halloysita en solución acuosa, presenta un comportamiento inverso a la cantidad de adsorbente, es decir, se observa una mayor concentración de Cu^{2+} por gramo de halloysita, cuando la cantidad de arcilla es menor (fig. 11); por ejemplo, a los 5 minutos de la agitación, se adsorben 2.7E^{02} mg de Cu^{2+} por gramo de halloysita en la relación 1:0.5, contra 5.9E^{02} mg de Cu^{2+} por gramo de halloysita en la relación 1:2, mientras en la proporción de mezcla 1:1, se obtiene un valor intermedio de 4.1E^{02} mg/g. Esta conducta en la adsorción se mantiene a lo largo del experimento hasta alcanzar el equilibrio en 120 min tiempo de contacto, en esta última medición los iones de cobre se adsorben dos veces más, cuando la cantidad de halloysita es 4 veces menor. Este fenómeno es observado en otro estudio de adsorción de cobre por halloysita intercalada con acetato de sodio [18].

Se asume que la razón de este comportamiento es, que una menor cantidad de arcilla, significa, un menor número de sitios de intercambio disponibles, los cuales son rápidamente ocupados por los iones en solución, a tal grado que llegan a saturar la superficie adsortiva. Por el contrario, los ensayos en los cuales la cantidad de halloysita supera por el doble a la concentración del principio activo, existe menos disponibilidad de iones para intercambiarse iónicamente con los sitios de adsorción.

Por otra parte, en los tres casos analizados se observa una concentración más elevada durante los primeros minutos de contacto, la cual se reduce con el paso de tiempo, siendo hasta 1.5E^{02} mg de Cu^{2+} menor en la relación 1:0.5, al final del ensayo. Esto puede interpretarse de la siguiente manera, durante los 5 min iniciales, la gran cantidad de iones de Cu^{2+} solubles en el agua junto a la alta disponibilidad de sitios de adsorción, hace que estos sitios se ocupen completamente, tanto por los iones de cobre como por otras especies químicas presentes en el medio (derivadas del propio fungicida) formando una capa sobre toda la superficie de adsorción [19].

**Figura 11.** Gráfica de adsorción de Cu (II) en halloysita**Figura 12.** Gráfica de adsorción de Cu (II) en halloysita

La adsorción de las moléculas orgánicas de dithianón presenta un comportamiento similar a los iones de cobre, como se observa en la fig.12, a pesar de la gran diferencia entre la estructura de estas moléculas. Evidentemente, la dosis de halloysita es la variable que influye directamente sobre este comportamiento [19]. Aunque, en este caso, la diferencia entre los gramos de dithianón adsorbidos es 5 veces mayor cuando se mezclan con 0.1 g de halloysita frente a 0.4 g, observándose una mejor adsorción en las moléculas orgánicas.



El equilibrio de adsorción, se alcanza después de un tiempo de contacto de 60 min, no obstante, el ensayo corrió hasta 120 min, donde las diferencias se mantienen de acuerdo a la proporción dithianón-halloysita en una relación 1:0.5 > 1:1 > 1:2, con valores de 2.1E03, 1.1E03 y 0.5E03 mg/g, respectivamente.

La cinética de adsorción en los ensayos de dithianón, coincide a la cinética de adsorción de cobre únicamente en el caso dónde el fungicida se coloca en proporción 1:0.5, entendiéndose, que esto se debe a la alta concentración de moléculas orgánicas respecto a la baja cantidad de sitios de adsorción en la halloysita. Los siguientes dos casos, presentan una cinética de adsorción común entre sí.

Por otra parte, el análisis de la cinética de adsorción de ambos compuestos, mediante las ecuaciones de Langmuir y Freundlich, se ajustan con una R^2 relativamente baja (datos no mostrados), por lo que en estudios futuros deben efectuarse ecuaciones de segundo y tercer orden en la cinética de adsorción. No obstante se comprueba que la halloysita en estado natural, sin procesos de activación, es factible para la adsorción de los compuestos fungicidas, tanto de los iones de cobre como de las moléculas de dithianón, puesto que se alcanzan porcentajes de adsorción de alrededor de 30% con Cu^{2+} y 40% con dithianón (datos no mostrados), ideales para mantener una disponibilidad de los fungicidas en el momento de la aplicación y a través del tiempo.

Los análisis por ATR-FTIR de la fig. 13, presentan los espectros sobre la halloysita con cada fungicida adsorbido. En la gráfica pueden observarse los cambios en el espectro de vibración de la halloysita, que en estado natural presenta bandas características cercanas a 3695 y 3622 cm^{-1} , correspondientes a la vibración de estiramiento de los grupos -OH [10]. En los espectros que corresponden a ambos fungicidas, se observan las bandas pertenecientes a los grupos hidroxilos (-OH) alrededor de 3600 y 3700 cm^{-1} , debido a que los enlaces formados por los compuestos no son al interior de la estructura de la halloysita y se fijan débilmente con las capas internas de agua.

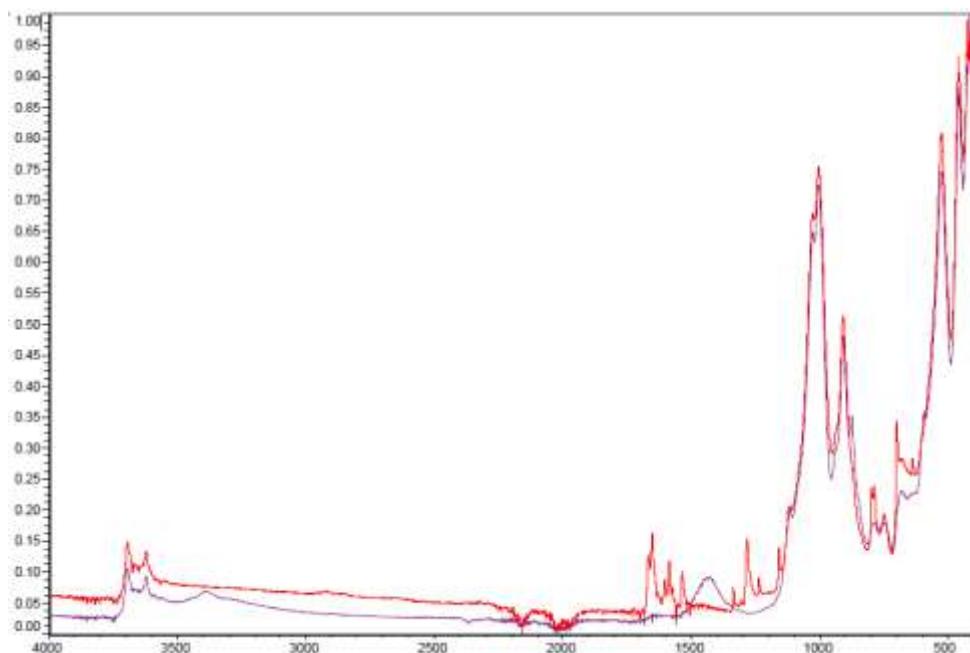


Figura 13. Espectro ART-FTIR de la halloysita con fungicida adsorbido, rojo: oxicloruro de cobre, morado: dithianón.



4. Conclusiones

Se encuentra una relación directa entre la disponibilidad de los fungicidas, (oxicloruro de cobre y dithianón) y las condiciones climáticas, la precipitación particularmente, consiguiendo una liberación más lenta de los fungicidas en los tratamientos con adición de halloysita frente a los tratamientos con los fungicidas originales. Al incrementar el volumen de precipitación, el tiempo de interceptación y la temperatura ambiente, los niveles de Cu^{2+} disponibles en los árboles de kiwi aumentan directamente, de una forma más lenta en el tratamiento con halloysita, es decir, gracias a la adición de la arcilla, se reduce la solubilidad del fungicida en el medio acuoso, permitiendo un mayor efecto residual.

El comportamiento que se observa con el fungicida molecular (dithianón), también presenta una relación con los factores climáticos, la temperatura ambiente y la lluvia. Sin embargo, la solubilidad del dithianón está fuertemente influída por factores propios de la estructura y reactividad de la molécula, por lo cual, la relación con la precipitación es menos directa. No obstante, la adición de la halloysita brinda una mayor estabilidad del dithianón sobre las hojas de los árboles.

La halloysita en estado natural, sin procesos previos de activación o tratamiento térmico, es viable para la adsorción del cobre y dithianón como fungicidas. Se logran los niveles de adsorción deseados para mantener una disponibilidad de los fungicidas en el momento de la aplicación y a través del tiempo.

Las pruebas de ATR-FTIR, señalan la presencia de grupos hidroxilo, evidenciando las uniones por intercambio iónico de cada fungicida. Las imágenes por SEM, indican la retención de la arcilla sobre las hojas. Por consiguiente podemos concluir que la halloysita es un material excelente para la liberación controlada de fungicidas y debe potenciarse la extensión de este estudio a otros pesticidas y especies vegetales.

Agradecimientos

A Fundación Carolina; JCyL, proyecto de investigación VA036A12-2; Laboratorio de Edafología, ETSIA-Uva, Palencia, España; Azienda Agricola Corrado Rolfo, Barge, Italia; Intermark Company y Dante Roberto Company.

Bibliografía

- [1] Falconer, K.E., 1998. Managing diffuse environmental contamination from agricultural pesticides: An economic perspective on issues and policy options, with particular reference to Europe, Agriculture, Ecosystems & Environment, 69, 37-54.
- [2] Craven, A., Hoy, S., 2005. Pesticide persistence and bound residues in soil—regulatory significance, Environmental Pollution, 133, 5-9.
- [3] Sørensen, P.B., Giralt, F., Rallo, R., Espinosa, G., Münier, B., Gyldenkærne, S., Thomsen, M., 2010. Conscious worst case definition for risk assessment, part II: A methodological case study for pesticide risk assessment, Science of The Total Environment, 408, 3860-3870.
- [4] Sánchez, M.J., Sánchez, M., 1984. Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo, Temas de divulgación, Instituto de recursos naturales y agrobiología, 1, 15-19. <http://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf>



- [5] Mroczek, K., Kalisz, S., Pronobis, M., Sołtys, J., 2011. The effect of halloysite additive on operation of boilers firing agricultural biomass, *Fuel Processing Technology*, 92, 845–855.
- [6] Mellouk, S., Cherifi, S., Sassi, M., Marouf-Khelifa, K., Bengueddach, A., Schott, J., Khelifa, A., 2009. Intercalation of halloysite from Djebel Debagh (Algeria) and adsorption of copper ions, *Applied Clay Science*, 44, 230-236.
- [7] Churchman, G.J., Carr, R.M., 1975. The definition and nomenclature of halloysites, *Clays Clay Miner*, 23, 382–388.
- [8] Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly G., 2006. Handbook of Clay Science, *Developments in Clays Science*, 1.
- [9] Zhou, C., Keeling, J., 2013. Fundamental and applied research on clay minerals: From climate and environment to nanotechnology, *Applied Clay Science*, 74, 3–9.
- [10] Del Rey-Bueno, F., Romero-Carballo, J., Villafranca-Sánchez, E., García-Rodríguez, A., Sebastian-Pardo, E.N., 1989. Adsorption of ammonia over halloysite activated at different temperatures, *Materials Chemistry and Physics*, 21, 67-84.
- [11] Okamura, Y., 1992. Repeated adsorption of phenolic acids on clays, *Science of The Total Environment*, 117–118, 475-483.
- [12] Levis, S.R., Deasy, P.B., 2003. Use of coated microtubular halloysite for the sustained release of diltiazem hydrochloride and propranolol hydrochloride, *International Journal of Pharmaceutics*, 253, 145-157.
- [13] Gaffney, M., Pirvus, G., Deasy, P., Salter, A., 2013. Novel plant protection products, TEAGASC Research, 8, 32-33. http://www.teagasc.ie/publications/2013/1893/TResearch_Spring2013.pdf
- [14] Windholz, M., Budavari, S., Stroumtsos, L., Ferting, M., 1976. The Merck Index, an encyclopedia of chemicals and drugs, Merck & Co., Inc., 9, 451.
- [15] Servicio de Meteorología: CRESO, Consorzio di ricerca, sperimentazione e divulgazione per l'ortofruticoltura piemontese. Fecha de consulta: 03-11-12 a 21-05-11. <http://www.cresoricerca.it/>
- [16] PPDB: Pesticide Properties Data Base. Fecha de consulta: 01-07-13 <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/it/index.htm>
- [17] Kingston, H., Haswell, S., 1997. Siliceous soil with organic, Microwave-Enhanced Chemistry, fundamentals, samples preparation and applications, American Chemical Society. DG-EN.-35
- [18] Mellouk, S., Belhakem, A., Marouf-Khelifa, K., Schott, J., Khelifa, A., 2011. Cu(II) adsorption by halloysites intercalated with sodium acetate, *Journal of Colloid and Interface Science*, 360, 716–724.
- [19] Attahirua, S., Shiundua, P., Wambu, E., 2012. Removal of Cr(III) from aqueous solutions using a micaceous poly-mineral from Kenya, *International Journal of Physical Sciences*, 7(8), 1198 - 1204. <http://www.academicjournals.org/IJPS>

Borrador de artículo para publicación

1 **Halloysite for controlled release of ionic and molecular fungicides on**
2 **fruit trees**

3 Iosody Silva-Castro^a, Jesús Martín-Gil^a, Salvador Hernández-Navarro^a, Luis Manuel Navas-
4 Gracia^a, Roberto C. Dante^b, Corrado Rolfo^b, Jozef Soltys^b.

5 a) Department of Agricultural Engineering and Forestry, Superior Technical School of Agricultural Engineering,
6 University of Valladolid. Avenida Madrid 44, Palencia, 34004, Spain, jesusmartingil.uva@gmail.com b) Roberto
7 Dante Company - Azienda Agricola Corrado Rolfo - Intermark Company,

8 **Abstract**

9 Assesses the ability of the halloysite, a natural clay, to hold and release two different fungicides, a metal
10 ion and an organic molecule (Copper oxychloride y dithianon). The halloysite is characterized by its
11 high capacity of adsorption-desorption of organic and inorganic chemicals. This study is used to prolong
12 the effect of fungicide treatment kiwi fruit trees and golden apple on a farm field in Piedmont (Northern
13 Italy) in different seasons. The monitoring is carried out by analysis AAS, UV-vis, SEM, EDS y ATR-
14 FTIR. Is a direct relationship between the availability of the fungicides and weather conditions,
15 particularly rain, obtaining a slower release of fungicides which treatments halloysite was added to
16 treatments with original fungicides. Is tested by adsorption analyzes, that halloysite has the ideal
17 characteristics for adsorbing the ionic and molecular fungicides tested.

18 **Keywords:** fungicides, adsorption, desorption, residual effect, field applications

19 **Resumen**

20 Se evalúa la capacidad de la halloysita, una arcilla natural, para retener y liberar dos diferentes
21 fungicidas, un ion metálico y una molécula orgánica (oxicloruro de cobre y dithianón). La halloysita se
22 caracteriza por su alta capacidad de adsorción-desorción de sustancias químicas orgánicas e
23 inorgánicas. En este estudio se utiliza para prolongar el efecto de los tratamientos fungicidas en árboles
24 frutales de kiwi y manzana golden en un campo de cultivo del Piamonte (Norte de Italia) en diferentes
25 estaciones del año. El seguimiento se lleva a cabo por análisis de AAS, UV-vis, SEM, EDS y ATR-
26 FTIR. Se encuentra una relación directa entre la disponibilidad de los fungicidas y las condiciones
27 climáticas, la precipitación particularmente, consiguiendo una liberación más lenta de los fungicidas en
28 los tratamientos en los cuales se adiciona halloysita frente a los tratamientos con los fungicidas
29 originales. Se comprueba mediante análisis de adsorción, que la halloysita posee las características
30 ideales para adsorber a los fungicidas iónicos y moleculares probados.

31 **Palabras clave:** fungicidas, adsorción, desorción, efecto residual, aplicaciones en campo

32 **1. Introduction**

33 The massive use of chemicals and pesticides in various agricultural crops causes severe
34 environmental problems, including pollution of soil and aquifers and serious toxicological problems
35 in plants, animals and humans [1], [2] y [3].

36 Currently used chemicals incorporated into commercial formula, or added in situ to pesticides, able
37 to modify their physical and chemical properties to enhance its effectiveness and residual effect, ie
38 to keep it for a longer period of time available in trees. The most common additives are substances
39 emulsifiers, binders, plasticizers and stabilizers [4]. However they are anthropogenic chemicals that
40 involve greater environmental impacts and economic costs in agricultural production.

41 The halloysite is a natural clay of chemical family aluminosilicates, its empirical formula is
42 $\text{Al}_4(\text{OH})_8/\text{Si}_4\text{O}_{10} \times 10\text{H}_2\text{O}$ [5]; represents one of the major subgroups of kaolin, interlaminar mineral
43 potential capacity and adsorption of metal ions and organic compounds [6]. However, the halloysite
44 is differentiated from the other groups to contain water molecules between the layers [7] and tubular
45 morphology at the nanoscale [8], this structure provides a high adsorption capacity inside the
46 nanotubos, by the presence of hydroxyl groups within the tetrahedral layers of Si and Al octahedral
47 [5]; and gradual release, since the surface is negatively charged and form weak bonds ion exchange
48 [9]. The halloysite has been studied for several decades in research on ammonium adsorption [10],
49 ácido fenólico [11] and recently by nanotechnology applications for controlled drug release [12]
50 and adsorption-desorption of insecticides [13].

51 In the present study analyzes the ore field application, as treatments dithianon optimizer, a quinone
52 of formula $\text{C}_{14}\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ [14] and copper oxychloride $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ or tribasic copper chloride
53 (TBCC), and the adsorption behavior and controlled release of these compounds from the
54 halloysite.

55 **2. Materials and methods**

56 *Treatments and sampling*

57 Choose two commercial fungicides, one ion and other molecular. The experiment is conducted through
58 four treatments: A) Two treatments with 100 g/hL of Cupravit® (Bayer®), Copper oxychloride 50%
59 (p/p), placed one leaf and another kiwi tree, during autumn-winter 2012-2013, and B) Two treatments
60 with 75 g/hL of Delan® WG (BASF®), dithianon 70% (p/p), placed only in leaves golden apple tres,
61 during spring 2013. Halloysite powder PJF (Intermark®) high specific surface area, approximately 70-85
62 m^2/g [5] is mixed in a 1:1 ratio, a fungicide suspension with constant stirring in the tank of a tractor
63 Eurotech®, for 15 min and during spraying. Treatment plots seen in Figure 1a, located in Barge,
64 Province of Cuneo (Italy), 5 to 7 rows with 60 trees approx. each, are divided into two sections: (i)
65 East, application of the mixture (halloysite and fungicide) and (ii) West, Conventional application of
66 the fungicide, figure1b.

67 *Barge* weather station [15] information provides average temperature ($^{\circ}\text{C}$), average moisture (%),
68 rainfall (mm) and interception (h, retention time of water on the leaves) along the field experiments. The
69 above data are used to analyze the behavior of the fungicide on fruit trees and are listed in Table 1 as
70 well as periodic sampling dates made randomly in one out of two trees and nomenclature of each
71 treatment. The samples were analyzed in triplicate at the Laboratory of Soil Science, of ETSIA
72 University of Valladolid, Palencia campus, Spain.

73 *Analysis UV-vis, AAS, SEM and EDS*

74 The presence of the fungicide on the trees is quantified, for extracts dithianon sheet 1 g in 20 ml of
75 dioxane (BASF®), during 24 hours, Measured by spectrophotometry UV-vis in a Hitachi ® U 2001 to

76 283 and 350 nm [16], with appropriate calibration curve dithianon (Delan® WG) in dioxane. The
77 copper content was analyzed by AAS, in a Varian ® mod. AA240, after acid digestion with 3 mL 40%
78 HF (Panreac®), 4mL HNO₃ 65% (Scharlau®) and 1 mL H₂O₂ 33% (Panreac®) in a Milestone ®
79 microwave mod. Ethos-one, according to the procedure DG-EN-35 [17]and by scanning electron
80 microscopy (SEM) in a Zeiss ® mod. EVO HD25 and microanalysis FEI ESEM EDS ® mod. Quanta
81 200F.

82 *Adsorption curves and ATR-FTIR*

83 Fungicide adsorption by halloysite, is determined by the solution of 0.2 g of copper oxychloride or
84 dithianon in 100 mL of deionized water in proportion 1:0.5, 1:1 and 1:2, fungicide-halloysite
85 respectively, a contact time of 120 min with constant agitation, are taken 5 mL aliquots at different time
86 intervals (5, 30, 60 and 120 min), filtered and analyzed by UV-Vis and AAS. Halloysite analysis and
87 fungicide adsorbed performed by ATR-FTIR (Thermo Nicolet 380 FT-IR®).

88 **3. Results and discussion**

89 *Copper content*

90 According to Figure 2, there is a greater availability of Cu (II) in the first treatment (KHA1-1) when
91 added halloysite, with 212 mg / kg versus 146 mg / Kg of conventionally employed fungicide, a week
92 after application of the treatment. A month later, after an increase in total precipitation, 131 mm, and
93 greater retention of water on the leaves, 374 hours (02 Dec, Table 1), the availability of the ion Cu (II)
94 increased in both cases, 94 and 174 mg / kg, with and without halloysite (KHA1-2). Obviously, a large
95 presence of solubilized water and increases the fungicide copper levels read, forming Cu²⁺, Cu(OH)⁺ and
96 Cu₂(OH)₂⁺² in the aqueous [18], however, treatment with halloysite acquired a greater retention of the
97 active principle, with 50 mg / L below the copper fungicide applied individually.

98 The availability of Cu (II) in the first sample of the second treatment (KRA2-1) is 19 mg / kg increased
99 when adding halloysite with low levels of rain and observed temperature (07 Feb). Through the
100 following samples (KRA2 KRA2-2-3) ions Cu²⁺ available lower in the East, while in the West there is a
101 decrease and an increase, in parallel the amount of rain and the temperature tends to be increasing (01-
102 Mar and 19 Mar). In a last sampling (KRA2-4) recorded higher amounts of copper in both areas, 204
103 and 326 mg / kg in East and West (with and without halloysite), together with a significant increase in
104 the time of interception (416 h). In this treatment, most data obtained, however the release behavior is
105 similar through the time to copper pretreatment getting slower release the application of halloysite. It is
106 observed, in particular, a more direct relationship between temperature and soluble ions, which decrease
107 and increase in parallel, unlike the adsorption process of Cu (II) by halloysite that decreases when the
108 temperature increases [18].

109 *Dithianon content*

110 In Figure 2b, is seen in samples MHB1-1, treated by the fungicide with and without halloysite, dithianon
111 that is available in 65 mg / L and 85 mg / L one day after application of the first treatment, when the
112 temperature is 10 ° C, the amount of rainfall 23 mm and the time interception 23 h (Apr 22, Table 1). On
113 the second day, samples MHB1-2, increases dithianon 17.7 mg / L in the East, while decreasing slightly
114 in the West (1.4 mg / L); nil despite the rainfall, are recorded 14 hours of water on the leaves and an

115 average temperature of 16 ° C (Apr 23), which causes the desorption of molecules from the halloysite
116 dithianon, thanks to contact with a medium aqueous and increased temperature, this process occurs
117 similarly in the desorption halloysite content diltiazem [12]. Moreover, the lack of rain, did not allow the
118 solubility of molecules in the treatment dithianon individually applied fungicide, which caused the
119 observed decrease.

120 In the second treatment (MHB2-1) are 16.6 mg / L of dithianon more individually fungicidal treatment
121 against which contains halloysite, however, the difference between the two treatments is increased 46.4
122 mg / L on the second day (MHB2-2) after high rainfall (54.2 mm), being higher in the East. In the third
123 and fourth day, the amount of available dithianon fluctuates in both cases, decreasing to 58.3 and 90.8
124 mg / L in the last sampling (MHB2-5). Meanwhile, rain and record the same temperature increase and
125 decrease behavior, which is evidence of the direct influence of these phenomena on the behavior of
126 fungicides on the leaves of the trees. However, fluctuations in the content dithianon between different
127 stages of the treatment, also may be awarded to the complexity of organic molecules by size, mobility
128 and adsorption affinity, solubility in water, etc. as found in the adsorption-desorption of ammonia and
129 diltiazem in halloysite [11] [12].

130 *Analysis by SEM and EDS*

131 In Figure 3a, there is a large amount of particles deposited on the sheet analyzed a kiwi tree. With a scale
132 of 20 μm , identifies different size particles, dispersed particles with diameter from 2 μm to agglomerate
133 with dimensions of 20 μm , deposited mainly in the valleys of the relief of the blade. A nearest scale
134 (Figure 3b) may be appreciated the particle morphology, essentially polymorph crystals are observed,
135 however, are a pair of cylindrical structures (indicated by the red circle in Fig. B), of a size
136 approximately between 4 and 5 μm . This structure is typical tubular halloysite morphology may be
137 found in dimensions 2.5 μm long and 0.15 μm of diameter external [6], even shorter lengths of less than
138 one micrometer [7]. However, in this latter study, which used halloysite from the same mine (Dinuno,
139 Poland) which in this study, there are agglomerated particles in cubic forms such as those seen in the
140 SEM images figure 3.

141 Particularly, in Figure 3c, two different structures are identified by the brightness presented to the
142 microscope, indicated by the areas: Z1 and Z2, in which an analysis is made of electron scattering
143 (EDS). Analysis results for Z1 (Fig. 3d) show the presence of an aluminosilicate, having a composition
144 KCnt Aluminum-1.2, Si-2.1 KCnt, Oxygen-5.3 KCnt and traces of magnesium and iron. Analysis zone
145 2 (not shown), has a high content of carbon and oxygen, but low levels of minerals such as Fe, Mg, Al,
146 Si, and Ti. Therefore, it was assumed that most of the particles are retained on the leaves halloysite,
147 evidencing the ability of halloysite to remain on the sheets of same shape achieving retention fungicides.

148 *Adsorption and analysis ATR-FTIR*

149 Adsorbing the copper ions in aqueous solution halloysite, shows a behavior reverse to the amount of
150 adsorbent, that is, there is a higher concentration of Cu^{2+} per gram of halloysite, when the amount of
151 clay is less; for example, within 5 minutes of agitation, adsorb 2.7E^02 mg Cu^{2+} per gram of halloysite in
152 a ratio 1:0.5 against 5.9E^02 mg Cu^{2+} per gram of halloysite in the ratio 1:2, while the ratio of 1:1, one
153 obtains an intermediate value 4.1E^02 mg / g. The adsorption behavior was maintained throughout the
154 experiment until equilibrium is reached in 120 min contact time in the latter measurement copper ions

155 are adsorbed twice more, when the amount of halloysite is 4 times less. This phenomenon is observed in
156 another study copper adsorption halloysite intercalated with sodium acetate [18].

157 It is assumed that the reason for this behavior is that a lesser amount of clay, means fewer available
158 exchange sites, which are quickly filled by the ions in solution, to the extent that get saturated adsorptive
159 surface. By contrast, tests in which the amount surpasses halloysite twice the concentration of the active
160 principle, there is less available for ion-exchanged with ion adsorption sites.

161 Moreover, in all three cases there is a higher concentration during the first minutes of contact, which is
162 reduced with the passage of time, being up $1.5E^{02}$ mg of Cu^{2+} in the ratio 1:0.5 lower at the end of assay.
163 This can be interpreted in the following manner during the initial 5 minutes, the large amount of Cu (II)
164 are soluble in water together with the high availability of adsorption sites, making these sites completely
165 deal, both ions copper and other chemical species present in the medium (derived from the same
166 fungicide) forming a layer over the entire surface capable of being polymerized by increasing the
167 adsorption [19]. However, in the surface of the halloysite form ionic bonds, ie weak links, which end
168 breaking the continuous exchange, until equilibrium.

169 The adsorption of organic molecules dithianon exhibits similar behavior to copper ions, despite the large
170 difference between the structure of these molecules. Obviously, the dose of halloysite is the variable that
171 directly influences this behavior [19]. Although, in this case, the difference between the adsorbed
172 dithianon grams is 5 times higher when mixed with 0.1 g of halloysite versus 0.4 g, showing a better
173 adsorbing organic molecules. Adsorption equilibrium is reached after a contact time of 60 min, however,
174 the assay ran to 120 min, where the differences are maintained according to the rate-halloysite dithianon
175 a 1:0.5 ratio > 1:1 > 1:2, with values of $2.1E^{03}$, and $0.5E^{03}$ $1.1E^{03}$ mg / g, respectively.

176 Adsorption kinetics assays dithianon, coincide to the adsorption kinetics of copper only in the case
177 where the fungicide is placed in 1:0.5 ratio, it being understood that this is due to the high concentration
178 of organic molecules compared to low number of adsorption sites on the halloysite. The next two cases
179 show a common adsorption kinetics together.

180 Either way, the specific analysis of the adsorption kinetics of both compounds is not performed in this
181 study. However it is found that the natural state halloysite without activation processes, it is feasible to
182 adsorb the fungicidal compounds, both of the copper ions as dithianon molecules.

183 The ATR-FTIR analysis of Fig. 5 shows the spectra of each fungicide halloysite adsorbed. In the graph
184 one can see the changes in the vibration spectrum halloysista which presents unprocessed characteristic
185 bands near 3695 and 3622 cm^{-1} , corresponding to the vibration-OH groups characteristic of kaolin [10].
186 In the spectra corresponding to the two fungicides, bands are observed in the groups hydroxyl (-OH)
187 about 3600 and 3700 cm^{-1} , because the bonds formed by the compounds are not within the structure of
188 the halloysite and secured loosely with the inner layers of water.

189 Moreover, the links held in the surface are observed bands present between 1650 and 1500 cm^{-1} for
190 copper oxychloride, since this area is indicative of weaker bonds between molecules. Is observed in the
191 spectrum corresponding to dithianon a broad band between 1500 and 1350, with a maximum height at
192 1420 cm^{-1} , typical of the groups C-O [18]. It can be inferred with retention of fungicides, however
193 requires more extensive analysis.

194 **4. Conclusions**

195 Is a direct relationship between the availability of fungicides (copper oxychloride and dithianon) and
196 climatic conditions, particularly precipitation, obtaining a slower release of fungicide treatments
197 halloysite addition to treatments with fungicides original. By increasing the volume of rainfall, the time
198 of interception and ambient temperature, levels of Cu²⁺ in the kiwi trees directly increases, a slower
199 form of treatment with halloysite, with the addition of the clay is reduced fungicide solubility in the
200 aqueous medium, allowing a higher residual effect.

201 The behavior observed with the fungicide molecular (dithianon), also has a relationship with climatic
202 factors, temperature and rainfall. However, dithianon solubility is strongly influenced by factors inherent
203 in the structure and reactivity of the molecule, thus, the relationship is less direct precipitation. However,
204 the addition of the halloysite provides greater stability dithianon on leaves of trees.

205 The halloysite natural state, without previous activation processes or heat treatment is feasible for the
206 adsorption of copper and dithianon as fungicides. Levels are achieved to maintain a desired adsorption
207 of fungicides availability at the time of application and over time.

208 Testing ATR-FTIR indicate the presence of hydroxyl groups, showing the connections of each ion
209 exchange fungicide. SEM pictures indicate the retention of the clay on the leaves. We can therefore
210 conclude that the halloysite is an excellent material for the controlled release of fungicides and to
211 strengthening the extension of this study to other pesticides and plant species.

212 **Acknowledgements**

213 Laboratory of Soil Science, ETSIA-Uva, Palencia, Spain. Building M3 - Science Park University of
214 Salamanca, Spain. JCyL, research project VA036A12-2. Azienda Agricola Corrado Rolfo, Barge,
215 Intermark Company, Dante Roberto Company.

216 **Bibliography**

- 217 [1] Falconer, K.E., 1998. Managing diffuse environmental contamination from agricultural
218 pesticides: An economic perspective on issues and policy options, with particular reference to
219 Europe, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 69, 37-54.
220 [2] Craven, A., Hoy, S., 2005. Pesticide persistence and bound residues in soil—regulatory
221 significance, *Environmental Pollution*, 133, 5-9.
222 [3] Sørensen, P.B., Giralt, F., Rallo, R., Espinosa, G., Münier, B., Gyldenkærne, S., Thomsen, M.,
223 2010. Conscious worst case definition for risk assessment, part II: A methodological case study
224 for pesticide risk assessment, *Science of The Total Environment*, 408, 3860-3870.
225 [4] Sánchez, M.J., Sánchez, M., 1984. Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo, Temas
226 de divulgación, Instituto de recursos naturales y agrobiología, 1, 15-19.
227 <http://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf>
228 [5] Mroczek, K., Kalisz, S., Pronobis, M., Sołtys, J., 2011. The effect of halloysite additive on
229 operation of boilers firing agricultural biomass, *Fuel Processing Technology*, 92, 845–855.

- 230 [6] Mellouk, S., Cherifi, S., Sassi, M., Marouf-Khelifa, K., Bengueddach, A., Schott, J., Khelifa, A.,
231 2009. Intercalation of halloysite from Djebel Debagh (Algeria) and adsorption of copper ions,
232 Applied Clay Science, 44, 230-236.
- 233 [7] Churchman, G.J., Carr, R.M., 1975. The definition and nomenclature of halloysites, Clays Clay
234 Miner, 23, 382–388.
- 235 [8] Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly G., 2006. Handbook of Clay Science, Developments in
236 Clays Science, 1.
- 237 [9] Zhou, C., Keeling, J., 2013. Fundamental and applied research on clay minerals: From climate
238 and environment to nanotechnology, Applied Clay Science, 74, 3–9.
- 239 [10] Del Rey-Bueno, F., Romero-Carballo, J., Villafranca-Sanchez, E., Garcia-Rodriguez, A.,
240 Sebastian-Pardo, E.N., 1989. Adsorption of ammonia over halloysite activated at different
241 temperatures, Materials Chemistry and Physics, 21, 67-84.
- 242 [11] Okamura, Y., 1992. Repeated adsorption of phenolic acids on clays, Science of The Total
243 Environment, 117–118, 475-483.
- 244 [12] Levis, S.R., Deasy, P.B., 2003. Use of coated microtubular halloysite for the sustained release of
245 diltiazem hydrochloride and propranolol hydrochloride, International Journal of Pharmaceutics,
246 253, 145-157.
- 247 [13] Gaffney, M., Pirvus, G., Deasy, P., Salter, A., 2013. Novel plant protection products,
248 TEAGASC Research, 8, 32-33. http://www.teagasc.ie/publications/2013/1893/TResearch_Spring2013.pdf
- 249 [14] Windholz, M., Budavari, S., Stroumtsos, L., Ferting, M., 1976. The Merck Index, an
251 encyclopedia of chemicals and drugs, Merck & Co., Inc., 9, 451.
- 252 [15] Servizio de Meteorología: CRESO, Consorzio di ricerca, sperimentazione e divulgazione per
253 l'ortofrutticoltura piemontese. Date: 03-11-12 a 21-05-11. <http://www.cresoricerca.it/>
- 254 [16] PPDB: Pesticide Properties Data Base. Date: 01-07-13
255 <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/it/index.htm>
- 256 [17] Kingston, H., Haswell, S., 1997. Siliceous soil with organic, Microwave-Enhanced Chemistry,
257 fundamentals, samples preparation and applications, American Chemical Society.
- 258 [18] Mellouk, S., Belhakem, A., Marouf-Khelifa, K., Schott, J., Khelifa, A., 2011. Cu(II) adsorption
259 by halloysites intercalated with sodium acetate, Journal of Colloid and Interface Science, 360,
260 716–724.
- 261 [19] Attahirua, S., Shiundua, P., Wambu, E., 2012. Removal of Cr(III) from aqueous solutions using
262 a micaceous poly-mineral from Kenya, International Journal of Physical Sciences, 7(8), 1198 -
263 1204. <http://www.academicjournals.org/IJPS>
- 264

265 **Table 1.** Application of treatments and sampling, sample type, nomenclature and meteorological data from the
 266 station: Barge.

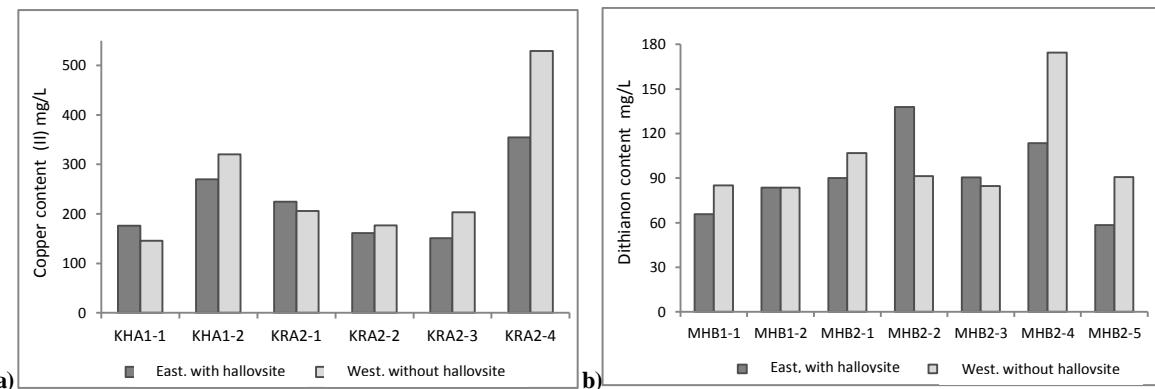
Treatment (Date)	Sampling (Date)	Sample (Type)	Nomenclature	Temperature average (°C)	Moisture average (%)	Rainfall (mm)	Interception (h)
Kiwis treated with copper oxychloride							
A1 (03.nov.12)	1 (12.nov.12)	Leaves	KHA1-1*	8.5	85	67	142
	2 (02.dic.12)		KHA1-2	6.9	100	131.4	374
A2 (18.ene.13)	1 (07.feb.13)	Branches	KRA2-1	2.2	82	30.6	259
	2 (01.mar.13)		KRA2-2	1.1	80	37.2	271
	3 (19.mar.13)		KRA2-3	6.1	84	71	256
	4 (20.abr.13)		KRA2-4	9.7	82	107.4	416
Golden Apple dithianon treated							
B1 (21.abr.13)	1 (22.abr.13)	Leaves	MHB1-1**	10.1	96	23.0	23.0
	2 (23.abr.13)		MHB1-2	16.3	89	0.0	14.0
B2 (14.may.13)	1 (15.may.13)	Branches	MHB2-1	15.8	80	1	12
	2 (16.may.13)		MHB2-2	12.8	99	54.2	24
	3 (17.may.13)		MHB2-3	12.6	97	31.2	24
	4 (18.may.13)		MHB2-4	14.2	91	4.6	17
	5 (21.may.13)		MHB2-5	13.1	86	50.8	0.7

267
 268 * Nomenclature samples: K= kiwi, R= branches, A= treatment Cupravit® No.-No.= treatment-sampling.
 269 ** Nomenclature samples: M=Apples, H= leaves, B= treatment Delan®, No.-No.= treatment-sampling.
 270



271 **Figure 1.** (a) Orthophoto of farm field, Barge, Italy, source: <http://www.pcn.minambiente.it/viewer/>. In yellow: golden
 272 apple, red: kiwi, blue: weather station. (b) treatments and sampling diagram.

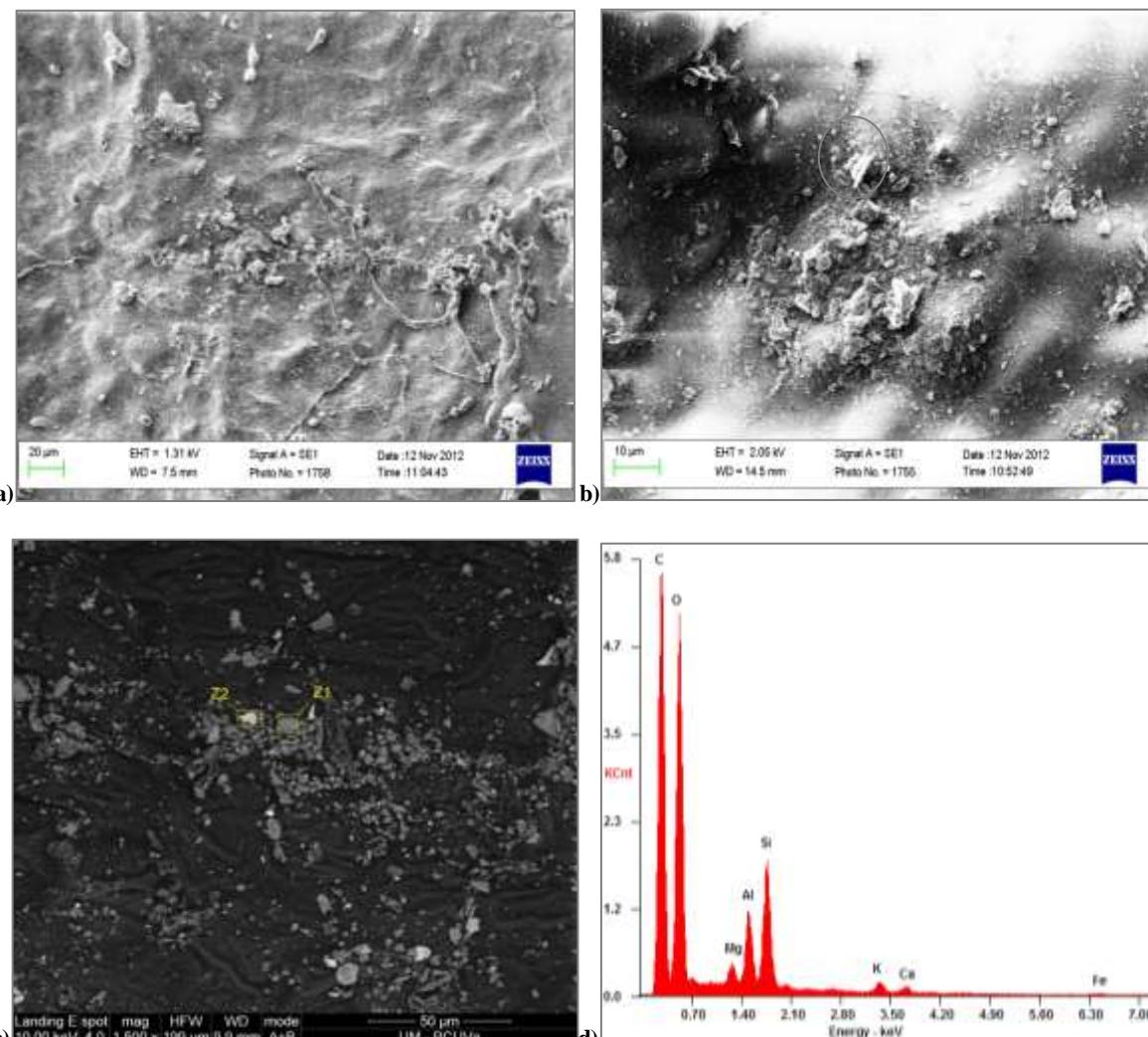
274



275

Figura 2. (a) Copper content. (b) Dithianon content.

276



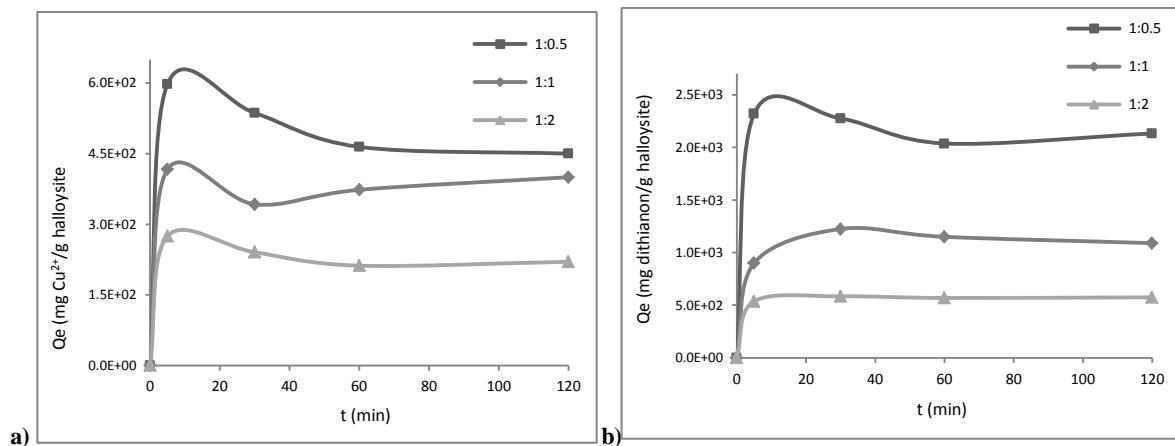
277

Figure 3. Electron microscopy on leaves treated with halloysite. (a) Scale 20 µm (b) Scale 10 µm. (c) Identification of particles (Z1 and Z2). (d) EDS analysis of the composition of Z1.

278

279

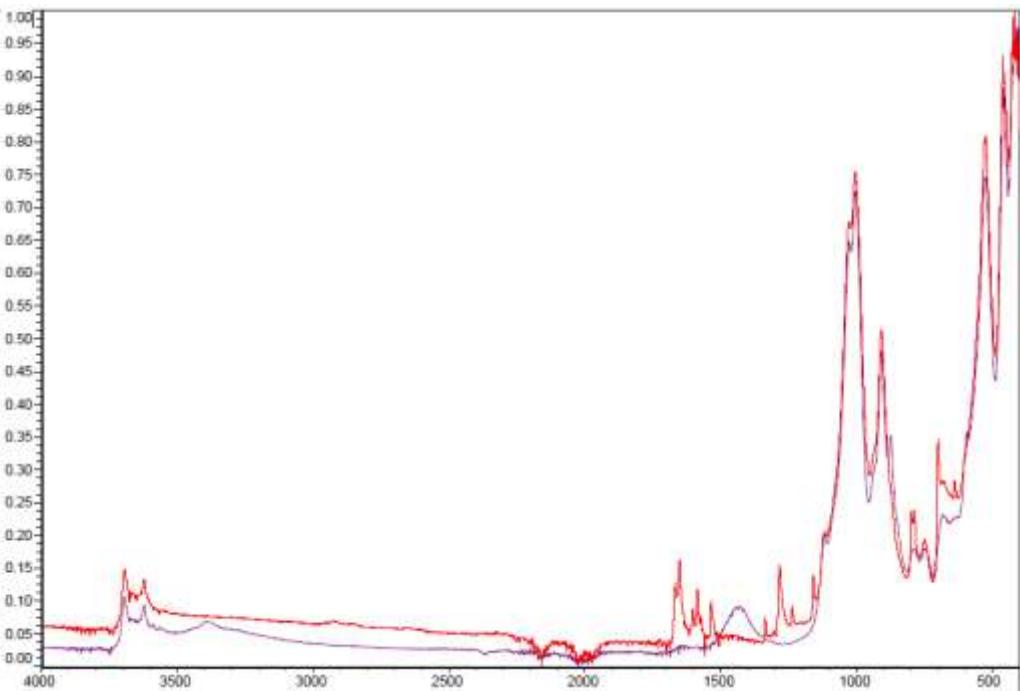
280



281

Figure 4. Halloysite adsorption graphs of: a) Cu (II) and b) dithianon, in the indicated proportions of fungicide-halloysite.

282



283

Figure 5. Spectrum ART-FTIR the fungicide halloysite adsorbed, red: copper oxychloride, purple: dithianon.