

8

EXTRACCIÓN POR ADSORCIÓN EN FASE DE TECIDO PARA A DETERMINACIÓN DE FUNXICIDAS NA AUGA AMBIENTAL



Os funxicidas son unha clase de praguicidas que se utilizan para inhibir o crecemento de fungos que poden danar gravemente os cultivos. En Galicia, a viticultura representa un dos principais sustentos da economía e, debido ás condicións climáticas extremas desta rexión, é necesario o uso de funxicidas para a conservación dos viñedos. Estes funxicidas poden ser transportados desde os campos agrícolas ás augas superficiais a través da escorrentura, o cal representa un risco para a saúde. No traballo que presentamos hoxe, os autores optimizan os diferentes parámetros experimentais que afectan unha nova técnica analítica de extracción. Tras conseguir demostrar que esta técnica funciona correctamente e ten capacidade para detectar de forma simultánea ata 17 funxicidas en mostras de auga, empregan a técnica que veñen de optimizar para descubrir se estes funxicidas están presentes no noso contorno acuático, e en que concentracións.

Principio da técnica analítica

A técnica de “extracción por adsorción en fase de tecido” (fabric phase sorptive extraction, FPSE), que nace en 2014, consiste na utilización dun anaco de tecido moi fino e flexible, recuberto mediante unha unión química cunha especie de xel, que permite obter unha **estrutura tridimensional porosa extremadamente adsorbente**. Os funxicidas quedan “atrapados” nesta armazón, para logo ser liberados cun solvente adecuado e cuantificados mediante unha combinación de cromatografía de gases e espectrometría de masas. Esta nova técnica supón un avance importante respecto a técnicas anteriores, tales como a “microextracción en fase sólida” (SPME) que, ao traballar con volumes ínfimos (0,5 µL), tiña a limitación de ter unha baixa capacidade adsorbente.

Optimización preliminar dos parámetros da análise

Para algúns dos parámetros que interveñen na técnica, os autores utilizaron valores que xa foran optimizados en estudos anteriores: *tamaño da superficie adsorbente* (5 cm²), *temperatura/tempo da extracción* (25 °C/20 min.) e posible *emprego dunha barra magnética* para mesturar a extracción (mellor con barra que sen ela).

Para outros parámetros, os investigadores realizaron senllos estudos para determinar cal de varias opcións melloraba a extracción. Deste xeito, lograron optimizar os seguintes parámetros: *tipo de material adsorbente* (“CW 20 M” resultou a mellor opción dos catro materiais comparados dada a súa alta polaridade), *disolvente para a desorción da membrana* (tanto o acetonitrilo como o acetato de etilo funcionaron mellor que o metanol), e *volumen de disolvente de desorción* (0,5 ml resultou no dobre de sinal que 1 ml).

Segunda rolda de optimización dos parámetros da análise

Nunha última fase de “afinamento”, os autores empregaron un coidadoso deseño experimental para avaliar a influencia de 5 parámetros analíticos diferentes, a dous niveis cada un, —así como as interaccións entre eles—, sobre a extracción de cada un dos 17 funxicidas do estudo. Os 5 parámetros avaliados foron: *volumen de mostra*, *tipo de solvente de desorción* (dos dous candidatos preseleccionados), *tempo de desorción*, *adición ou non de NaCl* e *pH*.

Para interpretar os resultados, utilizaron unha análise da varianza (ANOVA). Nesta análise, o

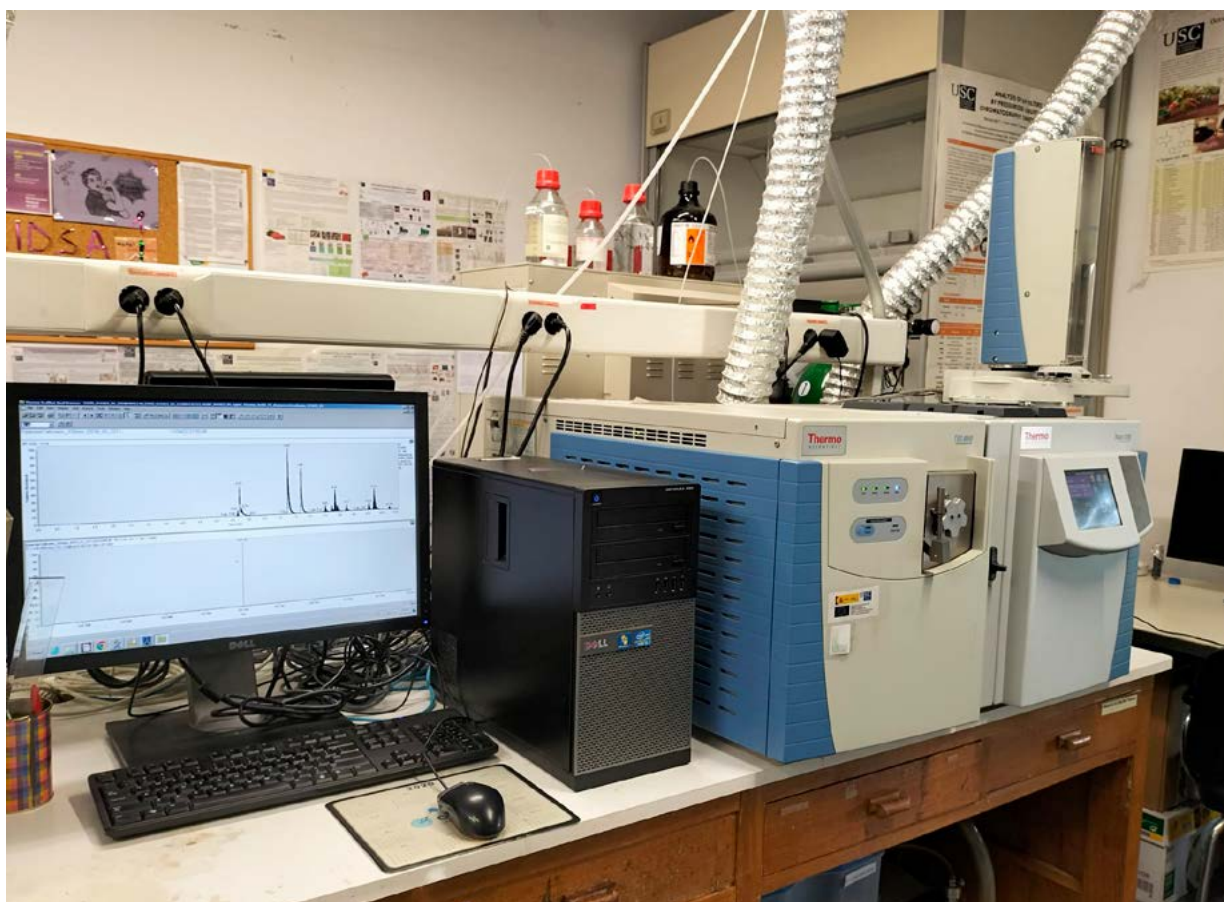
factor F mide a contribución de cada parámetro estudado (así como as interaccións entre parámetros) á varianza da resposta analítica, mentres que o **valor P** mide a significación estatística. Os investigadores utilizaron como guía a magnitude do factor F para desvelar cales eran os parámetros que máis influían na resposta analítica, cun nivel de confianza (valor P) do 95 %.

O **volumen de mostra** resultou ser o factor que máis influía na resposta analítica de extracción para 12 dos 17 fungicidas estudados. A **adición de NaCl** foi estatisticamente importante só no caso de 3 dos 17 fungicidas. Pola súa banda, o tipo de disolvente, o volume de disolvente ou o pH non tiveron peso significativo nos resultados. Por último, das 10 interaccións posibles entre os factores estudados, só a interacción “tipo de disolvente X volume de disolvente” e a interacción “tempo de desorción X adición de NaCl” resultaron significativas para un único fungicida cada unha.

Comprobación do correcto funcionamento da técnica

O seguinte paso foi comprobar que a nova técnica era fiable e cumpría os requisitos que se lle esixen a toda técnica analítica, tales como:

- **precisión:** mide a dispersión do conxunto de medicións (a técnica debe ter unha *desviación estándar* baixa);
- **exactitude:** mide o preto que está o valor medio das medicións respecto ao valor real (a técnica non debe presentar *nesgo*);
- **linearidade:** examina se as medicións teñen a mesma exactitude para todo o rango de valores;
- **repetibilidade:** capacidade dun mesmo laboratorio de obter os mesmos resultados ao replicar o estudo cun conxunto distinto de datos;
- **reproducibilidade:** capacidade de que un experimento sexa reproducido por diferentes laboratorios con resultados similares.

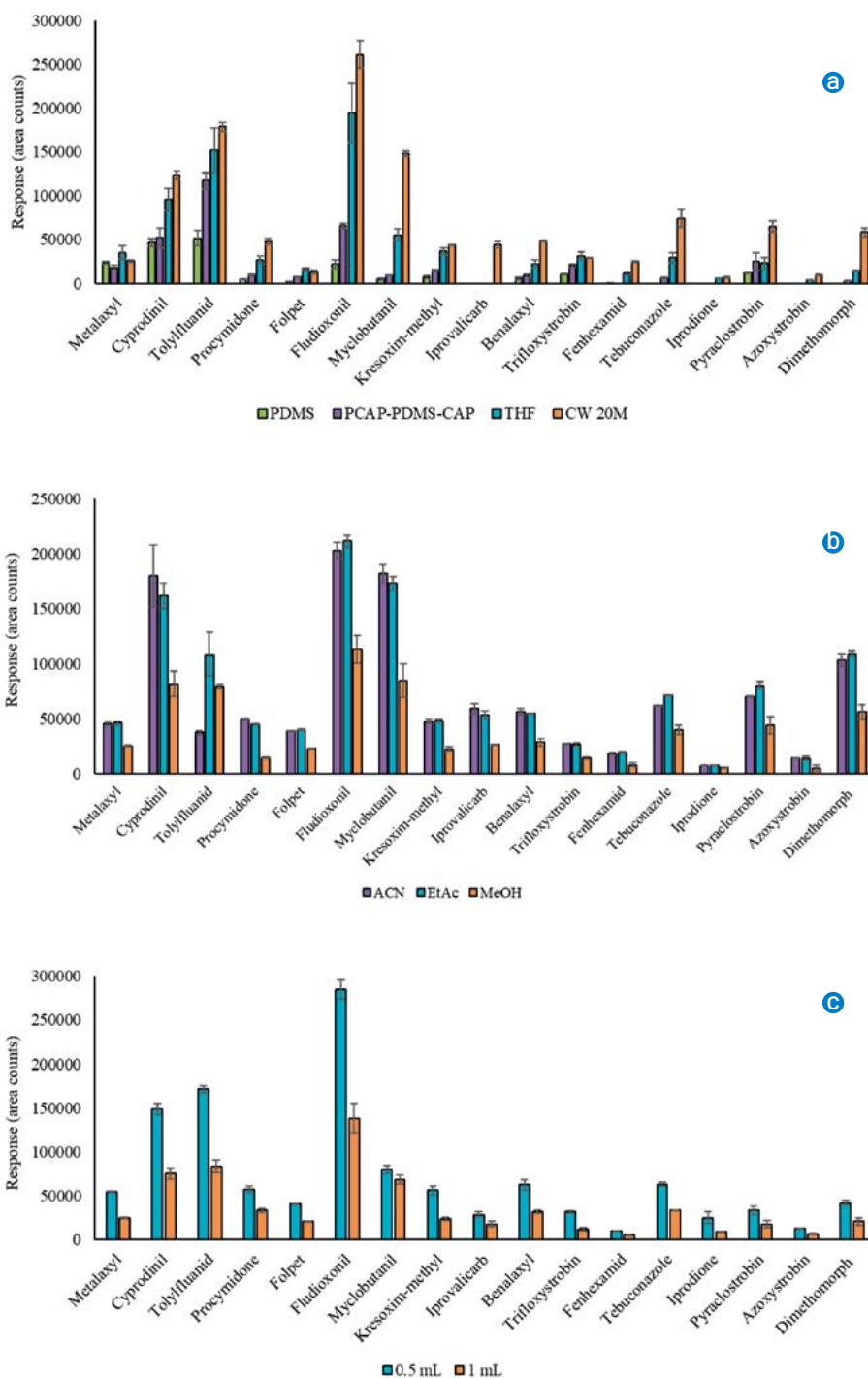


Espectrómetro GC-MS/MS utilizado para a análise dos fungicidas en augas

Para realizar os estudos de calibración, prepararon solucións estándares dos 17 funxicidas estudados cubrindo un rango de concentracións de 0,1 a 1000 µg/L. A técnica mostrou unha boa linearidade ($R^2 > 0,9917$) e unha boa precisión, tanto no mesmo día (4,5 % RSD) como en días diferentes (12 % RSD).

Para comprobar os posibles efectos da matriz (a influencia do tipo de mostra, ou vehículo, que contén o funxicida), utilizáronse mostras de auga de diferentes orixes que, tras comprobar que non contiñan ningún dos funxicidas baixo estudo, manipularon engadindo os 17 funxicidas a catro concentracións (0,1, 0,5, 1,0 e 5,0 µg/L). Mediante a comparación dos resultados en mostras de auga manipuladas fronte a estándares de concentración coñecida, comprobaron a cantidade de funxicida engadido que eran capaces de recuperar. A técnica mostrou unha boa exactitude, con niveis de recuperación entre 70 e 115 % para a maioría dos funxicidas.

Tamén compararon a sensibilidade da técnica, ou relación entre o “sinal” cromatográfico de cada funxicida respecto ao “ruído” de fondo. Deste xeito puideron calcular o **límite de detección** (LOD, definido como unha relación sinal/ruído=3), e o **límite de cuantificación** (LOQ, ou relación sinal/ruído=10) para cada un dos funxicidas. Os límites de cuantificación da técnica resultaron ser de 1-9 ng/L para a maior parte dos funxicidas. Estes valores son similares,



Efecto sobre as respostas cromatográficas de **a)** diferentes formulacións de recubrimento sol-xel **b)** diferentes disolventes de desorción e **c)** diferentes volumes de disolvente de desorción

ou mesmo máis baixos, que os de técnicas de extracción similares.

Aplicación a mostrás acuáticas reais

Unha vez optimizada e demostrada a fiabilidade da técnica, os autores avaliaron a posible presenza de 17 tipos de fungicidas en 9 mostrás de auga recollidas preto de viñedos que foran fumigados 1-2 semanas antes. As mostrás de auga incluían auga de chuvia, auga de río e auga de escurredura. Os fungicidas analizados foron: metalaxyl, ciprodinilo, tolilfluanida, procimidona, folpet, fludioxonil, miclobutanilo, kresoxim metil, iprovalicarb, benalaxil, trifloroxistrobina, fenhexamida, tebuconazol, iprodiona, piraclostrobina, azoxistrobin e dimetomorfo.

Os autores puideron detectar 11 dos 17 fungicidas estudados. **Folpet foi o fungicida máis frecuente**, presente en todas as mostrás de auga ambiental (0,2-3,5 µg/L), **seguido de metalaxyl**, detectado en 8 das 9 mostrás estudadas. Respecto á orixe das mostrás, o maior número de fungicidas detectouse nas mostrás de auga de chuvia, pero tamén se atoparon fungicidas nas augas de río ou nas de escurredura. Cómpre salientar a gran cantidade de metalaxyl nunha das mostrás de auga de río

(335 µg/L), ou de iprodiona nunha das mostrás de escurredura (584 µg/L). Os resultados demostran, unha vez máis, unha preocupante realidade: os fungicidas residuais son transferidos polas augas de escurredura ata os leitos de auga que nos rodean.

Conclusión

Os investigadores optimizan unha técnica de extracción que permite detectar compostos orgánicos presentes en concentracións ínfimas (nanogramos por litro) de forma simultánea. Logo de comprobar o seu correcto funcionamento baixo diferentes condicións de extracción, concentración e tipo de matriz, aplicaron a técnica a 9 mostrás de auga ambiental e detectaron a presenza de 11 dos 17 fungicidas baixo estudo. Esta técnica de extracción supón unha metodoloxía prometedora para a detección de fungicidas e outros compostos orgánicos presentes no contorno en concentracións ínfimas.