



Metodologies analítiques per a l'estudi de compostos al·leloquímics en conreus de blat

Marta Villagrasa Giménez



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 3.0. Spain License.**



Facultat de Química
Departament de Química Analítica



Institut de Diagnòstic Ambiental i
Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)
Departament de Química Ambiental

METODOLOGIES ANALÍTIQUES PER A L'ESTUDI DE COMPOSTOS AL·LELOQUÍMICS EN CONREUS DE BLAT

Marta Villagrasa Giménez
Novembre 2013

Programa de Doctorat
"Química Analítica del Medi Ambient i la Pol·lució"

Departament de Química Analítica
Facultat de Química-Universitat de Barcelona

Memòria presentada per optar al grau de
Doctor per la Universitat de Barcelona
Per

MARTA VILLAGRASA GIMÉNEZ

Tutora:

Director:

Co-directora:

Dra. Encarnació Moyano Morcillo
Professora Titular de la Facultat de
Química de la Universitat de
Barcelona

Prof. Damià Barceló i Cullerés
Professor d'Investigació del
Departament de Química
Ambiental del IDAEA-CSIC

Dra. Ethel Eljarrat Esebag
Científic Titular del
Departament de Química
Ambiental del IDAEA-CSIC

Barcelona, Novembre 2013

It's the possibility of having a dream come true that makes life interesting
Paulo Coelho

In an age when man has forgotten his origins and is blind even to his most essential
needs for survival, water along with other resources has become the victim of his
indifference.
Rachel Carson (*Silent Spring* - Chapter 4, 1962)

AGRAIMENTS

Voldria expressar la meua gratitud a totes aquelles persones que d'una manera o altre m'han ajudat, recolzat i acompanyat en el que representa la fi d'una llarga etapa de la meua vida, sense totes i cadascuna d'elles aquesta tesi no hagués estat possible.

En primer lloc voldria agrair sincerament al Prof. Damià Barceló per haver confiat en mi i haver-me donat la oportunitat de realitzar la tesi en el Departament de Química Ambiental del IDAEA i donar-me ànims per tirar-la endavant. Gràcies per deixar-me formar part d'un reconegut grup d'investigació i haver confiat en mi pel projecte ICRA. De la mateixa manera, voldria agrair a la Dra. Ethel Eljarrat per haver co-dirigit la tesi, per motivar-me a seguir escrivint i pel seu recolzament en tot moment. Gràcies a la Dra. Encaración Moyano per accedir a ser la tutora d'aquesta tesi i poder comptar amb la seva experta i reconeguda opinió dins del camp de la Química Analítica.

No em puc oblidar d'agrair a la Dra. Silvia Lacorte qui em va brindar l'oportunitat de realitzar les pràctiques del màster del IUCT amb ella, les quals em van obrir les portes al món de la investigació. També vull fer extensius els meus agraïments al Dr. Joan Grimalt amb el qui vaig tenir la sort de poder formar-me durant 4 mesos. A l'Ester Marco per la seva amistat, van ser uns mesos molt enriquidors tant a nivell personal com professional, moltes gràcies Ester!

A tots els que van ser els meus companys de grup, tant als que un dia en van formar part com els que encara el formen. Gràcies a l'Elena Martínez per tots els coneixements transmesos i bons moments. A tots els companys del "cuartito dels hermanos Marx" el de les penes però també el de les alegries, on vam forjar els moments més únics, on ens desfogàvem, parlàvem i ens encoratjàvem els uns als altres. En especial per l'amistat de les Astus Míriam i Meri, la Paqui, l'Asun, l'Alain, l'Agus, la Chus i el Nuno, amb qui he viscut moments tant especials que se'ns dubte no oblidaré mai, us trobo a faltar. Gràcies també a la Miren, per endinsar-me en el món de l'anàlisi de plaguicides, pels consells, ànims i ajuda rebuda. I a l'Àngels per la seva energia i alegria que encomana. A la Roser, la Dori i la Maria (les noies de masses) per la seva paciència i la seva ajuda amb els conflictes amb els equips i en especial a la Roser per seguir ajudant-me des de la distància.

A tots i cadascun dels meus companys d'ICRA, però en especial a la Sara Insa, a la Zuria, al Xavi, la Carmen, la Gemma, al Jaume, l'Olga, a l'Ivan, i al Sergi Sabater gràcies pel vostre suport, ànims i per fer-me les coses fàcils durant aquests gairebé 5 anys que porto treballant amb vosaltres.

A tots els meus bons amics de SPTV (Santa Perpètua de Tota la Vida), que malgrat la petita distància que ara ens separa i no ens puguem veure sovint, sempre em reben amb els braços oberts. Gràcies per entendre'm i per seguir en contacte amb mi (Ester, Marc, Neus, Nuri, Sandriki, Montse, Irma, Àlex, Meri i Kuki), ens queda molt per compartir. Un recordatori especial pel Pere, la nostra última conversa estava relacionada amb aquesta tesi, m'entristeix molt el no poder compartir junts aquesta fita, el teu record sempre el portaré dins meu, ben aprop. A la Gemma (tortugueta) per la seva sinceritat, energia i per estar sempre al meu costat. Al Vice, que malgrat el nostre projecte de vida després de 10 anys va seguir camins separats, sempre em vas encoratjar a seguir-la endavant.

A la Zuria i en Sergi, a la Sara i en Joan a qui mai podré agrair prou la seva generositat i hospitalitat abans i després d'instal·lar-me a Palamós. Sou genials, no canvieu mai !

Al Marc Pagès pel disseny de la portada de la tesi i sobretot pels dinars, cafès i xerrades que hem compartit. Al David Monterde per la seva ajuda incondicional en l'anàlisi estadístic.

Al David, que en poc temps hem compartit grans moments, gràcies per ser aquí i fer-me feliç, ens queda molt camí per endavant.

Per últim, us vull agrair pares, l'educació que m'heu donat, els valors que m'heu transmès i perquè malgrat els mals moments que he pogut passar, sempre heu estat al meu costat, gràcies pel vostre recolzament al llarg de tot aquest temps. Al Marc i l'Anna per donar-me ànims i fer-me tieta de tres nebotetes fantàstiques (Laia, Berta i Francesca), qui només amb un somriure i una abraçada et fan veure les coses d'una manera ben diferent. Us estimo molt.

TAULA DE CONTINGUTS

PRESENTACIÓ DE LA MEMÒRIA

1.	Acrònims	1
2.	Resum	3
3.	Estructura de la tesi	6

CAPÍTOL I.- INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

9

I.1.	El cultiu de blat	11
	I.1.1. Presència de males herbes en cultius de cereals	14
	I.1.2. El control de les males herbes	17
I.2.	Plaguicides i la problemàtica ambiental	24
	I.2.1. Contaminació Ambiental i legislació	25
	I.2.2. Resistència als herbicides	27
I.3.	Al·lelopatia	29
	I.3.1. Definició de l'al·lelopatia	30
	I.3.2. Antecedents històrics de l'al·lelopatia	30
	I.3.3. Compostos al·lelopàtics	31
	I.3.4. Vies d'alliberament dels compostos al·lelopàtics	34
	I.3.5. Mètodes d'estudi per provar l'efecte al·lelopàtic	36
	I.3.6. El fenomen de l'al·lelopatia i la troballa d'herbicides	40
	I.3.7. Avaluació de l'ús de compostos al·lelopàtics en el control de males herbes	43
I.4.	Al·lelopatia en cereals	44
	I.4.1. Compostos al·lelopàtics en els cereals	44
	I.4.2. Productes de degradació en el sòl	47
	I.4.3. El projecte FATEALLCHEM	49
I.5.	Anàlisi de compostos al·lelopàtics en el blat	55
	I.5.1. Introducció	55
	I.5.2. Estratègies analítiques	58
	I.5.3. Extracció de la mostra	60
	I.5.4. Purificació dels extractes	60
	I.5.5. Anàlisi instrumental	61
	I.5.6. Anàlisi de compostos al·lelopàtics en sòl agrícola	63

I.6.	Publicació científica	65
	<i>Publicació científica #1#.</i> "Analysis of benzoxazinone derivatives in plant tissues and their degradation products in agricultural soils"	
I.7.	Estat de l'art de les metodologies d'anàlisi des de el 2009 al 2013-10-13	79
	I.7.1. Anàlisi de benzoxazinones i els seus derivats en plantes	79
	I.7.2. Anàlisi de benzoxazinones i els seus compostos de degradació en el sòl	81
I.8.	Objectius generals	83
I.9.	Referències	85

CAPÍTOL II.- METODOLOGÍA ANALÍTICA EN PLANTES 103

II.1.	Introducció i objectius	105
II.2.	Selecció dels analits i disponibilitat dels estàndards	106
II.3.	Publicacions científiques	110
	II.3.1. Desenvolupament i validació d'una metodologia analítica en l'anàlisi de benzoxazinones i els seus derivats en el blat	111
	<i>Publicació científica #2#.</i> "Determination of Benzoxazinone Derivatives in Plants by Combining Pressurized Liquid Extraction-Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry"	
	II.3.2. Avaluació de l'efecte matriu en l'anàlisi de benzoxazinones	121
	<i>Publicació científica #3#.</i> "Matrix effect in liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry analysis of benzoxazinoid derivatives in plant material"	
II.4.	Discussió dels resultats	129
II.5.	Referències	144

CAPÍTOL III.- METODOLOGIA ANALÍTICAS EN SÒL AGRÍCOLA 147

III.1.	Introducció i objectius	149
III.2.	Selecció dels analits i dels estàndards	150
III.3.	Publicacions científiques	153
	III.3.1. Desenvolupament i validació d'una metodologia d'anàlisi per LC-MS	155
	<i>Publicació científica #4#.</i> "Development of a liquid chromatography–electrospray mass spectrometric method for the simultaneous analysis of benzoxazolinones and their degradation products"	
	III.3.2. Desenvolupament i validació d'una metodologia d'anàlisi per LC-MS/MS	163

Publicació científica #5#. "Development of a pressurized liquid extraction–solid-phase extraction followed by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the quantitative determination of benzoxazolinones and their degradation products in agricultural soil"

III.4.	Discussió dels resultats	173
III.5.	Referències	183

CAPITOL IV.- ANÀLISI DE COMPOSTOS AL·LELOPÀTICS EN MOSTRES DE BLAT I SÒL AGRÍCOLA 185

IV.1.	Introducció i objectius	187
IV.2.	Descripció dels cultius experimentals	188
	IV.2.1. Primer disseny experimental	189
	IV.2.2. Segon disseny experimental	190
IV.3.	Publicacions científiques	191
	IV.3.1. Distribució dels compostos al·lelopàtics en diferents parts del blat	193
	<i>Publicació científica #6#. "Benzoxazinoid Allelochemicals in Wheat: Distribution among Foliage, Roots, and Seeds"</i>	
	IV.3.2. Anàlisi de les mostres de blat	201
	<i>Publicació científica #7#. "Concentration of benzoxazinoid allelochemicals in wheat samples (Triticum aestivum)"</i>	
IV.4.	Discussió dels resultats	227
	IV.4.1. Anàlisi de les mostres de blat	227
	IV.4.2. Anàlisi estadístic de les dades	233
	IV.4.3. Anàlisi de compostos al·lelopàtics en el sòl agrícola	241
	IV.4.4. Estimació del contingut de compostos de degradació en el sòl	243
IV.5.	Referències	247

CAPITOL V.- CONCLUSIONS GENERALS 251

ANNEXES 257

I.	Índex de Taules	259
II.	Índex de Figures	261

PRESENTACIÓ DE LA MEMÒRIA



1. Acrònims	1
2. Resum	3
3. Estructura de la tesi	6

PRESENTACIÓ DE LA MEMÒRIA

1.- ACRÒNIMS

LC	Cromatografia de líquids
UV	Detector Ultraviolat
LC-MS	Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses
PLE	Extracció per líquids pressuritzats
EM	Efecte de matriu
2,4-D	2,4-dicloro-fenil-acètic
MCPA	àcid 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic
mCPP	àcid 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic
DMA	Directiva Marc de l'Aigua 2000/60/CE
ED50	Densitat de planta que causa un 50% de disminució en el creixement a una altra planta
ALS	Inhibidors de sintetasa d'acetolactat
SAR	Estudis de relació estructura activitat
QSAR	Estudis relació quantitativa estructura activitat
BOA	Benzoxazolin-2-one
MBOA	6-methoxybenzoxazolin-2-one
DIBOA	2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one
Diboa-Glc	2- β -D-glucopyranosyloxy-4-hidroxy-1,4-benzoxazin-3-one
Dimboa-Glc	2- β -D-glucopyranosyloxy-4-hidroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one
DIMBOA	2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one
AZOB	2,2'-oxo-1,1'-azobenzè
MAZOB	4-methoxy-2,2'-oxo-1,1'-azobenzè
APO	2-amino-phenoxazin-3-one
APH	2-aminophenol
AMPO	2-amino-4,6,7-methoxy-3H-phenoxazin-3-one
HBOA	2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one
AAPO	2-acetylamino-3-H-phenoxazin-3-one
NHAAPO	2-(N-hydroxy)acteylamino-3H-phenoxazin-3-one

HAAPO	2-(-2-hydroxiacetyl)amino-3H-phenoxazin-3-one
HPMA	N-(-2-hydroxyphenyl)malonamic acid
HMPMA	N-(-2-hydroxyphenyl-4-methoxyphenyl)malonamic acid)
FATEALLCHEM	“Fate and toxicity of allelochemicals in relation to environmental consumers” (FATEALLCHEM QLK5-CT-2001-01967)
IDAEA	Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis del Aigua
Kow	Coefficient de distribució octanol/aigua
LC-MS	LC acoblats a l'espectrometria de masses
EM	Efecte de matriu
DAD	Detector de fluorescència o Diode array
Q	Analitzador de quadrupol simple
QqQ	Analitzador de triple quadrupol
IT	Analitzador de trampa d'ions
Q-TOF	Analitzador híbrid tipus quadrupol-temps de vol
Q-LIT	Analitzador híbrid tipus quadrupol-trampa d'ions lineal
LTQ Orbitrap	Analitzador híbrid tipus trampa d'ions lineal-Orbitrap
Q-Orbitrap	Analitzador híbrid tipus i quadrupol-Orbitrap
SLE	Extracció sòlid-líquid
SFE	Extracció per fluids supercrítics
SPE	Extracció en fase sòlida
MAE	Extracció assistida per microones
GC-MS	Cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses
LC-UV	Cromatografia de líquids amb un detector ultraviolat
LC-MS/MS	Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem
FIA	<i>flow injection analysis</i>
iLOD	Límit de detecció instrumental
mLOD	Límit de detecció del mètode

2.- RESUM

El blat és un dels cereals més cultivats i d'elevada significança a nivell mundial. Amb l'augment de la població i el voler mantenir un elevat rendiment en la producció d'aquest cereal, des de els anys 50 el sistema de control de plagues, males herbes i malalties s'ha dut a terme amb l'ús de productes químics sintètics, els plaguicides. Derivat de l'ús continuat d'aquests productes, a mida que augmenta la demanada per una gestió agrícola més econòmica, creix la preocupació per l'impacte ambiental i la salut humana derivat de l'ús abusiu dels plaguicides, la resistència desenvolupada envers a aquests per les males herbes, i els creixents costos en producció i protecció dels cultius. Tots aquests fets, han portat als productors agrícoles i als científics de molts països a buscar alternatives menys agressives al medi ambient i a la població en general.

L'al·lelopatia es pot definir a grans trets com la influència directa d'una substància química, alliberada per una planta, sobre el desenvolupament i creixement d'una altre. Des de que es coneix que els compostos al·leloquímics (provinents del metabolisme secundari) i els seus productes de descomposició juguen un paper important en la resistència d'una planta envers a la lluita contra plagues i males herbes, ha augmentat l'interès científic per potenciar l'ús de l'al·lelopatia. Per a poder avaluar les conseqüències de l'ús d'aquests compostos i facilitar la comprensió del mecanisme de l'al·lelopatia, és important identificar quins d'ells són presents en la planta. Dins la gran diversitat de molècules procedents del metabolisme secundari de les plantes, els principals compostos amb propietats al·leloquímiques en les gramínies pertanyen a la família de les benzoxazinones. Es troben per exemple en el blat (*Triticum aestivum*), blat de moro (*Zea mays*) o centè (*Secale cereale*). Les estructures de totes les benzoxazinones es caracteritzen per tenir un hemiacetal cíclic en combinació amb un àcid hidroxàmic cíclic o una lactama cíclica. Dins les benzoxazinones es poden diferenciar entre: els àcids hidroxàmics, les lactames, els metil derivats i les benzoxazolinones. Els àcids hidroxàmics s'acumulen a la planta en forma de glucòsids. Aquests, són biològicament inactius, però enzimàticament transformats a les actives aglucones per l'acció de la β -glucosidasa quan el teixit vegetal es veu danyat. Posteriorment, les aglucones són espontàniament degradades a les corresponents benzoxazolinones. Tots els òrgans vegetals contenen

quantitats variables de substàncies potencialment al·lelopàtiques que poden ésser alliberades al medi ambient per mitjà de l'exsudació de les arrels, lixiviació, volatilització i descomposició dels residus de les plantes en el sòl. És precisament a partir de l'exsudació de les arrels per on principalment són alliberades les benzoxazolinones. Un cop alliberades aquestes són transformades a través de factors tan biòtics com abiòtics a altres compostos químics els quals poden tenir una activitat fitotòxica molt més destacada.

Factors ambientals i climàtics, tals com la quantitat de nutrients en sòl, el tipus de fertilitzants aplicats, la temperatura, la radiació solar, i l'ús de productes químics pot influenciar en el contingut de compostos al·leloquímics. També és conegut que certes varietats de blat poden tenir un potencial al·lelopàtic diferent en la lluita contra les males herbes, el que indica que la selecció de les varietats al·lelopàtiques pot ser una estratègia útil en el control integrat de males herbes.

Amb el principal objectiu de determinar el contingut de compostos al·lelopàtics en plantes de blat i els seus productes de degradació en el sòl agrícola, en diferents varietats de blat cultivades sota diferents sistemes de cultiu, durant el transcurs d'aquesta tesi s'han desenvolupat diverses metodologies per al seu anàlisi. Fins fa relativament poc temps, la gran majoria dels procediments descrits per a la separació i quantificació de les benzoxazinones s'havia dut a terme a través de la cromatografia de líquids (LC) amb detectors ultraviolats (UV). Alguns mètodes basats en la LC acoblada a l'espectrometria de masses (LC-MS) van ser posteriorment desenvolupats. Les metodologies d'anàlisi presentades són més sensibles i selectives que les descrites en bibliografia. Degut a la baixa estabilitat dels analits, es va prioritzar el desenvolupament de metodologies ràpides i simples en l'anàlisi dels compostos al·lelopàtics en el blat i el sòl agrícola. Dites metodologies es basen en una extracció per líquids pressuritzats (PLE), seguit d'una purificació de l'extracte i el posterior anàlisi a través de la cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses (LC-MS). S'han dut a terme les proves de recuperació en les diferents matrius, i s'han optimitzat els diferents paràmetres del mètode tant a nivell de preparació de la mostra com de l'anàlisi instrumental. Durant la optimització de les metodologies, es va detectar la problemàtica que algunes vegades es

dóna en l'anàlisi a través de la LC-MS com és l'efecte de matriu (EM). D'aquesta manera es va dur a terme l'avaluació de l'efecte de matriu a través de diferents mètodes com són el de l'addició estàndard, el patró intern i la dilució de la mostra, essent el darrer el més apropiat. Mentre que LC-MS presenta la sensibilitat necessària per a l'anàlisi de les benzoxazinones en les fulles i arrels del blat, en el cas dels compostos al·lelopàtics en el sòl, en un primer estadi es va dur a terme el desenvolupament d'una metodologia d'anàlisi per LC/MS, però degut als baixos nivells d'aquests analits presents en el sòl va ser necessari desenvolupar un mètode més sensible basat en la LC acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem (LC-MS/MS).

Ambdues metodologies varen ser aplicades satisfactòriament en l'anàlisi de mostres de blat i sòl agrícola en dues campanyes de presa de mostra. Els resultats obtinguts de la determinació dels diferents analits corresponen a mostres de diferents varietats de blat cultivades sota l'agricultura convencional (ús de plaguicides) i orgànica. En cadascuna d'aquestes campanyes es van analitzar mostres de blat i sòl a diferents estadis de creixement de la planta. Amb l'objectiu de determinar en quina part de la planta es troben els diferents metabòlits, es van analitzar les fulles, les arrels i les llavors germinades. Els resultats obtinguts evidencien que la conservació de les mostres és un punt important a tenir en compte donada la baixa estabilitat dels compostos analitzats. S'ha observat que el contingut de compostos disminueix a mida que la planta creix, evidenciant que aquests analits són sintetitzats en les primeres etapes de creixement de la planta. En general s'observen majors concentracions en les plantes de blat cultivades en condicions convencionals que orgàniques. Mentre que el nivell total de compostos és més elevat en les fulles dels primers estadis de creixement i després el contingut decau d'un estadi a un altre, en l'arrel aquesta davallada és menys pronunciada i es manté més estable a mida que la planta creix. L'estudi ANOVA factorial aplicat a l'anàlisi de les mostres de la segona campanya mostren que els factors estadi de creixement, el tipus de matriu i el tipus d'agricultura aplicada tenen un pes important en el contingut total de compostos al·leloquímics presents en la planta de blat. L'anàlisi de les mostres de sòl agrícola corroboren les vies de degradació de les benzoxazolinones, presentades en diferents estudis de biotransformació dutes a terme a nivell de laboratori.

3.- ESTRUCTURA DE LA TESI

La present memòria està estructurada en 5 capítols i s'ha escrit com a compendi d'articles. En el primer capítol s'introdueix el tema de l'al·lelopatia en plantes com a alternativa a l'ús de compostos sintètics en la gestió agrícola. Es descriuen quins són els punts més importants en l'estudi d'aquest fenomen, els compostos implicats, el seu origen i es revisen quines són les metodologies analítiques per a la seva determinació en plantes de blat i sòls agrícoles.

Els capítols del 2, 3 i 4, recullen el treball experimental realitzat durant el transcurs de la Tesi Doctoral, i presenten una estructura similar. Cada capítol s'inicia amb una introducció al tema desenvolupat, seguit dels objectius concrets plantejats. El treball experimental realitzat es presenta en forma de publicacions científiques i posteriorment, des de una perspectiva global, es discuteixen els resultats obtinguts. Finalment s'inclou la bibliografia consultada.

El capítol 2 presenta el desenvolupament i optimització d'una metodologia analítica per a la determinació de 8 benzoxazinones en la fulla i arrel de plantes de blat. Dita metodologia es basa en una extracció per SPE seguit de l'anàlisi per LC-MS. També es du a terme una valoració de l'efecte de matriu trobat durant l'anàlisi de les mostres per tal de dur a terme una correcta quantificació dels analits objectius d'estudi.

El capítol 3 presenta el desenvolupament i optimització d'una metodologia analítica per a l'anàlisi dels compostos de degradació en el sòl agrícola. Dita metodologia va requerir el desenvolupament d'una metodologia més sensible donats els baixos nivells dels analits present en les mostres de sòl. Dita metodologia es basa en una extracció per PLE seguit de l'anàlisi per LC-MS/MS.

En el capítol 4 s'exposen els resultats obtinguts d'aplicar les metodologies desenvolupades i els resultats obtinguts en quant a nivells de concentració i distribució en la planta i el sòl agrícola en funció a les diferents condicions establertes.

Finalment, en el capítol 5 es recullen les conclusions generals obtingudes en aquesta Tesi Doctoral. A continuació, al final de la memòria s'inclouen l'índex d'abreviatures i acrònims, l'índex de figures, l'índex de taules i les publicacions realitzades durant el transcurs de la Tesi Doctoral que no han estat incloses en la memòria.

La distribució de les publicacions incloses en aquesta memòria és la següent:

Capítol I.- Introducció

Publicació científica #1: Villagrasa, M.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Analysis of benzoxazinone derivatives in plant tissues and their degradation products in agricultural soils. *Trends in analytical chemistry*, 2009. 28(9):1103-1114.

Capítol II.- Metodologia analítica en plantes

Publicació científica #2: Villagrasa, M.; Guillamon, M.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Determination of benzoxazinone derivatives in plants by combining pressurized liquid extraction-solid-phase extraction followed by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006. 54(4): p. 1001-1008.

Publicació científica #3: Villagrasa, M.; Guillamon, M.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Matrix effect in liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry analysis of benzoxazinone derivatives in plant material. *Journal Chromatography A*, 2007. 1157(1-2): p. 108-114.

Capítol III.- Metodologia analítica en sòls

Publicació científica #4: Guillamon, M., Villagrasa, M.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Development of a liquid chromatography-electrospray mass spectrometric method for the simultaneous analysis of benzoxazolinones and their degradation products. *Journal of Chromatography A*, 2004. 1052: p. 53-59.

Publicació científica #5: Villagrasa, M., Guillamon, M.; Navarro, A.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Development of a pressurized liquid extraction-solid phase extraction followed by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the

quantitative determination of benzoxazolinones and their degradation products in agricultural soil. *Journal Chromatography A*, 2008. 1179(2): p. 190-197.

Capítol IV.- Anàlisi de compostos al·lelopàtics en mostres de blat i sòl agrícola

Publicació científica #6: Villagrasa, M., Guillamon, M.; Labandeira, A.; Taberner, A.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Benzoxazinoid allelochemicals in wheat: Distribution among foliage, roots, and seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006. 54(4): p. 1009-1015.

Publicació científica #7: Villagrasa, M., Taberner, A.; Tauler, R.; Eljarrat, E.; Barcelo, D. Concentration of benzoxazinoid allelochemicals in wheat samples (*Triticum aestivum*). Enviat a *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.