



# 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



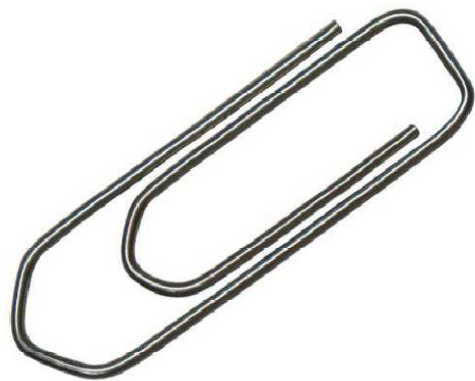
Institut de Diagnòstic Ambiental i  
Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)  
Departament de Química Ambiental

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

Marta Villagrasa Giménez  
Novembre 2013

## ANNEXES

---





## ANNEXES

---

### I.- ÍNDEX DE TAULES

#### CAPITOL I

---

**Taula I.1.-** Herbicides usats contra les males herbes en cultius de cereals

**Taula I.2.-** Compostos amb propietats al·lelopàtiques en espècies de plantes

**Taula I.3.-** Estimació del LogP per a les benzoxazinones i aminofenoxazinones

**Taula I.4.-** Condicions experimentals descrites en els diferents treballs en l'anàlisi de compostos al·lelopàtics.

#### CAPITOL II

---

**Taula II.1.-** Taula dels compostos analitzats, el seu pes molecular, el pic corresponent al cromatograma (Figura II.6) i la longitud d'ona a la que són monitoritzats (\* Patrons interns)

**Taula II.2.-** Recuperacions obtingudes en les diferents etapes de pretractament de la mostra

**Taula II.3.-** Comparació de la sensibilitat del mètode desenvolupat per LC-MS envers els mètode prèviament desenvolupat per LC-MS-MS

#### CAPITOL III

---

**Taula III.1.-** iLOD expressats com a ng injectats per BOA i MBOA mitjançant LC-MS

**Taula III.2.-** Paràmetres de qualitat del mètode desenvolupat

**Taula III.3.-** Paràmetres de qualitat dels mètodes descrits a la bibliografia en l'anàlisi de benzoxazolinones, aminofenoxazinones i àcids malonàmics en sòl agrícola (NR: no reportat; NA: no analitzat)

#### CAPITOL IV

---

**Taula IV.1.-** Dates de sembra i collita de les mostres de la primera campanya

**Taula IV.2.-** Dates de sembra i collita de les mostres de la segona campanya

---

**Taula IV.3.-** Nivells màxims i mínims (mg/kg pes sec), mitjana, mediana i freqüència de detecció de les concentracions dels compostos al·leloquímics detectats en la fulla i l'arrel en el cultiu convencional (primer, segon i tercer estadi) i orgànic (tercer i quart estadi de creixement)

**Taula IV.4.-** Nivells màxims i mínims (mg/kg pes sec), mitjana, mediana i freqüència de detecció de les concentracions dels compostos al·leloquímics detectats en la fulla i l'arrel en el cultiu convencional i orgànic en a) el primer i segon estadi de creixement i b) el tercer, quart i cinquè estadi de creixement

**Taula IV.5-** Resultats del test de Levene per a les dades dels diferents estadis de creixement per a) matriu de dades original b) matriu de dades transformada

**Taula IV.6.-** Taula resultats ANOVA 1 factor (Codis: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 '' 1)

**Taula IV.7.-** Valors de p dels diferents factors en funció el model ANOVA factorial aplicat

**Taula IV.8.-** Taula ANOVA factorial

**Taula IV.9.-** Coeficients de correlació obtinguts entre les dades experimentals i les predites per un model ANOVA factorial determinat

**Taula IV.10.-** Estimació del contingut d'APO en el sòl (\*Diboa-glc+DIBOA+BOA)

**Taula IV.11.-** Estimació del contingut d'AMPO en el sòl

## II.- ÍNDEX DE FIGURES

### CAPÍTOL I

- Figura I.1.-** Morfologia de la planta de blat *Triticum aestivum*
- Figura I.2.-** Escala de Zadoks en el cultiu de blat
- Figura I.3.-** Producció de cereals a nivell mundial
- Figura I.4.-** Espècies de males herbes Gramínies anuals.
- Figura I.5.-** Espècies de males herbes dicotiledònies.
- Figura I.6.-** Distribució mundial de biotips de males herbes resistents
- Figura I.7.-** Evolució de biotips resistents segons el mode d'acció dels herbicides
- Figura I.8.-** Vies de síntesi dels metabòlits secundaris i les seves relacions amb el metabolisme primari
- Figura I.9.-** Possibles mecanismes d'alliberament d'al·leloquímics de planta a planta
- Figura I.10.-** Nivells d'estudi en la troballa de nous herbicides a partir de plantes
- Figura I.11.-** Estructures de les diferents benzoxazinones
- Figura I.12.-** Biosíntesi dels àcids hidroxàmics
- Figura I.13.-** Formació de benzoxazolinones a partir dels compostos  $\beta$ -glucosats
- Figura I.14.-** Esquema de degradació del a)MBOA i b)BOA
- Figura I.15.-** Separació cromatogràfica de les benzoxazinones en diferents columnes cromatogràfiques

### CAPITOL II

- Figura II.1.-** Estructura dels analits d'estudi
- Figura II.2.-** Esquema de l'aïllament dels compostos glucosats, aglucones i benzoxazolinones de fonts naturals.
- Figura II.3.-** Degradació dels analits seleccionats als 7 dies a la temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Figura II.4.-** Estructures dels compostos químics testats com a patrons interns
- Figura II.5.-** Senyal obtinguda a diferents voltatges de fragmentació pels compostos glucosats
- Figura II.6.-** Cromatograma corresponent a un patró de  $1\text{ng}/\mu\text{L}$  (a) DAD a  $280\text{ nm}$ . (b) Ions monitoritzats per analit
- Figura II.7.-** Esquema del procés de preparació de les mostres de blat
- Figura II.8.-** Recuperacions del procés complert. \*Anàlisi de la primera i segona fracció d'elució
- Figura II. 9.-** EM calculat en una mostra de fulla (verd) i arrel (taronja)

**Figura II.10.-** Corbes de calibratge pels els compostos glucosats obtingudes per patró intern i extern

**Figura II.11.-** Gràfics de la dilució de l'arrel fortificada

**Figura II.12.-** Gràfics de la dilució de l'arrel sense fortificar

**Figura II.13.-** Dilució de la matriu fulla fortificada

**Figura II.14.-** Comparació de l'anàlisi dels compostos objectiu obtinguts en ambdós estudis

### CAPITOL III

---

**Figura III.1.-** Estructura dels analits d'estudi

**Figura III.2.-**Vies d'obtenció dels àcids malonàmics

**Figura III.3.-** Vies d'obtenció de les aminofenoxazinones

**Figura III.4.-** Degradació als 2, 3 i 7 dies a la temperatura de -20°C.

**Figura III.5.-** Respostes TIC dels diferents analits per ESI en mode positiu i negatiu.

**Figura III.6.-** Límits de detecció instrumentals obtinguts per LC-MS (gris) i LC-MS/MS (blau clar);  
nd:no determinat

**Figura III.7.-** Esquema del procés de preparació de la mostra de sòl

**Figura III.8.-** Recuperacions obtingudes per la PLE amb els diferents solvents

**Figura III.9.-** Recuperacions obtingudes dels diferents analits en l'etapa de neteja

**Figura III.10.-** Resposta en un patró i un extracte de sòl a la mateixa concentració

**Figura III.11.** Corbes de calibratge preparades en MeOH/H<sup>+</sup> (blau) i matriu sòl (vermell)  
construïdes tant pel mètode de patró extern com intern per a) AMPO i b)BOA

**Figura III.12.** -%EM dels diferents analits de la resposta dels diferents analits a les diferents dilucions testades

**Figura III.13.** Quantificació d'una mostra de sòl pel mètode de patró intern sense dilució i diluït 10 i 20 vegades

### CAPITOL IV

---

**Figura IV.1.-** Disseny del camp dels cultius de les diferents varietats de blat en la primera campanya

**Figura IV.2.-** Disseny del camp mostres segona campanya

**Figura IV.3.-**Contingut total de compostos al·leloquímics (fulla+arrel) de les diferents varietats de blat analitzades en a) Cultiu convencional i b) Cultiu orgànic



**Figura IV.4.-** Concentració total de DIMBOA (fulla+arrel) de les diferents varietats de blat en els diferents estadis de creixement expressats com a) mmol/Kg pes fresc i b) mmol/planta

**Figura IV.5.-** Gràfic de probabilitat normal de a) dades no transformades and b) dades transformades en valors logarítmics

**Figura IV.6.-** Representació boxplot de la concentració total de compostos al·leloquímics en els diferents estadis per al cultiu convencional (vermell) i orgànic (blau)

**Figura IV.7.-** Representació boxplot de la concentració total de compostos al·leloquímics en els diferents estadis per la fulla (vermell) i arrel (blau)

**Figura IV.8.-** Representació boxplot de la concentració total de compostos al·leloquímics en els diferents estadis per la varietat Astron (AS; vermell), Ritmo (RI;blau) i Stakaddo (ST; verd)

**FiguraIV.9.-** Gràfic de correlació obtingut entre les dades predites pel model i les dades experimentals

**FiguraIV.10.-** Nivells de compostos al·lelopàtics en el primer i segon estadi del cultiu convencional

**FiguraIV.11.-** Nivells de compostos al·lelopàtics en el primer i segon estadi del cultiu orgànic

