

3 PRESENZA DE FUNXICIDAS NO VIÑEDO E NA SÚA CONTORNA





Autores artigo orixinal: Meruyert Sergazina, Lúa Vázquez, María Llompарт e Thierry Dagnac

En: *Molecules*, 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26206152>. 2021

Na viticultura é frecuente o uso de funxicidas, principalmente para combater infeccións como a podremia gris (*Botrytis cinerea*), o mildio (*Plasmopara viticola*) ou o oídio (*Uncinula necator*). Isto é particularmente relevante en Galicia, onde o clima húmido e temperado favorece o desenvolvemento destas enfermidades. Co obxectivo de protexer o ambiente e a saúde humana, existen actualmente limitacións nas cantidades de funxicidas presentes tanto nas augas subterráneas como nas superficiais, reguladas polos Estándares de Calidade Ambiental. Ademais, os funxicidas presentes nos alimentos non deben exceder un **Nivel Máximo de Residuo** (MRL).

Cómpre salientar que os MRL para a maioría dos praguicidas, tanto na uva de mesa como na uva para vinificar, son sorprendentemente elevados (varios mg/kg), en comparación cos MRL presentes noutros alimentos (entre 0,01-0,05 mg/kg). Existe unha preocupación crecente no consumidor de que os residuos de funxicidas presentes no aire, no solo e na auga que nos rodean, así como nos produtos que consumimos, supoñan un risco para o ambiente e para a nosa propia saúde.

As técnicas analíticas máis usadas para a detección de funxicidas son a cromatografía líquida (LC) e a cromatografía de gases (GC). A combinación destas dúas técnicas de separación coa técnica de espectrometría de masas (MS) permite non só unha boa separación dos funxicidas, senón tamén unha excelente identificación e cuantificación.

O principal obxectivo deste traballo foi a posta a punto e validación dun método de extracción asistida por ultrasóns (UAE) para a posterior determinación —mediante cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas— de 17

funxicidas en mostras de follas de vide, solo e auga. Esta é a primeira vez que un estudo aborda a detección e cuantificación de funxicidas diana nestes diferentes medios.

Metodoloxía experimental

Antes da análise dos funxicidas, os autores avaliaron o comportamento da técnica empregada de **cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas**. Esta metodoloxía mostrou unha boa *linearidade* (coeficientes de determinación (R^2) superiores a 0,9937). Tamén avaliaron os seguintes parámetros, que mostraron un bo comportamento: *rango de linearidade*, *límite de detección*, *límite de cuantificación instrumental*, *precisión dentro do mesmo día* e *precisión entre días*.

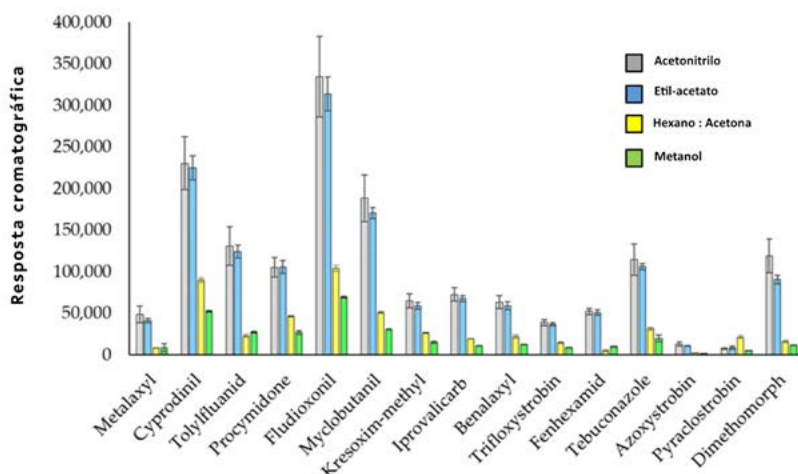
Para a calibración da metodoloxía cromatográfica, os investigadores empregaron solucións estándar (en etil-acetato) que contiñan cada un dos 17 funxicidas en diferentes concentracións, desde 0,02 a 1000 µg/l (con 3 repeticións para cada unha das 15 concentracións por funxicida empregadas).

Funxicidas nas follas

Analizáronse 17 mostras de follas das variedades Treixadura, Albariño e Loureiro, recollidas en tres viñedos galegos. As mostras foron tratadas con funxicidas aproximadamente dúas semanas antes, un intervalo típico nos tratamentos fitosanitarios do viñedo. Algunhas das mostras participaban tamén nun experimento cun dron e foron tratadas doutro xeito, como veremos máis adiante.

- **Técnica de extracción**

Os investigadores compararon o comportamento de tres técnicas de extracción miniaturizadas: (1) extracción asistida con ultrasóns (UAE), (2) extracción asistida con vórtex (VE) e (3) dispersión en fase sólida (MSPD). Esta última técnica proporcionou respostas tres veces máis baixas que as outras dúas para a maior parte dos fungicidas, polo que se descartou e se retiveron as outras dúas (UAE e VE) en futuros experimentos.



Comparación da resposta cromatográfica para detectar fungicidas mediante a extracción con ultrasóns empregando diferentes solventes

- **Tipo e volume do disolvente e volume da mostra**

O tipo de disolvente empregado é un factor crucial no rendemento de todo proceso de extracción. Os investigadores compararon catro tipos de disolventes: acetonitrilo, etil-acetato, hexano:acetona (50:50) e metanol. Logo, realizaron unha análise estatística para determinar cal deles era o máis axeitado para a maioría dos fungicidas. Tamén ensaiaron diferentes volumes de disolvente e diferentes cantidades de mostra. Finalmente, seleccionaron empregar **2 ml de etil-acetato e 0,2 g de mostra de folla**.

- **Follas frescas fronte a follas secas**

Avaliouse o posible efecto do desecamento das follas sobre a extracción dos fungicidas. O resultado foi que ambos os dous tipos de follas daban os mesmos resultados (agás co fungicida metalaxil, cuxa presenza era máis débil cando se utilizaban follas secas).

- **Rendemento da metodoloxía**

Para avaliar a *exactitude* da metodoloxía, os autores fortificaron mostras de follas con fungicidas ata tres concentracións (40, 400 e 4000 µg/g) e comprobaron a cantidade de fungicida recuperado tras a extracción e cuantificación (UAE-GC-MS/MS). Obtiveron valores de recuperación entre o 80 e o 113 %, acompañados tamén dunha boa

precisión (valores RSD < 9 %). Concluíron que a cuantificación empregando unha calibración con estándares disoltos en etil-acetato era axeitada para todos os fungicidas estudados, agás para dous (o fenhexamida e o piraclostrobina), para os cales era recomendable facer a calibración cos estándares disoltos na propia matriz da mostra correspondente (*matrix-matched calibration*).

- **Resultados en mostras de follas reais**

Unha vez posta a punto a técnica e optimizadas as cantidades de disolvente e de mostra que se ían utilizar, realizáronse extraccións en 17 mostras de follas recollidas en diferentes viñedos galegos.

Detectouse a presenza de 14 dos 17 fungicidas analizados. Os fungicidas máis frecuentes foron metalaxil e folpet (presentes en 14 das 17 mostras), seguidos de tebuconazol (9 mostras) e de dimetomorfo (8 mostras). É salientable a **alta concentración de folpet presente nas mostras** (flutuando entre 1 e 1078 µg/g). Nalgunhas das mostras confluía a presenza de ata 8 dos 17 fungicidas estudados.

Nun dos experimentos, as vides foron tratadas cos fungicidas azoxistrobina e tebuconazol coa axuda dun dron. As mostras das follas foron recollidas a tres niveis de altura, para avaliar a cobertura da pulverización co dron.

As maiores concentracións individuais e medias dos dous fungicidas foron observadas no estrato superior, aínda que os estratos inferiores tamén

presentaban, comparativamente, unha alta presenza de ambos os dous fungicidas (86 % e 81 %, respectivamente).

Como era de esperar, dado que as mostras se recolleron xusto despois das aplicacións dos fungicidas por medio dun dron, o tebuconazol e a azoxistrobina superaron os MRL nas mostras pertencentes ao estudo experimental. De feito, as concentracións finais medidas foron superiores a 400 µg/g para ambas as substancias activas. Esta alta presenza de fungicidas nas follas de vide pode supor un perigo ambiental, xa que son facilmente transportables aos solos e aos sistemas acuáticos.

Funxicidas nos solos

Tras avaliar diferentes métodos de extracción, os autores elixiron, unha vez máis, a UAE para comprobar a posible transferencia de fungicidas ao solo. Realizaron extraccións en 4 mostras de solo, e detectaron 6 dos 17 fungicidas avaliados. Algúns deles estaban presentes en todas as mostras (por ex., **trifloxistrobina**), a pesar de non ter sido detectados nas follas. Pola contra, o folpet, frecuente nas mostras de folla, non foi detectado no solo (en concordancia co seu DT50, inferior a 4 días, que demostra a súa rápida degradación).

Funxicidas nas augas

Os investigadores empregaron unha versión miniaturizada da extracción en fase sólida (SPE) para extraer os fungicidas de 8 mostras de augas recollidas nas proximidades do viñado (4 mostras



Espectrofotómetro GC-MS/MS utilizado para a detección de fungicidas

de chuvia e 4 mostras de auga de rega). Nestas mostras de auga detectaron 14 dos 17 fungicidas avaliados. Os fungicidas máis frecuentes foron os mesmos que os atopados nas follas: **metalaxil** e **dimetomorfo** (presentes en 7 mostras) e **folpet** e **tebuconazol** (6 mostras). As mostras de auga con concentracións máis altas de fungicidas procedían do mesmo lugar onde se atoparan as concentracións máis altas nas follas. Estes resultados demostran a difusión e transporte dos fungicidas aplicados no viñado cara ás augas que o rodean.

Conclusións

Desenvolveuse e validouse un método baseado na extracción asistida por ultrasóns, seguida da cromatografía de gases combinada coa espectrometría de masas, para detectar 17 fungicidas nas follas de vide, así como no solo e nas augas circundantes.

No marco do ensaio de aplicación de fungicidas con drones, atopáronse 14 dos 17 fungicidas nas follas, en concentracións que chegaban a acadar 1000 µg/g. Nos solos, atopáronse 6 fungicidas, mentres que nas augas se detectaron 14 dos 17 fungicidas, en concentracións de ata 100 µg/l. Estes resultados confirman o transporte de fungicidas desde as vides ata diferentes compartimentos ambientais da súa contorna, o que suxire que se deberían mellorar as prácticas de aplicación de fungicidas no viñado.

Segundo unha investigación levada a cabo por Santé Publique France e a Axencia Nacional de Seguridade Alimentaria e Medio Ambiente (ANSES)¹, en 250 lugares de seis rexións vinícolas francesas, os nenos de entre 3 e 6 anos son especialmente afectados por esta exposición. Isto súmase ás conclusións de PAN Europe e os seus membros², que piden zonas de seguridade moito máis amplas para protexer os cidadáns que viven preto dos viñedos onde se aplican os praguicidas.

¹ PestiRiv : résultats de l'étude nationale sur l'exposition aux pesticides des riverains de zones viticoles | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

² More pesticides exposure of people living close to vineyards, French study finds | PAN Europe